

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月14日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591452

研究課題名（和文）担癌状態における免疫抑制機序、特に Th17 細胞の分布と誘導機序の解明

研究課題名（英文）Distribution of Th17 cells related to regulatory T cells within tumor-microenvironment in cancer-bearing hosts.

研究代表者

水上 佳樹（MIZUKAMI YOSHIKI）

山梨大学・大学院医学工学総合研究部・医学研究員

研究者番号：70530111

研究成果の概要（和文）：胃癌患者において癌周囲に浸潤するリンパ球（以下、TIL）中の Th17 陽性細胞は非癌部と比較して有意に陽性率が高く、その傾向は進行病変より早期病変において著明であった。このことから、癌発生の初期段階においては Th17 という IL-17 を有意に分泌するリンパ球の比率が高いことが判明し（Maruyama T. Cancer Sci 2010;101:1947-54.），局所病変が進行する過程で Th17 の役割が相対的に寡少となることが示唆された。免疫反応の初期段階において Th17 細胞は各種（正・負の反応は別として）免疫反応のいわゆるアクセレーション（賦活化）を担っている可能性が示唆された。逆に、癌微少環境における癌にとって有利な環境がひとたび整う（進行病変の方が早期病変に比し Treg の集積比率が高い）と、Th17 細胞の担う役割は寡少となる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：In TILs (tumor-infiltrating lymphocytes) from patient with advanced disease of gastric cancer, the frequency of Th17 cells was also significantly higher, but lower compared to early disease, than that in the normal gastric mucosa. In conclusion, the accumulation of Th17 cells as well as Treg in the tumor microenvironment of gastric cancer occurred in early disease and then the infiltration of Th17 cells gradually decreased according to disease progression, in contrast to increased Treg.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：胃十二指腸外科学，癌免疫療法，胃癌，Th17，Treg，Foxp3

1. 研究開始当初の背景

現在，食道癌や胃癌を初めとする消化器

固形癌に対する治療は手術療法を初めとした化学療法および放射線療法が主流である

が、未だ再発・進行癌症例においては満足できる治療効果は得られていない。我々は過去15年間に亘り免疫学的アプローチによる新たな癌治療戦略の開発を行っており、特に食道癌に対する癌ワクチン療法の第Ⅰ、第Ⅱ相臨床試験を展開し有望な結果が得られつつある。癌ワクチン療法を含めた免疫療法の臨床効果をさらに高めるためには、担癌状態における抗腫瘍免疫能低下の原因となるメカニズムを詳細に検討・解析することが極めて重要なポイントとなる。近年 Th17 と呼ばれる新たな T 細胞サブセットが存在し、アレルギー応答や自己免疫、細胞外増殖性の細菌感染防御等で中心的な役割を果たしていることがわかってきた。現在のところ、癌と Th17 細胞との関係性を論じた知見はほとんどなく、癌の微少環境を焦点とした T 細胞サブセットの分布およびバランス等の解析は癌免疫逃避機構の研究・解明に十分な意義があるものと思われる。

2. 研究の目的

担癌状態における癌局所あるいは末梢血中における CD4 陽性 T 細胞サブセット(Th1, Th2, Th17, Treg(Regulatory T cell))の分布とその特徴を解析することにより、新たな癌免疫療法の break through を模索すること。

3. 研究の方法

- (1) 食道癌・胃癌患者から得た癌組織および autologous の正常粘膜組織、第1群、第2群所属リンパ節、および空腸腸間膜内リンパ節(Control)、および末梢血を対象とし、Th1, Th2, Th17, Treg の Merkmal として各々 INF- γ , IL-4, IL-17, Foxp3 に対する monoclonal 抗体を用いて (Intracellular staining), Flowcytometry を使用し、CD4 陽性細胞における各々の陽性細胞比率を算出し臨床病理学的背景との関係を探査する。
- (2) 食道癌手術症例について術中採取した癌組織および autologous の正常食道粘

膜上皮を mechanical mincing し、Ficoll-paque 法にて分離された単核球を抗ヒト CD14 抗体-FITC 抗体で反応させた後、permeabilization/fixation buffer を用い CCL22-PE 抗体および CCL17-PE 抗体にて反応させ intracellular staining を行う。CD14 陽性細胞中における CCL22 あるいは CCL17 ケモカイン陽性細胞の割合を測定するとともに CD4(+)Foxp3 陽性の細胞を Treg と定義し上記ケモカインの分布比率と Treg の分布比率との相関関係を検索する。

