

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09008

研究課題名（和文）高齢者の担癌状態におけるインターロイキン15による免疫賦活機序の解明

研究課題名（英文）Mechanism elucidation of immunostimulatory action by interleukin-15 in the elderly with cancer-bearing condition

研究代表者

鈴木 知志（Suzuki, Satoshi）

神戸大学・医学研究科・医学研究員

研究者番号：30457080

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）：T細胞の老化に関しては、マウス腹膜播種モデルに関して報告を行った。腹膜播種モデルにおいては、T細胞の老化に伴うPD-1やCTLA-4の上昇が確認された。老化自体は病態の進行に關与する可能性があり、播種病態に關与する骨髄由来免疫抑制性細胞（MDSC）が増加しており、炎症性の骨髄のシフトが増悪に關与している可能性が示唆された。

高齢マウスに關連する研究は、高齢マウスを獲得するに至り、IL-15投与による免疫の賦活化と腫瘍増殖の改善に關連するデータを獲得している。IL-15投与により、免疫賦活のメカニズムについて検討を行っている段階である。引き続き、研究を継続し、免疫老化のメカニズムを明らかにしたい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢者の免疫機能に焦点をあてた解析研究は、近々遭遇する超高齢化社会における最重要課題である。担癌高齢者の免疫機能解析をもとに新たな治療法を模索した基礎研究は少なく、腫瘍研究の多くは腫瘍への直接的な抑制効果に重点を置くが、本研究では免疫老化に対する免疫賦活機序に焦点を当て、脆弱な高齢癌患者にも導入・継続が可能な治療法を探索することが大きな特徴であり、社会的意義が高いものである。

研究成果の概要（英文）：Regarding T cell senescence, we reported on a mouse peritoneal seeding model. PD-1 and CTLA-4 were elevated with T cell senescence in the peritoneal seeding model. Senescence may be involved in disease progression, and increased bone marrow-derived immunosuppressive cells are involved in the disseminated pathology, suggesting that inflammatory bone marrow shift may be involved in the exacerbation. Studies related to aged mice have led to the acquisition of aged mice, and data related to immune activation and amelioration of tumor growth by IL-15 administration have been obtained; we are in the process of investigating the mechanism of immune activation by IL-15 administration; we are also in the process of investigating the mechanism of tumor growth by IL-15 administration. We want to continue our research and clarify the mechanism of immune senescence.

