

令和 5 年 5 月 14 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16446

研究課題名（和文）遠隔臓器におけるNK細胞抑制メカニズムに基づく転移制御治療の開発

研究課題名（英文）Metastasis Control Mechanisms Based on NK Cell Suppression Mechanisms in Colorectal Cancer Patients

研究代表者

長谷川 寛 (Hasegawa, Hiroshi)

神戸大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50529542

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：大腸癌が進行すると腫瘍により誘導されたMyeloid derived suppressor cell (MDSC)が増加し、MDSCによりNK細胞の機能が抑制され、遠隔転移が増加するという仮説に基づき研究をすすめた。当院で結腸切除術を施行したStage - 患者300例を対象とし、主リンパ節をCD8、CD33、CD56で免疫染色し、腫瘍学的予後との関連を調べることとした。60例を染色した段階で、リンパ節のサイズが標本毎に大きく異なり、1視野あたりのNK細胞数やMDSC数は評価困難であることが分かった。また、評価できた患者においてもNK細胞数と予後との関連に相関は認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸癌患者の治療成績改善の為に遠隔転移制御は重要な課題である。遠隔転移制御機構を解明する為にNK細胞の数や機能に着目した。大腸癌患者に対する臨床研究を行い、所属リンパ節におけるNK細胞とMDSC細胞の数が予後に関連しないかについて解析を行った。

残念ながら、本研究を行った2年間の研究期間だけではこの課題に対して回答を得ることができなかったが、研究を進めていく上での問題点や解決方法についての理解が深まった。この研究結果を基に新たな研究に対する基礎研究を進めることができた。本研究を更に発展させ、2023年6月からは大腸癌患者を対象に新たな臨床研究を計画中である。

研究成果の概要（英文）：We hypothesized that tumor-induced myeloid derived suppressor cells (MDSCs) increase as colorectal cancer progresses, and that MDSCs suppress NK cell function and increase distant metastasis. A clinical study was conducted on patients with colon cancer. The main lymph node was immunostained for CD8 (CD8-positive T cells), CD33 (MDSCs), and CD56 (NK cells), and the relationship with oncological prognosis was examined. The main target of analysis was the main lymph node, but after staining 60 cases, it was found that the number of NK cells and MDSCs per field of view was difficult to evaluate because the size of the lymph node varied greatly from specimen to specimen. In addition, no correlation was observed between NK cell counts and prognosis in the patients who could be evaluated, making it difficult to carry out the original plan.

研究分野：大腸癌

キーワード：NK細胞 遠隔転移 大腸癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腫瘍の産生する Interleukin-17A 等によって Myeloid derived suppressor cell(MDSC)は遠隔臓器で増加しNK細胞を抑制し転移を促進する。5FU や Gemcitabine、抗 Gr-1 抗体や抗 G-CSF 抗体は動物実験モデルにおいて MDSC を減少させ転移を抑制する。MDSC がNK細胞を抑制するかは不明であるが、マウスモデルにおいて遠隔転移抑制とNK細胞との関連は報告されており、大腸癌患者においても MDSC により抑制されたNK細胞が遠隔転移制御に関連しているものと考えた。

2. 研究の目的

大腸癌患者において MDSC の増加がNK細胞数抑制に関連しているか、NK細胞抑制が遠隔転移再発に関連しているかを明らかにする。

3. 研究の方法

大腸癌患者を対象とし、臨床研究として「結腸癌原発巣・領域リンパ節の免疫環境が予後に与える影響についての後ろ向き観察研究」(神戸大学倫理審査委員会承認番号 B210069)を行った。既存の研究も参考とし、より進行した腫瘍では所属リンパ節のNK細胞数が減少し、MDSCが増加しており、またNK細胞の減少は独立した予後不良因子となると予測し研究を計画した。当院で結腸癌と診断され、結腸切除術を施行した Stage - 患者 300 例を対象とし、所属リンパ節である主リンパ節を CD8(CD8 陽性 T 細胞)、CD33(MDSC)、CD56(NK 細胞)で免疫染色し、腫瘍学的予後との関連を調べることとした。

4. 研究成果

4 - 1.

