

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 18 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：25462106

研究課題名(和文) 自然免疫応答の賦活化を基盤とした膵癌新規薬物併用療法の開発

研究課題名(英文) Low-dose gemcitabine induces major histocompatibility complex class I-related chain A/B expression and enhances an antitumor innate immune response in pancreatic cancer.

研究代表者

太田 哲生 (Ohta, Tetsuo)

金沢大学・医学系・教授

研究者番号：40194170

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：自然免疫逃避機構に関与する腫瘍のMIC (MHC class related chain) A/B発現の増強効果に着目した。切除標本を用いた検討にて術前化学療法(Gemcitabine：GEM)を施行すると癌細胞のMICA発現が増強し、周囲に免疫担当細胞の浸潤が高率に認められた。また膵癌細胞株を用いた検討では低濃度GEMにValpronic acid (VPA)を付加すると、MICA/Bの発現が増強され、また T細胞による傷害活性の向上が認められた。さらに可溶性MICA/Bの増加を抑制することが示された。以上よりGEM+VPA療法は免疫逃避機構を解除する可能性が示唆される。

研究成果の概要(英文)：We investigated the effect of gemcitabine (GEM), a key drug for pancreatic cancer treatment, on the expression of cell surface MICA/B in pancreatic cancer cells and resulting cytotoxicity of T cells. MICA and CD16 expressions from resected pancreatic cancer patient specimens, which received neoadjuvant chemotherapy (NAC) with GEM, were analyzed by immunohistochemistry. Immunohistochemical staining demonstrated that MICA expression in tumor cells and CD16 positive cells surrounding tumors were significantly higher in the NAC group compared to that of the control group. The present results indicate that low-dose GEM-induced MICA/B expression enhances innate immune function rather than cytotoxicity in pancreatic cancer. In addition, our result suggests that the inhibition of cleavage and release of MIC molecules from the tumor surface could potentially improve NKG2D-dependent cytotoxicity.

研究分野：肝胆膵外科

キーワード：膵癌 術前化学療法 免疫逃避機構 MICA/B Gemcitabine Valpronic acid 自然免疫機構

1. 研究開始当初の背景

(1) 癌細胞は腫瘍抗原を発現しており、それらの抗原に対する腫瘍抗原特異的な細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) が存在することが報告され、癌治療における応用が期待されてきた。

(2) 癌細胞に対する免疫細胞治療は癌ペプチドを中心に CTL が認識する抗原の分析・同定に力を注ぎ、いかに CTL を活性化するかが注目されてきた。

(3) しかし免疫治療の研究が進むにつれ腫瘍免疫逃避機構の存在が大きな障壁となり、ペプチドワクチン療法で今一つ良好な成績が得られていないのが現状である。

(4) NKG2D は NK 細胞、CD8⁺ T 細胞および T 細胞に発現しており、リガンドが結合した場合には活性シグナルを伝達し、癌細胞への傷害活性が誘導され、また抗原特異的なエフェクター T 細胞を活性化する。

(5) NKG2D リガンド (MHC class related chain A and B ; MICA/B) は生体内の正常細胞には発現していないが、病的状態になると発現が誘導 (ストレス誘導性) され、多くの上皮系の腫瘍細胞において発現していることが確認されている。

(6) NKG2D の発現低下および腫瘍細胞の MICA/B 発現低下、可溶性 MICA/B の存在が癌免疫逃避機構の課題の一部と考えられる。

(7) 膀胱癌の化学療法で使用されている gemcitabine (GEM) が殺細胞効果以外に腫瘍上の MICA/B の発現を増加させることが報告されている。

(8) Valpronic acid (VPA) は骨肉腫細胞株において NKG2D の発現を増強し、可溶性 MICA/B を増加させることなく腫瘍細胞表面

上に MICA/B を誘導することが報告されている。

2. 研究の目的

(1) 難治性固形癌の一つとされる膀胱癌に対して GEM を中心とする化学療法薬に加えて VPA などを併用し、NK 細胞、CD8⁺ T 細胞および T 細胞などの自然免疫機能を賦活化し、腫瘍細胞の免疫逃避機構を抑制することにより抗腫瘍効果を増強させる新たな細胞療法を含めた膀胱癌に対する集学的治療法の開発を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 膀胱癌の切除標本を用いて術前化学療法 (GEM) を行った症例での MICA/B の発現と浸潤細胞を免疫組織学的に検討する。

(2) 膀胱癌細胞株を用いて GEM および VPA 投与による腫瘍細胞上での MICA/B 発現増強効果の有無およびエフェクター細胞 (T 細胞) の傷害活性への影響を検討する。

(3) 可能性 MICA/B への影響を検討する。

4. 研究成果

(1) 術前化学療法 (GEM+S-1) (NAC) 群と術前化学療法非施行群 (Cont) 群に分けて検討すると、NAC 群では Cont 群に比べて癌細胞膜上での MICA の発現および腫瘍周囲の CD16 陽性リンパ球の浸潤度が有意に高率で、NAC により MICA 発現の増強効果と免疫担当細胞の誘導が認められた (図 1)。

