

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 25 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461993

研究課題名(和文) 腫瘍局所におけるIL23/Th17 pathway制御による新規分子標的の開発

研究課題名(英文) The development of molecular target drug through the control of IL23/Th17 pathway 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・博士研究員

研究者番号：30453187

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：腫瘍局所におけるIL-17mRNA高発現群は、有意差は認めないも、低発現群よりも予後不良傾向にあった。IL-17 mRNAの腹腔内の発現は、腫瘍深達度の増すにつれ、また、腹膜播種症例にて高発現であった。同一症例における、腹腔内でのIL-17mRNA発現の定量値と、腫瘍局所のIL-17の免疫組織学的染色で、その陽性細胞数を比較・検討も、両者に相関関係は認めなかった。これらの結果より、ヒト胃癌においても、腫瘍局所と腹腔内環境とでは、IL-17の腫瘍に対する、増殖効果または、抑制効果と相反すも、腫瘍局所においてはその制御、抑制により抗腫瘍効果を期待出来ることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In the patients who underwent curative resection, IL-17 mRNA expression levels in peritoneal lavage increased according to the depth of tumor invasion.

To examine the correlation of IL-17 production between in peritoneal lavage and in the primary tumor tissue, we performed immunohistochemical staining for IL-17 of primary tumor in the same patients samples. In the primary tumor tissues, IL-17 immunoreactive cells were detected at the cytoplasm in mononuclear cells; however none of the tumor cells were stained for IL-17. IL-17 producing cells in tumor tissues were 7.30 ± 0.82 (mean \pm SE) per field. There were no correlation between IL-17 positive cells in tumor tissues and IL-17 mRNA expression in peritoneal wash ($r=0.092$, $p=0.329$). It was suggested that IL-17 locally expressed in the tumor would be a potential therapeutic target for treatment of patients with advanced gastric cancer.

研究分野：癌微小環境

キーワード：IL-17 IL-23 IL-21 胃癌 腫瘍微小環境

1. 研究開始当初の背景

IL-23 は生体の感染防御に大きく関連しているといわれているが、その生物活性は未だ不明な点が多い。背景で述べた様に、IL-23 と癌の増殖との関連が示されているが、これは以前より注目されていた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非常に意義深い発見である。

しかしながら、これらはごく少数に限られた癌種での検討であり、すべての癌で同様の現象がみられるのか、また IL-23 と関連する DC、Th17 などの免疫細胞やその他のサイトカインの腫瘍組織における動態はどのようなか全くわかっていない。

標準療法不応の高度進行消化器癌に対して、細胞免疫療法、ペプチドワクチン療法、樹状細胞療法などの免疫療法の臨床研究が開始されて久しいが、免疫反応は認めるものの、臨床的治療効果に乏しいのが現状である。その理由として、進行癌患者では Th1/Th2 バランスが明らかに Th2 に shift しており免疫抑制の状態にあるため、抗腫瘍免疫応答が誘導されないと考えられる。これを克服するためには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きた。近年、ヒトの多くの腫瘍組織において腫瘍局所に浸潤する樹状細胞が IL-23 を強く発現しており、IL-17 を介して好中球浸潤、血管新生の増生がもたらされることで炎症が惹起され、腫瘍増殖に繋がること報告された。

つまり、腫瘍局所において産生されるが IL-23 が IL-17 を介して慢性炎症を惹起することで腫瘍増殖における最適な環境を提供するため、たとえ優れた免疫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いたっていない可能性が考えられる。

本研究では胃癌症例を対象として各臨床病期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 IL-17、IL-23 を中心とする腫瘍組織における慢性炎症が癌の発育・進展にどのように関わっているか明らかになり腫瘍免疫療法の成否においての極めて意義深い研究である。

