

令和 4 年 6 月 19 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09210

研究課題名(和文) 食道扁平上皮癌に対するTLR3アゴニストを用いた新規免疫療法の確立

研究課題名(英文) Establishment of novel immnotheraoy using TLR3 agonist against ESCC

研究代表者

佐藤 雄亮 (Sato, Yusuke)

秋田大学・医学系研究科・講師

研究者番号：10431628

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：食道扁平上皮癌細胞株におけるToll-like receptor 3(TLR3)の発現と機能を解析するために、9種類の食道扁平上皮癌細胞株とTLR3のリガンドであるpolyI:C、さらに近年報告されているTLR3に特異的なリガンドであるARNAXを用いて実験を開始した。polyI:CおよびARNAX投与により複数の食道扁平上皮癌細胞株の増殖能は低下した。しかし変化がないもの、逆に増殖能が増加した細胞株も3種類認められた。このため、polyI:CおよびARNAXが食道扁平上皮癌細胞株の増殖能に与える影響は一定ではなく、細胞株により異なることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

polyI:CよりもよりTLR3に特異的で副作用が少ないと考えられるARNAXを使用した食道扁平上皮癌細胞株の細胞増殖能への影響は一定ではなかった。しかしpolyI:CおよびTLR3により食道扁平上皮癌細胞株から産生されるCXCL10 mRNAは増加しており、免疫細胞がいる生体内ではケモカインであるCXCL10産生により免疫細胞が集まり抗腫瘍免疫を起こす可能性があり腫瘍縮小効果が期待できる。

研究成果の概要(英文)： To elucidate the expressions and functions of Toll-like receptor 3(TLR3) in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC), we used TLR3 ligand, polyI:C, and ARNAX, which is specific for TLR3 in 9 ESCC lines. By treatment with polyI:C and ARNAX, proliferation of 3 ESCC lines were down-regulated. However, proliferation of 3 ESCC lines were not changed, and proliferation of remaining 3 ESCC lines were up-regulated. Based on these results, influence of polyI:C and ARNAX on ESCC proliferation was not constant.

研究分野：食道外科

キーワード：食道扁平上皮癌 Toll-like receptor TLR3 CXCL10 予後

1. 研究開始当初の背景

食道癌は周囲の重要臓器に浸潤しやすく、早期から広範囲にリンパ節転移を起こしやすいため予後不良な難治性悪性腫瘍である。現在行われている標準的な治療法は生体に対する侵襲が大きく、食道癌を治せたとしても治療後のQOL低下が著しい。低侵襲で効率的な新しい治療法の開発が急務である。本研究では研究代表者のこれまでの研究結果を基に TLR3-CXCL10 カスケードを標的とした食道扁平上皮癌に対する新しい治療戦略の確立を目指す。「手術をしなくても食道癌を治せる時代」に向けて基礎となる絶対に必要な研究である。

食道癌は世界で 6 番目に多い死亡者数(41 万人/年)を数える疾患であり、日本でも毎年 1 万 1 千人が死亡している。消化器癌の中でも極めて予後が悪い悪性腫瘍である。原因として 食道が他の消化管と異なり外膜がなく、気管気管支、大動脈等の周囲の重要臓器に浸潤しやすいこと、食道粘膜下層のリンパ管が発達しているため早期からリンパ節転移を起こしやすいこと、リンパ流が頸部、胸部、腹部の 3 領域に広範に広がること、が挙げられる。現在、日本において食道癌全体の 93%を占める食道扁平上皮癌の治療には内視鏡下粘膜切除、手術、化学放射線療法が行われているが、最も行われている治療である手術(食道切除再建術)は「人体が耐え得る最大の手術」とも言われ、生体に対する侵襲が非常に大きい。手術の安全性と長期成績において世界をリードしている日本においても合併症発生率は 41.5%、在院死亡率は 3.4%である。2018 年 4 月時点で全国に 261 人しかいない「食道外科専門医」の一人である研究代表者は、食道癌を治せたとしても術後の約 10%の体重減少、食物の逆流、誤嚥性肺炎、嚥下機能低下、呼吸機能低下など QOL を著しく損ない苦しんだ症例をこれまでに多数経験してきた。また、化学放射線療法後にも胸水や心嚢液貯留などの晩期合併症に長期間苦しんだ症例も多数経験してきた。そしていずれの治療法においても再発率は高く、再発後の治療の選択肢が少ない。食道癌治療のブレイクスルーには既存の高侵襲な治療法の発展だけでなく、低侵襲で効率的な新しい治療法の開発が急務であると痛感し研究を続けてきた。