研究分野：消化器外科学

キーワード：高齢者 胃癌・大腸癌 IL-15 サルコペニア 免疫賦活 T細胞

1. 研究開始当初の背景

老化や担癌状態では免疫機能が抑制されるため、加齢に伴い免疫機能は獲得免疫応答の低下や過剰な炎症反応傾向などの特徴的な変化を示し、「免疫老化」と呼ばれる。免疫老化は免疫細胞（特に T リンパ球）の全体的な機能低下によるものと考えられているが、その機序は不明である。申請者らは高齢者の胃癌治療後の長期予後が術後肺炎の併発症例では不良であり、術前の低栄養状態は癌特異的生存率が有意に不良となり、高齢者の担癌状態における免疫抑制状態は予後不良であることを示してきた。一方、感染症では敗血症の急性反応後の亜急性期には免疫抑制状態に陥るが、高齢者ではその傾向が顕著である。申請者らは高齢者では約 3 週間にわたりリンパ球減少症が遷延し、T 細胞が活性化されにくいことを発見した。これらより、高齢者での免疫能低下はリンパ球の減少や機能低下が深く関与していると推測され、リンパ球機能の賦活は悪性腫瘍や感染症などの予後の改善につながることを期待される。これまでに、IL-15 は高齢者由来 T 細胞を再活性化し、敗血症マウスの予後を改善することを報告している。IL-15 は自然免疫反応に重要な NK 細胞、NKT 細胞、T 細胞の分化・増殖・活性化に不可欠なサイトカインであり、獲得免疫反応の中心をなすメモリー T 細胞の生存にも重要である。さらに、樹状細胞やマクロファージの機能的成熟も促す重要な機能を果たす。申請者らは IL-15 が免疫細胞のアポトーシスを抑制する点に着目し、敗血症マウスモデルを用いて IL-15 投与の感染症に対する免疫能賦活化と延命効果について下記を証明した。若年マウス敗血症モデルで IL-15 の投与がリンパ球や NK 細胞のアポトーシスを抑制し、その生存率を有意に改善する。IL-15 は高齢者由来 T 細胞を濃度依存的に再活性化する。生後 2 歳の高齢マウス腹膜炎性敗血症モデル (CLP) で IL-15 の投与により、生存率を 17% から 70% に有意に改善した。一方で、IL-15 は抗腫瘍免疫応答においても、重要な働きを果していると考えられている。さらに、IL-15 は加齢により減少することが示唆されており、IL-15 は骨格筋に高発現を示し、加齢に伴う血漿濃度の低下あるいは IL-15 受容体の減少による作用低下を示し、最近ではサルコペニアとの関連も示唆されている。これらの研究結果より、高齢者における IL-15 による免疫応答賦活の機序を解明することは、高齢癌患者に対する新たな免疫療法の開発につながると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、IL-15 の免疫老化に伴う T リンパ球賦活作用の機序を明らかにして脆弱な高齢癌患者の免疫能賦活を試み、新たな治療法を模索することである。高齢者を対象とした免疫機能を解析した研究は非常に少なく、抗腫瘍免疫応答を解析した研究もほとんどない。本研究では高齢者の免疫老化に焦点をあて、IL-15 の免疫賦活効果に着目した抗腫瘍効果を検証する。

3. 研究の方法

本研究では 1) IL-15 による T 細胞を主体とした免疫老化に対する賦活機序を明らかにし、2) 高齢者の低下した免疫能再賦活による抗腫瘍免疫応答の増強を検証する。IL-15 の高齢者の免疫細胞への活性化効果を確認し、担癌状態での免疫賦活作用を検証する。

ヒト末梢血由来の免疫細胞の IL-15 による活性化の検証を行う。IL-15 添加による T 細胞と NK 細胞への増殖能、活性化、評価 健康人の末梢血より T 細胞、NK 細胞を単離してリンパ球増殖因子 (抗 CD3 抗体、抗 CD28 抗体) 共刺激下で培養する。組換えヒト蛋白 IL-15 の添加による T 細胞や NK 細胞の増殖能の変化を解析し、フローサイトメトリーを用いて活性化細胞の定量を行うとともに T 細胞についてはサブセット (CD4+T 細胞、CD8+T 細胞) の活性化についても解析する。高齢者 (75 歳以上) と非高齢者を比較して高齢者での免疫細胞の活性化を確認する。IL-15 と免疫チェックポイント阻害剤、T 細胞活性化因子の併用効果の解析 免疫チェックポイント阻害剤を含めたこれらの因子の IL-15 との併用効果について細胞増殖能、活性化や IFN- γ 産生能を比較検討する。IL-15 の樹状細胞の成熟促進効果の解析 末梢血から分離した単球細胞を培養して未成熟樹状細胞へ分化させ、成熟させる過程で IL-15 を添加することによる樹状細胞に対する成熟促進効果を成熟樹状細胞マーカーの CD83 の発現についてフローサイトメトリーを用いて解析する。

高齢マウスにおける IL-15 の免疫応答へ効果を同定する。脾臓は全身性の免疫細胞群が集積する場所であり、この細胞の免疫応答性は生体における全身免疫系の応答を比較的反映していると考えられる。IL-15 添加によるサイトカイン産生能の解析 マウスから脾臓を摘出して脾臓細胞に IL-15 を添加して *in vitro* で培養する。24 時間後に上清を回収して IFN- γ 濃度の変動について解析する。高齢 (生後 2 歳) マウスと若年 (生後 6 週) マウスについて比較する。

