

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08645

研究課題名(和文) 腫瘍微小環境における肥満細胞・癌関連線維芽細胞をターゲットとした治療法の開発

研究課題名(英文) Role of mast cell in locally advanced rectal cancer treated with neoadjuvant chemoradiotherapy.

研究代表者

西 正暁 (NISHI, Masaaki)

徳島大学・病院・助教

研究者番号：70464344

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：当科で術前CRTを施行した下部直腸癌95例を対象とし、肥満細胞(MC) marker, TAM markerの免疫染色を行った。MCの浸潤とCRTの治療効果を含む臨床病理学的因子との相関を検討し、MC高浸潤群でnon-responderが多く、TAMの高浸潤を認めた。MC高浸潤群は低浸潤群と予後が不良であった。MC cell lineを癌細胞と共培養し、TAMC(tumor associated MC)を作成。作成したTAMCはmacrophage inhibitory factor産生を介しては癌細胞増殖を促進した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

下部直腸癌症例における肥満細胞(Mast cell: MC)浸潤は術前化学放射線療法CRTの治療抵抗性、Tumor associated macrophage(TAM)TAMの浸潤と正の相関を示し、DFSにおいて独立予後不良因子であった。MCはCRT抵抗性直腸癌の新たな治療のtargetになりうる。腫瘍微小環境構築の根幹となる肥満細胞をtargetとした難治性癌の治療戦略確立を目指すことは社会的にも意義のあることであり、癌人口が増加の一途をたどる現状を考慮すると、腫瘍微小環境攻略の糸口となる治療法開発による学術的、臨床的、経済的恩恵は計り知れないと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We aimed to examine the correlation between mast cell (MC) infiltration and neoadjuvant chemoradiotherapy (nCRT) response for locally advanced rectal cancer (LARC). Protein levels of the MC marker tryptase and tumor-associated macrophages (TAMs) marker CD206 were evaluated with immunohistochemistry (IHC). The effects of MCs on the malignant potential were examined using in vitro assays with a colorectal cancer (CRC) cell line. By tryptase IHC analysis, MC infiltration was significantly correlated with nCRT response. The 5-year DFS rate was significantly lower in the MC-positive group. MC infiltration was the independent prognostic indicator. MC infiltration was significantly correlated with CD206 expression. In vitro experiments suggested that tumor activated mast cells could promote CRC malignant behavior via production of macrophage inhibitory factor. MC infiltration in LARC patients was positively correlated with TAM infiltration and resistance to nCRT.

研究分野：消化器外科学、腫瘍微小環境、放射線化学療法

キーワード：肥満細胞 大腸癌 放射線化学療法 腫瘍微小環境

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肥満細胞 (mast cell : MC) は皮膚や気道粘膜, 腸管粘膜など主に外界と接する組織に見られる骨髄由来の細胞で, 寄生虫や細菌感染症に対する免疫応答を生理的役割として担っていることがよく知られている。顆粒内に含むヒスタミンやヘパリンなどの分泌や、TNF、各種インターロイキンなどのサイトカイン・ケモカインの放出、プロスタグランジン D2 などの脂質メディエーターを放出することで機能を発揮する

近年、腫瘍微小環境における MC の Pro-tumor effect が明らかになりつつある。最近では MC が Tumor associated macrophage(TAM)の遊走を介して腫瘍悪性度に寄与することが報告され、腫瘍免疫との関係が示唆された(Nat Commun. 2019)。しかしながら MC と放射線化学療法(CRT)抵抗性についてはほとんど報告がない。

2. 研究の目的

これまで腫瘍微小環境 (TME) における MC を制御することで、腫瘍増殖・浸潤・転移の抑制や、腫瘍免疫回避を試みた報告はな、TAM などの腫瘍微小環境を形成する細胞とこの interaction におけるクロストークを詳細に解明することが難治性癌治療のブレイクスルーとなり得ると考えた。本研究では TME における MC の意義および、mast cell を介した治療抵抗性解除を目的とした治療戦略について検討をおこなった。

3. 研究の方法

(1) 当科で術前 CRT を施行した局所進行下部直腸癌 (LARC) 95 例を対象とし、MC marker, : tryptase, TAM marker : CD206, の免疫染色 (IHC) を行った。癌部間質における MC、TAM の浸潤を評価し、MC の浸潤と CRT の治療効果を含む臨床病理学的因子との相関を検討した。