主な解析対象は主リンパ節であったが 60 例を染色した段階で、リンパ節のサイズが標本毎に大きく異なり、1視野あたりのNK細胞数やMDSC数は評価困難であることが分かった。また、評価できた患者においてもNK細胞数と予後との関連に相関は認めず、当初の計画を遂行するのは困難と考えた。

より研究を発展させる為に、NK細胞の数だけではなく、NK細胞の機能を解析した方が良いと考えた。NK細胞の機能としては Natural Cytotoxicity Receptor である NKp45, NKp44, NKp30、さらに NK activating receptor である NKG2D, CD16 が評価可能であり、8種類の細胞表面蛋白を染色し Flow cytometry で解析することとした。これから手術を行う 300 例の大腸癌患者とした臨床試験を行うため、予備実験を完了し、2023年6月から研究を開始する予定である。

本研究に関連して、大腸癌患者を対象に2つの臨床研究を行い、結果を論文にまとめた。

4 - 2.

鼠経転移を伴う患者に対して術前治療後に鼠経郭清(Fig.1)を伴う根治術を行うと良好な成績が得られる(Fig.2)ことを示した。

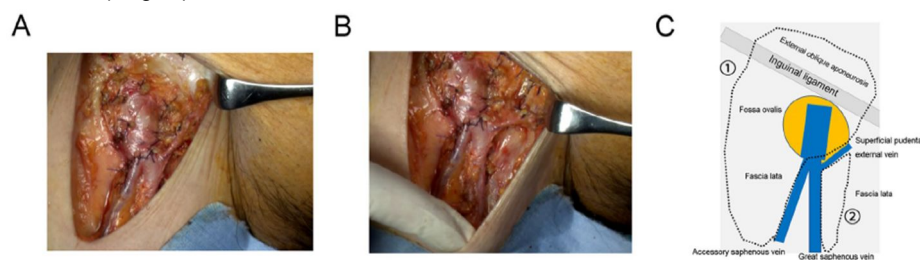


Fig. 1 Photographs and anatomical drawings after inguinal lymph node dissection. The lymph nodes above the fossa ovalis are resected with sufficient margin (A and C①). The lymph nodes inside the great saphenous vein are dissected (B and C②)

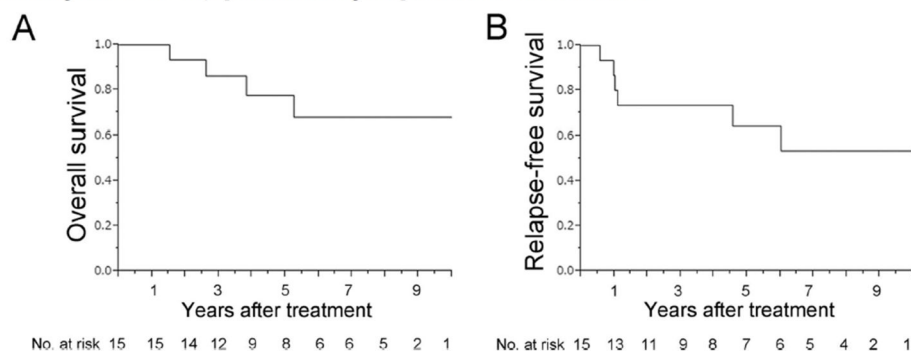


Fig. 2 Overall survival curve (a) and relapse-free survival curve (b) for 15 rectal or anal canal adenocarcinoma patients

ことが重要と考

えられたが、NK 細胞を含めた腫瘍免疫がこれらとどのように関わっていくのかを検証していく必要があると考えた。

4 - 3 .

直腸癌に対して直腸低位前方切除術を施行した 87 例の患者を対象に臨床研究を行った。患者の骨盤を 3D-CT 検査で解析した (FIGURE 1)。通常の腹腔鏡手術を行った 52 例と新しい治療方法である A two-team transanal total mesorectal excision (TaTME) approach を行った 35 例について、手術時間 (TME に要した時間) が何に関連するかを明らかにした。通常の腹腔鏡手術では狭骨盤であること、高い BMI が手術時間延長に関連したが、TaTME では関連が認められなかった。