2. 研究の目的

近年、腫瘍局所における IL-23 による慢性炎症が腫瘍増殖に関連する可能性が示唆されてきた。腫瘍局所において産生されるが IL-23 が IL-17 を介して慢性炎症を惹起することで腫瘍増殖における最適な環境を提供するため、たとえ優れた免疫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いたっていない可能性が考えられる。

そこで IL-23siRNA を腫瘍局所に投与することにより IL-23 の発現を抑制することによ

り慢性炎症を制御することで免疫療法の効果増強が得られると考えられる。

本研究では、ヒト癌組織における IL-17、IL-23 を中心とする炎症反応と免疫応答との関連を検討し、その制御により進行消化器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。

3. 研究の方法

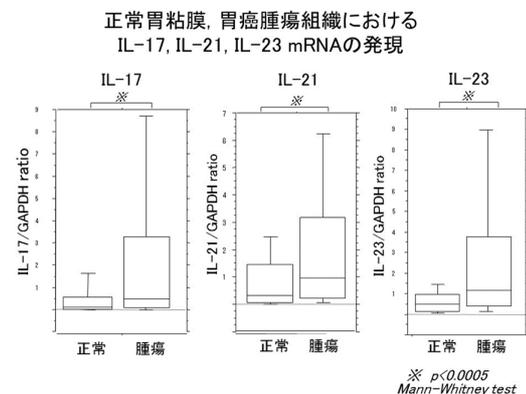
ヒト癌組織における IL-17、IL-23 を中心とする炎症反応と免疫応答との関連を検討し、その制御により進行消化器癌の癌免疫療法の有効性を高めることを目的とし、以下の検討を行う。

1. 胃癌組織における IL-23mRNA, IL-17mRNA, IL-21mRNA, IL-6mRNA, TGF- β mRNA の発現を real time RT-PCR 法にて検討し、それらの発現の相関関係を検討するとともに、その発現量と臨床病理学的因子との関連を検討する。また免疫組織学的検討により CD8+T 細胞、CD4+T 細胞、DC、好中球、NK 細胞の腫瘍組織における分布および細胞数を検討する。
2. 胃癌症例の腹腔内洗浄液中の IL-17mRNA の発現を real time RT-PCR 法にて定量的に評価し、病理学的因子との関連を検討し、腫瘍局所における腫瘍浸潤リンパ球の IL-17 陽性細胞数との相関について解析する。
3. 胃癌組織より腫瘍浸潤リンパ球を分離し、MACS を用いて CD8+T 細胞、CD4+T 細胞、DC を分離。それぞれの細胞分画における各種サイトカインの産生ならびに機能解析を行う。
4. CT26 マウス皮下腫瘍モデルを用いて IL-23siRNA リポゾームを腫瘍内に局注し、抗腫瘍効果を検討し、新たな分子標的となり得るかを明らかにする。

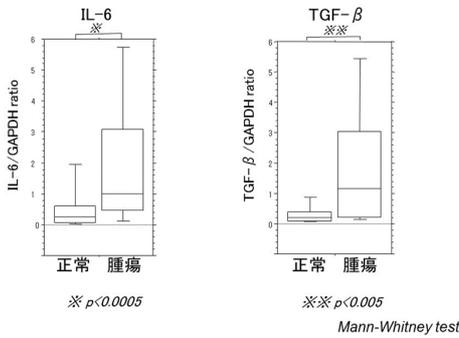
4. 研究成果

胃癌腫瘍局所、腫瘍微小環境における IL-17/IL-23 を中心とした、免疫、炎症性サイトカインの動態を解析・検証し、そのコントロール、制御による新規分子標的の開発を目的とした。上記 ~ の研究成果として、以下の結果、成果を得た。

図 1.

