

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462016

研究課題名(和文) 逆流性食道炎による食道発癌過程での炎症性微小環境の解明とその抑制

研究課題名(英文) Impact of inflammation-metaplasia-adenocarcinoma sequence and inflammatory microenvironment in esophageal carcinogenesis using surgical rat models

研究代表者

宮下 知治 (Tomoharu, Miyashita)

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：30397210

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：胃食道逆流症(GERD)に代表される消化液の逆流による慢性炎症が食道癌発生の大きな原因の一つである。発癌機序に関しては組織学的にInflammation-Metaplasia-Adenocarcinoma sequenceによることが解明されているが、本研究では腫瘍微小環境の変化を浸潤細胞の観点から検討した。GERDにより炎症初期には食道粘膜にpStat3の活性化と汎マクロファージが誘導される。炎症の持続とともに腫瘍関連(M2型)マクロファージや調節性T細胞が誘導され、癌の微小環境が形成される。以上より発癌の抑制あるいは癌治療にはこれら癌微小環境を改変させる工夫が重要である。

研究成果の概要(英文)：Macrophages infiltrate the esophagus and activate the pStat3 pathway in stromal cells and epithelium. M2 phenotype macrophages infiltrate following infiltration of M1 macrophage and contribute to tumor development through regulatory T cells (Tregs). The involvement of immune cells such as TAMs and Tregs in the inflammatory microenvironment promotes esophageal carcinogenesis.

研究分野：消化器外科

キーワード：食道発癌 逆流性食道炎 腫瘍微小環境

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 慢性炎症と発癌は密接に関与していることが報告されている。

(2) 胃食道逆流症 (GERD) に代表される消化液の逆流による慢性炎症が食道癌発生の大きな原因の一つである。

(3) 近年、腫瘍組織内に浸潤する macrophage は Tumor-associated macrophage (TAM) と呼ばれ、正常組織内の macrophage とは全く異なる性質を有していることが判明してきた。

(4) 多くの固形癌において TAM (M2 型) は腫瘍組織内微小環境形成に関与する種々のサイトカインやケモカインを産生し腫瘍免疫の抑制、細胞増殖の誘導、発癌促進に作用すると考えられている。

(5) 申請者らはラットを用いて発癌剤を使用せず十二指腸液の食道逆流手術モデルによる自然食道発癌に成功し、その発癌機序が組織学的に Inflammation-Metaplasia-Adenocarcinoma (IMA) sequence によることを証明してきたが、この炎症反応がどのようなプロセスを経て発癌に至るか詳細は明らかになっていない。

(5) HDAC 阻害薬である Valproic acid (VPA) は Stat3 や TNF- $\alpha$  を抑制することも報告されている。

## 2. 研究の目的

(1) 自然発癌モデルを用いて癌化に至るまでの各段階での TAM を中心とした炎症性微小環境の遺伝子発現、細

胞浸潤を詳細に解析し、抗腫瘍から免疫抑制までの極性の変化を明らかにする。

(2) VPA を投与し、抗腫瘍免疫誘導による炎症性微小環境に対する効果を基礎的に検討し、そのメカニズムの解析を行う

## 3. 研究の方法

(1) 病理組織学および TAM を中心とした炎症細胞の浸潤を分子生物学的に解析し、発癌過程での炎症性微小環境を検討する。

(2) VPA の投与による腫瘍抑制効果と炎症性微小環境の変化について検討する。

## 4. 研究成果

(1) 逆流による慢性炎症により炎症初期の術後 20 週目より pStat3 の活性化および汎マクロファージ (M1 型) の誘導が認められ、週数を経た扁平上皮過形成、Barrett 上皮、癌発生時期にも発現が継続していた。TAM (M2 型) は術後 30 週目以降で Barrett 上皮および癌部周囲に誘導された。抑制性 T 細胞 (Treg) は癌部周囲の一部に発現しているのみであった。

(2) VPA 投与群ではコントロール群に比べて癌発生率が低率である傾向を認めた。

(3) 慢性炎症からの発癌過程において、炎症の初期段階より macrophage が浸潤し、癌の形成過程で腫瘍組織の微小環境が M1 型優位の環境から M2 型

に誘導されることが示唆された。すなわち免疫抑制性の微小環境が誘導されることが示唆された。またこれらの環境の変化には間質細胞や上皮細胞の pStat3 の発現が強く関与していることも示唆された。また同様に T 細胞に関しても発癌過程とともに Treg が誘導される可能性が示唆された。VPA には Stat3 抑制効果も示唆されており、これらの環境を改変させる可能性のある薬剤の一つと考えられた。

## 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 2 件 )

( 1 ) Miyashita T, Tajima H, Furhawn A. Shah, Oshima M, DVM, Makino I, Nakagawara H, Kitagawa H, Fujimura T, John W. Harmon, Ohta T. Impact of inflammation-metaplasia-adenocarcinoma sequence and inflammatory microenvironment in esophageal carcinogenesis using surgical rat models. Ann Surg Oncol 21(6):2012-2019, 2014. 査読有.

( 2 ) Miyashita T, Tajima H, Munemoto M, Shah FA, Harmon JW, Watanabe T, Shoji M, Okamoto K, Nakanuma S, Sakai S, Kinoshita J, Makino I, Nakamura K, Hayashi H, Oyama K, Inokuchi M, Nakagawara H, Takamura H, Ninomiya I, Kitagawa H, Fushida

S, Mukaisho K, Fujimura T, Ohta T. Impact of histone deacetylase 1 and metastasis-associated gene 1 expression in esophageal carcinogenesis. Oncology Letters. 8(2):758-764, 2014. 査読有.

[ 学会発表 ] ( 計 2 件 )

( 1 ) Miyashita T. Impact of inflammation-metaplasia-adenocarcinoma sequence and inflammatory microenvironment in esophageal carcinogenesis using surgical rat models. Society of Surgical Oncology Cancer Symposium 67th Annual 2014. 2014.03.12 ~ 03.15. Phoenix ,Arizona( USA )

( 2 ) Miyashita T. The inflammatory microenvironment in Duodeno-Esophageal reflux induced esophageal carcinogenesis in a sequential rat model. Digestive Disease Week 2013. 2013.05.08 ~ 05.21. Orlando(USA)

## 6 . 研究組織

(1) 研究代表者

宮下知治

( Miyashita

Tomoharu )

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：30397210

(2)研究分担者

太田 哲生 (Ohta Tetsuo)

金沢大学・医学系・教授

研究者番号：40194170