IL-15 と免疫チェックポイント阻害剤、T 細胞活性化因子の併用による老化免疫細胞の賦活効果の比較 に脾臓細胞に組換え蛋白 IL-2、IL-7、抗 PD-1 抗体、抗 CTLA-4 抗体をそれぞれ添加し、IFN- γ 産生能を IL-15 単独添加と比較して併用による作用増強効果の有無を解析する。次に、マウス担癌モデルにおける IL-15 の免疫応答への効果を検証する。マウス担癌モデルの IL-15 投与による免疫機能活の解析 高齢マウスと若年マウスにヒト胃癌細胞株を接種後、IL-15 または PBS を連日皮下注射し、7 日後に腫瘍組織・脾臓・胸腺・リンパ節を摘出し、フロー

サイトメトリーおよび免疫組織染色で T 細胞サブセット (CD4+T 細胞、CD8+T 細胞)、NK 細胞、成熟樹状細胞の発現および活性化の割合を比較解析する。IL-15 ノックアウト (KO) マウスを用いた解析も行う。免疫チェックポイント阻害剤、T 細胞活性化因子との相乗効果の解析 に抗 PD-1 抗体、抗 CTLA-4 抗体、組換え蛋白 IL-2、IL-7 を併用投与して、その増強効果の有無について、比較解析する。

4. 研究成果

注目すべき高齢者に対する臨床研究データを得ている。局所進行食道胃接合部癌に対する術前化学療法の有用性に関する報告を行った。ここでは高齢者に関する術前療法が問題となるが、一律に行わないわけではなく、患者個人の脆弱性によるところが多く、状態が許せば積極的な治療が有効であることをしめした。また、ステージ Ⅱ 症例に対する化学療法反応性でコンバージョン手術を受ける患者は軒並み予後が良好であることを示した。また、骨格筋量の低下する胃癌患者における手術治療成績が軒並み不良であることを報告した。

T 細胞の老化に関しては、まず、マウス腹膜播種モデルに関して報告を行った。腹膜播種モデルにおいては、T 細胞の老化に伴う PD-1 や CTLA-4 の上昇が確認された。老化自体は病態の進行に関与する可能性があり、播種病態に関与する骨髄由来免疫抑制性細胞 (MDSC) が増加しており、炎症性の骨髄のシフトが増悪に関与している可能性が示唆された。

老齢マウスに関連する研究は、ようやく、老齢マウスを獲得するに至り、研究を推進しているが、IL-15 投与による免疫の賦活化と腫瘍増殖の改善に関連するデータを獲得している。詳細は現在進行中であり、今後の成果が待たれる