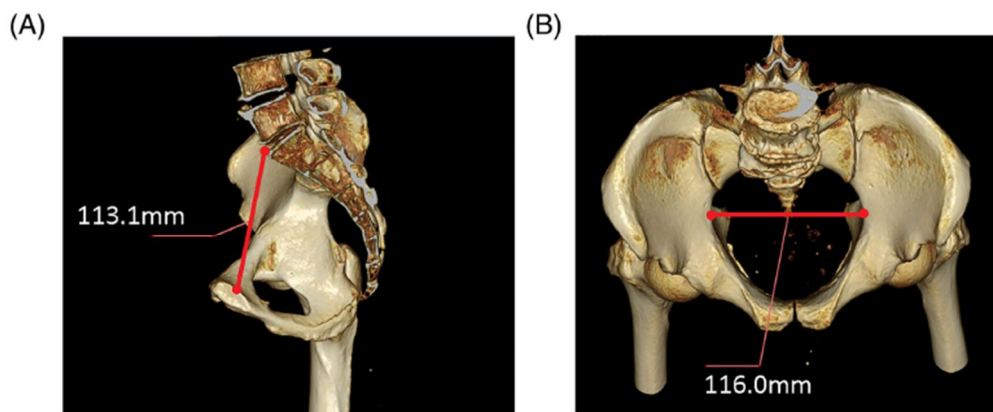


FIGURE 1 Pelvic inlet measurements. (A) Obstetric conjugate. (B) Transverse diameter.

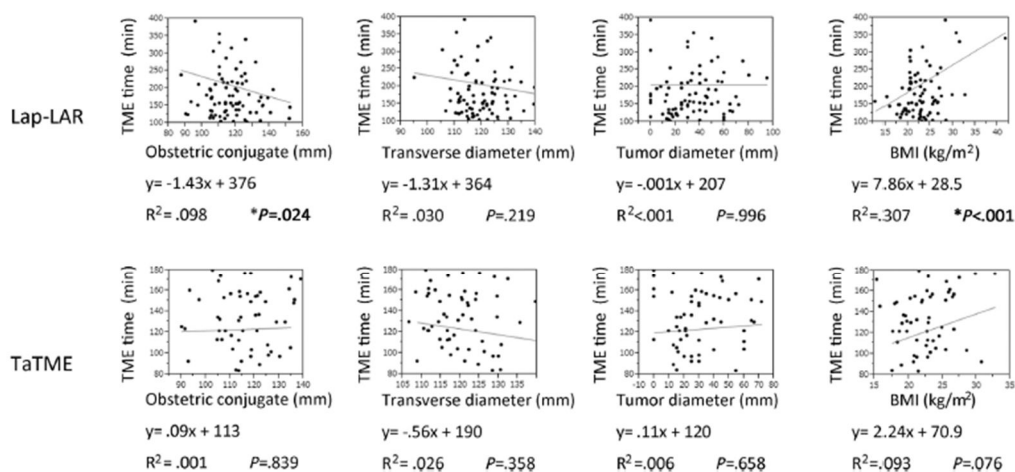


FIGURE 2 Simple linear regression analyses performed to assess the association between total mesorectal excision (TME) time and clinical factors. BMI, body mass index; Lap-LAR, laparoscopic low anterior resection; TaTME transanal TME; TME time, time required for TME. * $P < .05$

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hasegawa Hiroshi, Matsuda Takeru, Yamashita Kimihiro, Sawada Ryuichiro, Harada Hitoshi, Urakawa Naoki, Goto Hironobu, Kanaji Shingo, Oshikiri Taro, Kakeji Yoshihiro	4. 巻 408
2. 論文標題 Clinical outcomes of neoadjuvant therapy followed by selective inguinal lymph node dissection and total mesorectal excision for metastasized low rectal cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Langenbeck's Archives of Surgery	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00423-022-02739-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hasegawa Hiroshi, Matsuda Takeru, Yamashita Kimihiro, Sawada Ryuichiro, Harada Hitoshi, Urakawa Naoki, Goto Hironobu, Kanaji Shingo, Oshikiri Taro, Kakeji Yoshihiro	4. 巻 16
2. 論文標題 Obesity and narrow pelvis prolong the operative time in conventional laparoscopic rectal cancer surgery, but not in a two team transanal total mesorectal excision approach	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Asian Journal of Endoscopic Surgery	6. 最初と最後の頁 189 ~ 196
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ases.13134	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------