4. 研究成果

- (1) 胃癌患者において癌病巣周囲に浸潤する TIL 中の Th17 陽性細胞は正常粘膜のそれと比較して有意に陽性率が高く、その傾向は進行病変より早期病変において著明であった。また、TIL における Th17/Foxp3 の比率は進行病変より早期病変で有意に高値であった (Maruyama T. Cancer Sci 2010;101:1947-54.)。
- (2) 食道癌患者において癌組織と非癌部では、癌組織における CD14 陽性マクロファージ中の CCL17 あるいは CCL22 陽性細胞比率の方が有意に高値であった (Maruyama T. Dis. Esophagus; 2010; 10: 422-9.)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

- ① Multicenter, phase II clinical trial of cancer vaccination for advanced esophageal cancer with three peptides derived from novel cancer-testis antigens. Kono K, Nakamura Y, (他17名, 1番目). Journal of Translational Medicine, 10:141. doi:10.1186/1479-5876-10-141, 2012. (査読有)

(doi: 10.1186/1479-5876-10-141.)

- ② Lapatinib inhibits receptor phosphorylation and cell growth and enhances antibody dependent cellular cytotoxicity(ADCC) of EGFR and HER2 over-expressing esophageal cancer cell lines. Mimura K, Kono K, Mizukami Y, Kawaguchi Y, (他 9 名, 2, 7, 8 番目), Int J Cancer. 2011 Nov 15; 129(10): 2408-16 (査読有)
(doi: 10.1002/ijc.25896.)
- ③ Immunonutritional diet modulates natural killer cell activation and Th17 cell distribution in patients with gastric and esophageal cancer. Maruyama T, Kawaguchi Y, Kono K, (他 5 名, 6, 8 番目). Nutrition, 27(2): 146-52, 2011. (査読有)
(doi: 10.1016/j.nut.2010.07.007.)
- ④ Distribution of Th17 cells and Foxp3 (+) regulatory T cells in tumor-infiltrating lymphocytes, tumor draining lymph nodes and peripheral blood lymphocytes in patients with gastric cancer. Maruyama T, Kono K, Mizukami Y, Kawaguchi Y, Fujii H, (他 3 名, 2, 3, 4 番目). Cancer Science, 101(9):1947-54, 2010. (査読有)
(doi: 10.1111/j.1349-7006.2010.01624.x.)
- ⑤ CCL17 and CCL22 chemokines within tumor microenvironment are related to infiltration of regulatory T cells in esophageal squamous cell carcinoma. Maruyama T, Kono K, Mizukami Y, Kawaguchi Y, Fujii H, (他 3 名, 2, 4, 5 番目). Disease Esophagus, 23(5):422-9, 2010. (査読有)
(doi: 10.1111/j.1442-2050.2009.01029.x.)

[学会発表] (計 7 件)

- ① 井澤伸一郎: 胃癌・食道癌微小環境における Reactive Oxygen Species と regulatory T cell (T-reg) の関係, 第 33 回癌免疫外科研究会, 2012. 5. 17, 新横浜プリンスホテル (神奈川県)
- ② 河口賀彦: 胃癌における CY1 PO 症例の検討, 第 112 回日本外科学会定期学術集会, 2012. 4. 12, 幕張メッセ (千葉県)
- ③ 河口賀彦: 進行再発食道癌に対する Docetaxel/CDDP/5-FU (DCF) 療法の検討, 第 65 回日本食道学会学術集会, 2011. 9. 26, 仙台国際センター (宮城県)
- ④ 河野浩二: HER-1(EGFR), HER-2 を分子標的とした食道扁平上皮癌に対する新規治療ー外科治療に対する有効な補助療法ー (シンポジウム), 第 66 回日本消化器外科学会総会, 2011. 7. 13, 名古屋国際会議場 (愛知県)
- ⑤ 三村耕作: 食道扁平上皮癌における HER2 を標的とした分子標的治療と免疫治療について, 第 32 回癌免疫外科研究会, 2011. 5. 19, 和歌山マリーナシティロイヤルバインズホテル (和歌山県)
- ⑥ 丸山孝教: Immunonutrition による抗腫瘍免疫賦活作用, 第 111 回日本外科学会定期学術集会, 2011. 4, 紙上開催
- ⑦ 水上佳樹: 食道扁平上皮癌における新規癌拒絶抗原の抗原性の検討, 第 110 回日本外科学会定期学術集会, 2010. 4. 8, 名古屋国際会議場 (愛知県)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

水上 佳樹 (MIZUKAMI YOSHIKI)
山梨大学・大学院医学工学総合研究部・
医学研究員
研究者番号: 70530111

(2)研究分担者

河野 浩二 (KONO KOJI)
山梨大学・大学院医学工学総合研究部・
准教授
研究者番号：40283204

河口 賀彦 (KAWAGUCHI YOSHIHIKO)
山梨大学・大学院医学工学総合研究部・
助教
研究者番号：80402048

(3)連携研究者

なし