(2) In vitro : MC cell line を癌細胞と共培養し、TAMC (tumor associated MC) を作成、その特徴を検討した。

4. 研究成果

(1) IHC

術前 CRT を受けた LARC 患者における MC と TAM の浸潤を IHC を用いて評価をした。(図 1a,b)

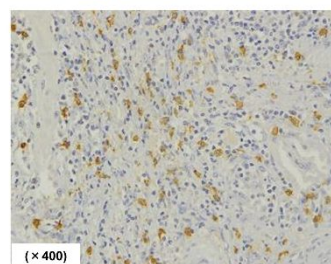
術前 CRT を受けた局所進行直腸癌における肥満細胞と腫瘍関連マクロファージの浸潤

MC 浸潤による患者と腫瘍の特徴

LARC 患者を高 MC 浸潤群と低 MC 浸潤群に分けて検討を行った (図 1a)。nCRT 後、切除標本の 31.6% が MC 浸潤陽性であった。MC 浸潤は腫瘍の位置と相関する傾向があり ($P = 0.05$) nCRT 反応性と有意に相関した ($P < 0.05$)。

図 1

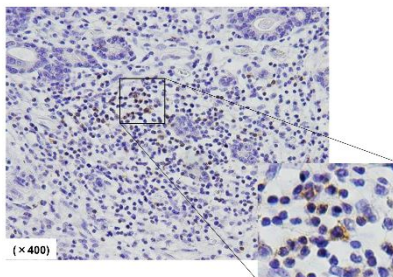
a)



DFS に対する MC 浸潤の影響

5年 DFS 率は、MC 陽性群で MC 陰性群と比較して有意に不良であった (52.3% 対 76.8%, $P < 0.05$, 図 2)。単変量解析では、MC 浸潤、CEA、CRT 反応性が DFS の有意な予後因子であることが示唆された。多変量解析では、高 CEA 値 (ハザード比 (HR): 3.33, $P < 0.05$) と MC 浸潤 (HR : 2.36, $P < 0.05$) が DFS の独立した予後指標であることが示された。

b)



MC と TAMC の相関

全体として、切除された LARC 検体の 31.6% が CD206 発現陽性であった。MC 浸潤は CD206 発現と有意に相関しており ($P < 0.05$) (図 3) MC と TAM の関連が示唆された。

図2 肥満細胞浸潤の有無による予後（無再発生存率）

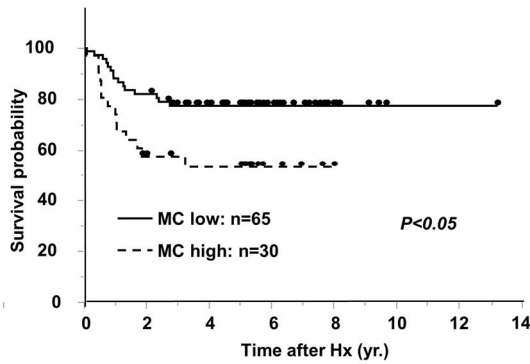
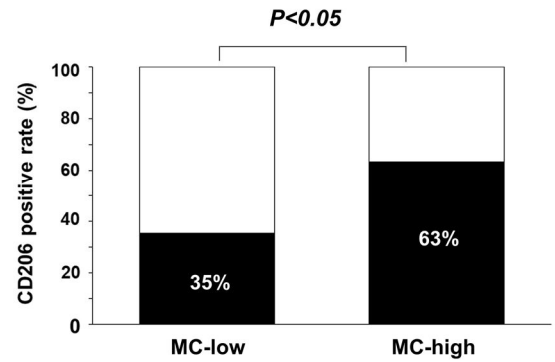


