

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791446

研究課題名(和文)腫瘍微小環境におけるIL-17/IL-21 axisの解明と新規免疫療法の開発

研究課題名(英文)The elucidation of IL-17/IL-21 axis and new immunotherapy in tumor microenvironment

研究代表者

飯田 武(IIDA, TAKESHI)

和歌山県立医科大学・医学部・学内助教

研究者番号：30453187

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円、(間接経費) 600,000円

研究成果の概要(和文)：胃癌114例を対象に開腹後ダグラス窩より採取した腹腔洗浄液中におけるIL-17 mRNAの発現を定量的に評価した。腹腔洗浄液中のIL-17 mRNAは腫瘍の深達度が増すにつれ高発現であった。予後因子の解析において治癒切除症例における多変量解析では腫瘍径ならびにIL-17 mRNA高発現が独立予後不良因子であった。Stage , 症例ではIL-17 mRNA高発現群は低発現群より有意に予後良好であった。進行胃癌患者において高発現群は予後良好であり、その臨床的意義として腹腔内環境における抗腫瘍免疫として作用が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the expression level of IL-17 mRNA in peritoneal lavage with gastric cancer patients and assessed the association of its expression with clinicopathological parameters and prognosis. IL-17 mRNA expression was associated with the depth of the invasion. The survival curves in patients who underwent curative resection showing high expression of IL-17 mRNA were significantly better than that in patients showing low expression of IL-17 mRNA. In a multivariate analysis, IL-17 mRNA-low expression in peritoneal lavage and tumor size were independent significant predictive factors for prognosis. IL-17 mRNA expression in peritoneal lavage detected by real-time RT-PCR is a reliable prognostic factor in patients with curative resection in gastric cancer. Low IL-17 gene expression in the peritoneal cavity may correlate with cancer development in the peritoneal cavity in patients with gastric cancer.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科学一般

キーワード：胃癌 腫瘍 IL-17 腹腔

1. 研究開始当初の背景

消化器癌においては手術手技の確立、新規抗癌剤登場によりその予後は近年、飛躍的に改善された。とはいえ、高度のリンパ節転移、腹膜転移、遠隔転移を有する進行消化器癌においては治療が望める症例は極めて少なく有効な治療法が未だ無いのが現状である。このような患者に対して、免疫療法の臨床研究が開始されて久しいが、腫瘍縮小効果に乏しいのが現状である。これを克服するためより強力に効果的なワクチン療法の開発とともに、免疫抑制状態からの離脱・回復が重要な課題である。従来から腫瘍局所における慢性炎症が腫瘍増殖に関連する可能性が示唆されていたが、それを直接証明する結果が報告された(Nature 442:461-465, 2006)。この報告では腫瘍組織において腫瘍局所に存在する樹状細胞が IL-23 を強く発現しており、これにより Th17 より IL-17 の産生が促進され、炎症が惹起され、好中球浸潤、腫瘍血管新生および MMP 9 の高発現をもたらす、同時に CD8+ T 細胞の浸潤を著明に抑制するというものであった。つまり腫瘍局所において産生される IL-23 が腫瘍増殖における最適な環境を提供しているため、たとえ優れた腫瘍抗原ペプチドを用いたワクチン療法にて腫瘍特異的 CTL が誘導できたとしても抗腫瘍効果を発揮するに至っていない可能性が考えられる。IL-23 は IL-23 receptor を有する Th17 に作用し、IL-17 を介して炎症反応を惹起する重要なサイトカインである。ところが最近、Th0 から Th17 への分化には IL-6, TGF- β のみでは不十分であり IL-21 の initiation が必須であることが明らかにされた(Nature 448:480-484, 2007)。従って腫瘍局所における IL-21 の制御が腫瘍抗原ワクチンによる免疫療法を成功させる鍵となるものと考えられる。