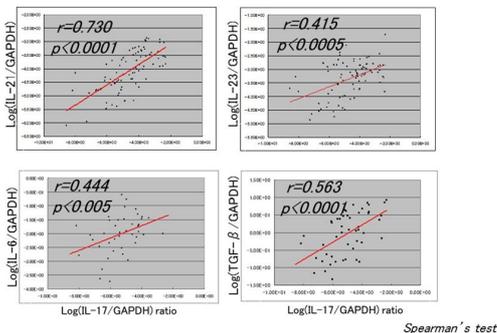


正常胃粘膜, 胃癌腫瘍組織における
IL-6, TGF- β mRNAの発現



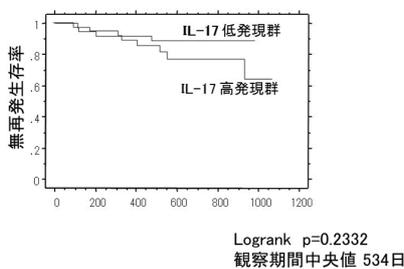
腫瘍局所における IL-17, IL-21, IL-23, IL-6, TGF- β mRNA の発現を定量的に評価した。いずれも、腫瘍組織においては、正常粘膜組織より有意に高発現であった(上図 1.)。これら、サイトカインの腫瘍局所における相関関係 IL17/IL-21, IL-17/IL-23, IL-17/IL-6, IL-17/TGF- β はいずれも、有意差をもって正の相関関係を認めた(下図 2.)。図 2.

腫瘍組織におけるIL-17 mRNA発現と
IL-21, IL-23, IL-6, TGF- β mRNA発現の相関



腫瘍局所における IL-17, IL-21 mRNA 高発現群は、有意差は認めないも、低発現群よりも予後不良傾向にあった(下図 3.)。図 3.

胃癌治療切除症例(n=58)における
腫瘍局所でのIL-17 mRNAの発現と予後

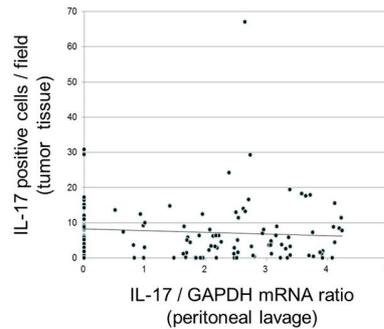


昨今の諸報告では、IL-17 は動物種、癌種、発現部位により腫瘍増殖作用か、腫瘍増殖抑制作用の相反する報告がなされた。我々の報告においても、腫瘍局所における IL-17 は腫瘍増殖作用がある一方、腹腔内の IL-17 mRNA 高発現群は低発現群に比べ予後良好であることを指摘した。IL-17 mRNA の腹腔内の発現について病理学的因子との解析を行なった

ところ、腫瘍深達度の増すにつれ、また、腹膜播種症例にて高発現であった。同一症例における、腹腔内での IL-17 mRNA 発現の定量値と、腫瘍局所の IL-17 の免疫組織学的染色で、その陽性細胞数を比較・検討も、両者に相関関係は認めなかった(下図 4.)。

図 4.

腫瘍局所におけるIL-17陽性細胞数と、
腹腔内におけるIL-17 mRNA発現量の相関



これらの結果より、ヒト胃癌においても、腫瘍局所と腹腔内環境とでは、IL-17 の腫瘍に対する作用は、腫瘍増殖効果または、腫瘍抑制効果と相反す可能性が考えられるも、腫瘍局所においてはその制御、抑制により抗腫瘍効果を期待出来ることが示唆された。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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〕
ホームページ等

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・博士研究員
研究者番号：30453187

(2) 研究分担者

中森 幹人 (NAKAMORI MIKIHITO)
和歌山県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号：10322372

山上 裕機 (YAMAUE HIROKI)
和歌山県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：20191190

岡田 健一 (OKADA KENICHI)
和歌山県立医科大学・医学部・講師
研究者番号：50407988

勝田 将裕 (KATSUDA MASAHIRO)
和歌山県立医科大学・医学部・助教
研究者番号：50464673

尾島 敏康 (OJIMA TOSHIYASU)
和歌山県立医科大学・医学部・講師
研究者番号：60448785

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()