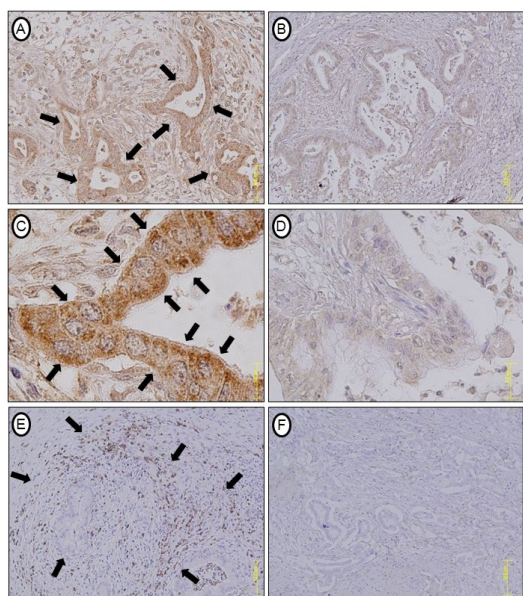


図 1：膵癌での MICA 発現および CD16 陽性リンパ球の浸潤。

A, C : NAC 群では MICA の発現が癌細胞膜および細胞質に認められる。B, D: Cont 群では MICA の発現が低率である。E : NAC 群では腫瘍周囲に高度な CD16 陽性リンパ球の浸潤を認める。F : Cont 群では CD16 陽性リンパ球浸潤は認められない。

(2) 膵癌細胞株では低濃度 GEM (細胞活性に影響を与えない濃度) により MICA/B の発現増強が認められた (図 2)。

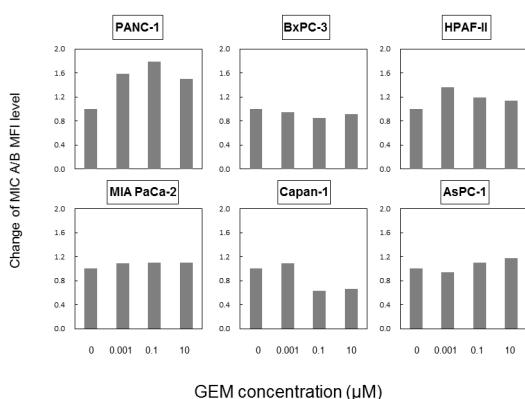


図 2：GEM による MICA/B 発現への影響

MICA/B 陽性細胞である PANC-1, HPAF- , MIAPaCa-2, Capan-1 では低濃度 GEM で MICA/B の発現増強効果が認められるが、MICA/B 陰性

細胞である AsPC-1 では発現増強効果は認められない。

(3) 低濃度 GEM に VPA を付加することにより、細胞上の MICA/B の発現がさらに増強し、T 細胞傷害活性の向上が認められた (図 3)。

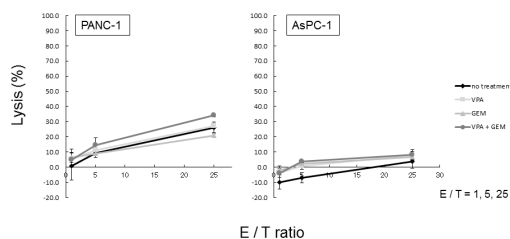


図 3： T 細胞傷害活性への影響

MICA/B 陽性細胞である PANC-1 では低濃度 GEM +VPA で細胞障害活性の増強が認められるが、MICA/B 陽性細胞である AsPC-1 では増強効果は得られない。

(4) 低濃度の GEM に VPA を付加すると可溶性 MICA/B の減少が認められた (図 4)。

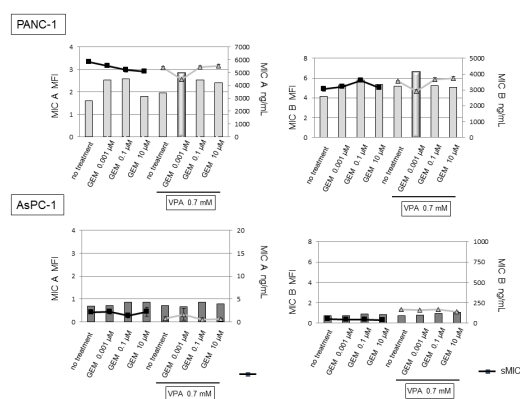


図 4：低濃度 GEM +VPA 群での可溶性 MICA/B の影響

PANC-1 では低濃度 GEM +VPA で可溶性 MICA/B の発現が抑制される。

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1件)

(1) Miyashita T, Miki K, Kamigaki T, Makino I, Nakagawara H, Tajima H, Takamura H, Kitagawa H, Fushida S, Ahmed Ak, Duncan MD, Harmon JW, Ohta T. Low-dose gemcitabine induces major histocompatibility complex class I-related chain A/B expression and enhances an antitumor innate immune response in pancreatic cancer. *Clinical and Experimental Medicine*. 2015. [Epub ahead of print]. 査読有. DOI: 10.1007/s10238-015-0394-x

〔学会発表〕(計2件)

(1) Miyashita T, Ohta T, et al. Low dose gemcitabine induces Major Histocompatibility complex class I-related chain A/B expression and activates T cell function in pancreatic cancer. The 61st Annual Congress of International College of Surgeons Japan Section. 2015.06.20. Keio Plaza Hotel, Tokyo.

(2) Miyashita T, Ohta T, et al. Gemcitabine induces Major Histocompatibility Complex Class I-related chain A/B expression, activating T cell function in pancreatic cancer. *Digestive Disease Week* 2015. 2015.05.15 ~ 05.16. Washington DC (USA)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

太田 哲生 (Ohta Tetsuo)

金沢大学・医学系・教授

研究者番号: 40194170

(2) 研究分担者

宮下 知治 (Miyashita Tomoharu)

金沢大学・医学系・助教

研究者番号: 30397210