我々のこれまでの研究においても、ヒト胃癌腫瘍組織における IL-17mRNA, IL-23mRNA, IL-21mRNA の発現はそれら正常組織より高発現であり、両者に正の相関関係を認めることを明らかにしてきた。また、これまでの研究において腫瘍局所 IL-17 産生抑制が腫瘍増殖に及ぼす影響を検討した結果、Ad-IL-17 siRNA の腫瘍内接種により B16 皮下移植腫瘍、MC38 皮下移植腫瘍ともに腫瘍増殖が抑制されることを明らかにしてきた。

以上の背景から次の仮説を立て、本研究でその検証を行う。IL-21 は IL-6, TGF- β とともに Th0 から Th17 への分化を促進し、さらに IL-23 により Th17 からの IL-17 の産生を引き起こす。それに相関して腫瘍局所では好中球浸潤が促進され血管新生も亢進する。IL-21 の発現制御が腫瘍増殖の抑制および免疫抑制の解除につながると考えられる。そこで、IL-21 が Th0 から Th17 への分化に必須であるため、IL-21 siRNA を腫瘍局所に投与し、IL-21 の発現を抑制する事でより強力な

抗腫瘍ワクチン療法の効果増強が得られると考えられる。これまで IL-23 と癌の増殖との関連が初めて示されてきたが、これは以前より注目されていたヒト腫瘍組織における慢性炎症と腫瘍増殖との関連を直接証明する意義深い発見である。しかしながら、IL-23 と関連する DC、Th17 などの免疫細胞や IL-17, IL-21, その他のサイトカインの腫瘍組織における動態は全くわかっていないのが現状である。

また、2007 年には IL-23 は Th1 を活性化し INF- γ を介した抗腫瘍免疫に働くとの報告もある。これらを考慮し、我々の研究は IL-21 を抑制することで、IL-23 による抗腫瘍効果を保ちつつ IL-17 による腫瘍局所における免疫抑制状態の解除を目的とする点において極めて独創的である。本研究では胃癌を対象を絞り、多数の症例を対象として各臨床病期(stage)においてそれらがどのような動態を示しているのかを検討する全く初めての試みである。この研究の結果により Th17 とその分化に関わる IL-21 を中心とする炎症性サイトカインが腫瘍組織における慢性炎症が癌の発育・進展や免疫抑制にどのように関わっているか明らかになるなど腫瘍免疫療法の成否において極めて意義深い研究である。担癌マウスにおける癌ワクチン療法のモデルを用いて IL-21 siRNA を利用して腫瘍局所での IL-21 を抑制することにより抗腫瘍免疫を増強できるか否かを検討するまったく初めての研究であり、極めて独創性が高いといえる。

また、IL-21 siRNA リポゾームを用いることで、全身での炎症反応抑制を引き起こすことなく腫瘍局所でのみ効率的に一過性に IL-21 の発現を抑制できるため、臨床応用を考えた場合、遺伝子治療の制約を受けず、実際的である。癌ワクチン療法などの免疫療法に併用することで効果増強が期待できる新規分子標的免疫療法の開発につながる研究である。

2. 研究の目的

ヒト胃癌組織における IL-21 を中心とする炎症反応と免疫応答との関連を検討し、IL-17 の制御を行うことにより進行胃癌の癌免疫療法の有効性を高めることを究極の目的とする。しかし、最近 IL-21 により分化・誘導される IL-17 は従来よりその発現局在、種や癌腫によって腫瘍増殖に働くとの報告と抗腫瘍効果をもたらすとの相反する報告がなされて来た。これまでの我々の研究ではヒト胃癌腫瘍局所での IL-17 発現は好中球浸潤、血管新生を増進することで腫瘍増殖をもたらすとの研究結果が得られていたが、上記背景あることより、最終目的である IL-17 制御により抗腫瘍効果が得られるかどうか、次に、腹腔内環境での IL-17 発現とその臨床病理学的因子、予後との関連につ

いて検証することを目的とした。

3. 研究の方法

胃癌手術症例、114 症例を対象に開腹後ダグラス窩より採取した腹腔洗浄液 50ml を術中迅速細胞診に提出、50ml より total RNA を抽出し cDNA を合成、腹腔洗浄液中における IL-17 mRNA の発現を LightCycler を用いて real-time RT-PCR 法により定量。定量値は GAPDH mRNA の発現比にて解析した。IL-17mRNA の発現と臨床病理学的因子ならびに予後との関連について評価した。