研究代表者はこれまで、食道扁平上皮癌における Toll-like receptor (TLRs) の発現と機能について研究してきた。TLRs は自然免疫と獲得免疫の発動に必須なパターン認識受容体である。ヒトでは現在まで 10 種類の TLRs が同定されており、それぞれ特定の病原体の構造の一部を認識し、NF- κ B あるいは MAPK シグナル伝達経路を介してインターフェロン、炎症性サイトカインを誘導し免疫反応を増強させることが分かっている。近年、慢性的な TLRs の刺激が慢性炎症を起こすことにより発癌および癌の進展に関与することが報告されている。これまで食道扁平上皮癌と TLRs 発現に関する研究は少なく、喫煙歴、飲酒歴、熱い飲食物の常用、逆流性食道炎などの慢性炎症が強く関与していると考えられる食道扁平上皮癌では TLRs が発癌、進展に重要な役割を果たしていることが十分予想された。さらに、口腔環境不良、慢性歯周病は食道扁平上皮癌を含む上気道および上部消化管癌の危険因子であることが複数の論文で報告されている。研究代表者はこれまで治療を行った食道扁平上皮癌患者の 7 割が歯周病を患っており、3 割が抜歯を必要とする重度歯周病であることを報告した。このことから、歯周病からの慢性的な病原体由来の構造の暴露により食道扁平上皮細胞の TLRs シグナルが活性化され発癌と癌の進展に関

係している可能性が高いと考えている。

13種類の食道扁平上皮癌細胞株がTLR3を末梢白血球の30-60倍も発現していた。このTLR3を刺激することにより約1000倍にも及ぶ強力なCXCL10産生と食道扁平上皮癌細胞の強力なアポトーシスを引き起こすことを明らかにした。また、当科で手術を行なった177例の組織マイクロアレイの免疫染色から、TLR3、CXCL10両方を高発現している症例が最も予後良好であることが分かった。この結果から、TLR3-CXCL10カスケードが強く働いている症例は術後の再発が少なく5年生存率も有意に良好であることが明らかになった。これらのデータから食道扁平上皮癌におけるTLR3-CXCL10カスケードは治療標的として有効である可能性が高いと考えられる。

2. 研究の目的

- ・ TLR3 アゴニストの食道扁平上皮癌に対する抗腫瘍効果を検証する。
- ・ TLR3 アゴニストによる癌微小環境での免疫細胞への影響を解明する。

3. 研究の方法

TLR3 刺激が癌抑制的に働くメカニズムとしては図5のとおり3つの作用が考えらる。これまでの我々の *in vitro* 研究では の癌細胞にアポトーシスを起こす直接的な作用と の間接的な作用のうち非常に強力なCXCL10産生を明らかにしているが、それによる癌微小環境での免疫細胞への影響は不明である。TLR3-CXCL10カスケードが食道扁平上皮癌に抑制的に働くメカニズムを明らかにする。

4. 研究成果

polyI:C よりもより TLR3 に特異的で副作用が少ないと考えられる ARNAX を使用したが食道扁平上皮癌細胞株の細胞増殖能への影響は一定ではなかった。しかし polyI:C および TLR3 により食道扁平上皮癌細胞株から産生される CXCL10 mRNA は増加しており、免疫細胞がいる生体内ではケモカインである CXCL10 産生により免疫細胞が集まり抗腫瘍免疫を起こす可能性があり腫瘍縮小効果が期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐藤雄亮
2. 発表標題 食道扁平上皮癌におけるTLR3の予後マーカー としての有用性と腫瘍免疫における役割
3. 学会等名 日本外科学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	脇田 晃行 (Wakita Akiyuki) (40610803)	秋田大学・医学部附属病院・助教 (11401)	
研究分担者	本山 悟 (Motoyama Satoru) (60292372)	秋田大学・医学系研究科・教授 (11401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------