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Suzuki Satoshi, The Registration Committee of the Japanese Gastric Cancer Association	4. 巻 24
2. 論文標題 Surgically treated gastric cancer in Japan: 2011 annual report of the national clinical database gastric cancer registry	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gastric Cancer	6. 最初と最後の頁 545 ~ 566
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10120-021-01178-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 SUZUKI SATOSHI, KANAJI SHINGO, URAKAWA NAOKI, TAKIGUCHI GOSUKE, HASEGAWA HIROSHI, MATSUDA YOSHIKO, YAMASHITA KIMIHIRO, MATSUDA TAKERU, OSHIKIRI TARO, NAKAMURA TETSU, KAKEJI YOSHIHIRO	4. 巻 1
2. 論文標題 Survival Benefit of Neoadjuvant Chemotherapy for Locally Advanced Adenocarcinoma of Esophagogastric Junction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Diagnosis & Prognosis	6. 最初と最後の頁 185 ~ 191
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/cdp.10025	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 AGAWA KYOSUKE, YAMASHITA KIMIHIRO, NAKAGAWA AKIO, YAMADA KOUTA, WATANABE AKIHIRO, MUKOHYAMA JUNKO, SAITO MASAFUMI, FUJITA MITSUGU, TAKIGUCHI GOSUKE, URAKAWA NAOKI, HASEGAWA HIROSHI, KANAJI SHINGO, MATSUDA TAKERU, OSHIKIRI TARO, NAKAMURA TETSU, SUZUKI SATOSHI, KAKEJI YOSHIHIRO	4. 巻 41
2. 論文標題 Simple Cancer Stem Cell Markers Predict Neoadjuvant Chemotherapy Resistance of Esophageal Squamous Cell Carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 4117 ~ 4126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticanres.15214	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Suzuki Satoshi, Kanaji Shingo, Urakawa Naoki, Takiguchi Gosuke, Hasegawa Hiroshi, Yamashita Kimihiro, Matsuda Takeru, Oshikiri Taro, Nakamura Tetsu, Kakeji Yoshihiro	4. 巻 5
2. 論文標題 Impact of chronic kidney disease stage on morbidity after gastrectomy for gastric cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of Gastroenterological Surgery	6. 最初と最後の頁 519 ~ 527
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ags3.12441	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sugita Yutaka, Yamashita Kimihiro, Fujita Mitsugu, Saito Masafumi, Yamada Kota, Agawa Kyosuke, Watanabe Akihiro, Fukuoka Eiji, Hasegawa Hiroshi, Kanaji Shingo, Oshikiri Taro, Matsuda Takeru, Nakamura Tetsu, Suzuki Satoshi, Kakeji Yoshihiro	4. 巻 45
2. 論文標題 CD244⁺ polymorphonuclear myeloid?derived suppressor cells reflect the status of peritoneal dissemination in a colon cancer mouse model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oncology Reports	6. 最初と最後の頁 106
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/or.2021.8057	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 SUZUKI SATOSHI, URAKAWA NAOKI, HASEGAWA HIROSHI, KANAJI SHINGO, YAMASHITA KIMIHIRO, MATSUDA TAKERU, OSHIKIRI TARO, KAKEJI YOSHIHIRO	4. 巻 42
2. 論文標題 Prognostic Predictors After Surgical Intervention for Stage IV Gastric Cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 1541 ~ 1546
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancer.15627	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 杉田 裕、中村 哲、押切 太郎、掛地 吉弘
2. 発表標題 高齢食道癌患者に対する胸腔鏡下手術の意義と適応
3. 学会等名 日本消化器病学会近畿支部第112回例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松田 佳子、杉田 裕、瀧口 豪介、裏川 直樹、長谷川 寛、山本 将士、金治 新悟、山下 公大、松田 武、押切 太郎、中村 哲、鈴木 知志、掛地 吉弘
2. 発表標題 高齢者局所進行胃癌に対する術前化学療法の有効性と安全性
3. 学会等名 第92回日本胃癌学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 知志、金治 新悟、掛地 吉弘
2. 発表標題 高齢者の胃癌手術における腎機能障害度の合併症発生に及ぼす影響
3. 学会等名 JDDW2020 (第28回日本消化器関連学会週間)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田 康太、鈴木 知志、瀧口 豪介、裏川 直樹、長谷川 寛、山本 将士、金治 新悟、松田 佳子、山下 公大、松田 武、押切 太郎、中村 哲、掛地 吉弘
2. 発表標題 高齢者胃癌切除後の肺炎併発による長期予後への影響の検討
3. 学会等名 第33回日本外科感染症学会総会学術集会
4. 発表年 2020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	掛地 吉弘 (Kakeji Yoshihiro) (80284488)	神戸大学・医学研究科・教授 (14501)	
研究分担者	山下 公大 (Yamashita Kimhiro) (80535427)	神戸大学・医学部附属病院・特命准教授 (14501)	
研究分担者	井上 茂亮 (Inoue Shigeaki) (30582209)	神戸大学・医学研究科・特命教授 (14501)	

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
---------	---------