4. 研究成果

腹腔洗浄液中の IL-17 mRNA の発現は腹膜播種陽性例 (n=14) において陰性例 (n=100) より有意に高発現であった。また、腹腔洗浄液中の IL-17 mRNA は腫瘍の深達度が増すにつれ高発現であった。予後因子の解析において治癒切除症例 (n=79) における単変量解析ではリンパ節転移陽性、腫瘍浸潤陽性、脈管浸潤陽性、腫瘍径ならびに IL-17 mRNA 高発現が予後不良因子であった。多変量解析では腫瘍径ならびに IL-17 mRNA 高発現が独立予後不良因子であった。

また、subgroup 解析において Stage 症例では IL-17 mRNA 高発現群、低発現群両群間の予後に差は認めなかったが、Stage , 症例 (n=38) では IL-17 mRNA 高発現群は低発現群より有意に予後良好であった。また、深達度別の解析では T1 症例においては両群間の予後に差は認めなかったが T2, T3, T4 症例 (n=50) ならびに T4 症例 (n=15) での解析において、いずれも IL-17 mRNA 高発現群は低発現群より有意に予後良好であった。

胃癌腹腔洗浄液中の IL-17mRNA は腫瘍の増殖・進展に伴い高発現であった。また、進行胃癌患者においてその高発現群は予後良好であり、その臨床的意義として腹腔内環境における抗腫瘍免疫として作用が示唆された。

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4件)

① Prognostic significance of IL-17 mRNA expression in peritoneal lavage in gastric cancer patients who underwent curative resection. Iida T, Iwahashi M, Katsuda M, Ishida K, Nakamori M, Nakamura M, Naka T, Ojima T, Ueda K, Hayata K, Yasuoka H, Yamaue H. Oncol Rep. 2014 Feb;31(2):605-12. 査読有

② Antitumor immune response of dendritic cells (DCs) expressing tumor-associated antigens derived from induced pluripotent stem cells: in comparison to bone marrow-derived DCs.

Iwamoto H, Ojima T, Hayata K, Katsuda M, Miyazawa M, Iida T, Nakamura M, Nakamori M, Iwahashi M, Yamaue H. Int J Cancer. 2014 Jan 15;134(2):332-41. 査読有.

③ Inhibition of IL-17A in tumor microenvironment augments cytotoxicity of tumor-infiltrating lymphocytes in tumor-bearing mice. Hayata K, Iwahashi M, Ojima T, Katsuda M, Iida T, Nakamori M, Ueda K, Nakamura M, Miyazawa M, Tsuji T, Yamaue H. PLoS One. 2013;8(1):e53131. 査読有.

④ An armed oncolytic herpes simplex virus expressing thrombospondin-1 has an enhanced in vivo antitumor effect against human gastric cancer. Tsuji T, Nakamori M, Iwahashi M, Nakamura M, Ojima T, Iida T, Katsuda M, Hayata K, Ino Y, Todo T, Yamaue H. Int J Cancer. 2013 Jan 15;132(2):485-94. 査読有.

Int J Cancer. 2013 Jan 15;132(2):485-94. 査読有.

[学会発表](計1件)

飯田 武, 岩橋 誠, 勝田 将裕, 中森幹人, 中村公紀, 尾島敏康, 辻 俊明, 早田啓治, 松村修一, 加藤智也, 川井 学, 谷真至, 瀧藤克也, 山上裕機: 胃癌腹腔洗浄液中における IL-17mRNA の発現解析. 第 113 回日本外科学会, 2013. 4, 福岡

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:
取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

6. 研究組織

(1)研究代表者

飯田 武 (IIDA TAKESHI)

和歌山県立医科大学・医学部・学内助教
研究者番号: 3045318

(2)研究分担者

()

研究者番号：
(3)連携研究者

()

研究者番号：