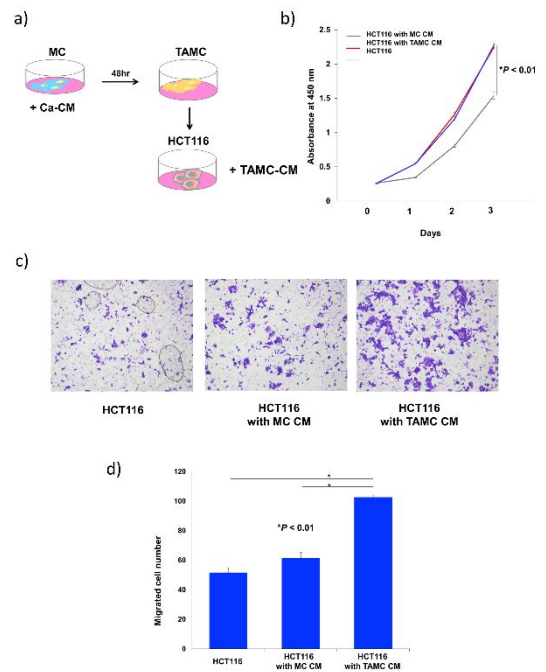
図3 肥満細胞と腫瘍関連マクロファージの相関



(2) In Vitro Experiment

HCT-116 細胞との非接着環境下に MC を共培養し TAMC を作成した。作成した TAMC は in vitro で CRC の悪性化を促進した。がんに関連する特性に対する TAMC の特徴を検証するために、TAMC から CM を採取し、がん細胞の処理に用いた (図 4a)。その後、proliferation assay, migration assay を行った結果、TAMC-CM で処理すると、control の CRC 細胞と比較して、CRC 細胞の増殖および遊走が増加することが示された (図 4b-d)。

図4 大腸癌細胞の悪性化促進



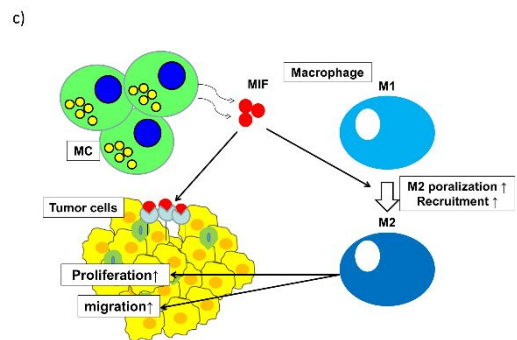
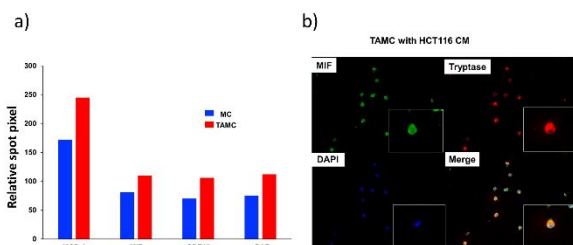
TAMC は in vitro で MIF を分泌した。親 MC と TAMC の両方の培地でサイトカインアッセイを行った。これらのアッセイにより、マクロファージ抑制因子 (MIF) MCP-1、GDF-15 および μ PAR のレベルが TAMC-CM であるかに高いことが示された (図 5a)。さらに IF 染色により、トリプターゼ陽性 MC では MIF が共発現していることが確認された (図 5b)。

MIF は Rho 依存性経路を介して腫瘍の浸潤と転移を促進し、TAM の強力な誘導因子である。さらに MIF は M2 表現型を持つ腫瘍偏極マクロファージを刺激し、代替活性化、免疫抑制、血管新生、腫瘍増殖、化学療法抵抗性、放射線抵抗性を引き起こすことが報告されている。以上の結果から MC が MIF を放出し、TAM をリクルートすることで直腸癌の腫瘍悪性度上昇に寄与すると考えられた (図 5c)。

(3) 結論

下部直腸癌症例における MC 浸潤は CRT の治療抵抗性、TAM の浸潤と正の相関を示し、DFS において独立予後不良因子であった。MC は CRT 抵抗性直腸癌の新たな治療の target になりうる。腫瘍微環境構築の根幹となる肥満細胞を target とした難治性癌の治療戦略確立を目指すことは社会的にも意義のあることであり、癌人口が増加の一途をたどる現状を考慮すると、腫瘍微学的、臨床的、経済的恩恵は計り知れないと考えられる。

図5 Tumor activated mast cells (TAMC) からの macrophage inhibitory factor 分泌



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山下祥子, 西正暁, 島田光生, 吉川幸造, 徳永卓哉, 中尾寿宏, 柏原秀也, 高須千絵, 和田佑馬, 良元俊昭, 岩川陽介
2. 発表標題 直腸癌の放射線化学療法における肥満細胞の役割
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 和田佑馬, 西正暁, 島田光生, 山下祥子, 吉川幸造, 徳永卓哉, 中尾寿宏, 柏原秀也, 高須千絵, 良元俊昭, 岩川陽介
2. 発表標題 直腸癌の放射線化学療法における肥満細胞の役割
3. 学会等名 第32回日本消化器癌発生学会総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------