

令和 4 年 5 月 12 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17695

研究課題名（和文）食道癌における腫瘍随伴マクロファージに着目した免疫放射線療法の新規作用機序の解明

研究課題名（英文）The effect of radiation of tumor-associated macrophage in esophageal squamous cell carcinoma

研究代表者

中嶋 正太郎（Nakajima, Shotaro）

福島県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：50723417

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）：本研究では、食道扁平上皮癌（ESCC）において放射線照射が腫瘍随伴マクロファージ（TAM）のM2分極を促進する可能性を見出した。術前補助化学放射線療法前後のESCC組織におけるTAMマーカーCD163の陽性細胞数を解析したところ、治療によりCD163陽性細胞数が増加することが明らかとなった。また、ヒト末梢血単球から樹立したTAM様細胞に放射線照射を行うと、CD163および免疫チェックポイント関連分子（PD-L1、PD-L2）の発現レベルの増加が見られた。さらに、TAMだけでなくESCC細胞に放射線照射を行うとTAMのM2分極に関与するIL-34の産生誘導が見られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

放射線治療は、ESCC治療の重要な柱の1つであり、近年では免疫チェックポイント阻害剤との併用療法が治療効果を促進する可能性が示唆されている。TAMは、腫瘍組織に浸潤する主要な免疫抑制性細胞であるが、放射線照射がTAMに及ぼす影響はあまり明らかにされていない。本研究の成果により、ESCCにおいて放射線照射がTAMのM2分極を促進することが明らかとなったことから、TAMのM2分極を抑制することが放射線療法や免疫放射線療法の治療効果を促進する新たな治療戦略に繋がる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In this study, we revealed that radiation therapy induced M2-polarization of tumor-associated macrophages (TAMs) in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC). The number of CD163+ M2-TAMs was increased by radiation therapy in ESCC tissues. Radiation also increased the expression of CD163, PD-L1 and PD-L2 in human peripheral blood mononuclear cell-derived M2-macrophages (called TAM-like cells). Moreover, we found that radiation triggered the expression of IL-34 in ESCC cells, which further enhanced M2-polarization of TAMs.

研究分野：腫瘍免疫学

キーワード：食道扁平上皮癌 放射線照射 腫瘍随伴マクロファージ M2分極

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

放射線療法と免疫チェックポイント阻害剤の併用療法(免疫放射線療法)は、近年その有効性を示唆する臨床研究が複数報告されており、放射線照射治療単独と比較し、腫瘍局所での効果および遠隔転移予防効果の向上が期待される。放射線照射は癌抗原特異的な T 細胞の誘導を介して抗腫瘍免疫応答の活性化に寄与することが知られており、免疫チェックポイント阻害剤による相乗効果に寄与するものと推測される。しかし放射線照射が腫瘍局所における抗腫瘍免疫抑制細胞、特に腫瘍随伴マクロファージ(tumor-associated macrophage: TAM)に与える影響は不明な点が多く、放射線療法と免疫チェックポイント阻害剤を併用した際、患者の癌微小環境における TAM に対する影響はほとんど明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究では、食道扁平上皮癌(ESCC)に着目し、放射線照射がヒト TAM のフェノタイプ、遺伝子発現、代謝等にどのような影響を与えるのかを明らかにすることで、免疫放射線療法により深い理解と治療効果を促進する新規治療戦略の開発を目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、i) ESCC 患者の生検標本および手術摘出標本を用いた解析、ii) ヒト末梢血単球より誘導した M2 マクロファージ(TAM 様細胞)を用いた解析、iii) ヒト ESCC 細胞株を用いた解析等により放射線照射が ESCC の TAM や腫瘍微小環境に及ぼす影響を検討した。

4. 研究成果

放射線照射が腫瘍微小環境に存在する TAM に及ぼす影響を明らかにするため、放射線治療前後の ESCC 切片を用いて TAM のマーカーである CD163 の免疫組織化学(IHC)染色を行い、放射線照射が TAM に及ぼす影響について検討を行った。放射線療法単独での治療後の検体を採取することが困難であることから、本研究では術前化学放射線療法前後(生検標本と手術摘出標本)の ESCC 検体を用いて解析を行った。放射線照射により ESCC 組織の CD163 陽性細胞数(TAM)が増加することが明らかとなった。また、こうした変化は放射線治療を受けていない手術のみの ESCC 患者の腫瘍組織検体では見られなかった(図 1)。

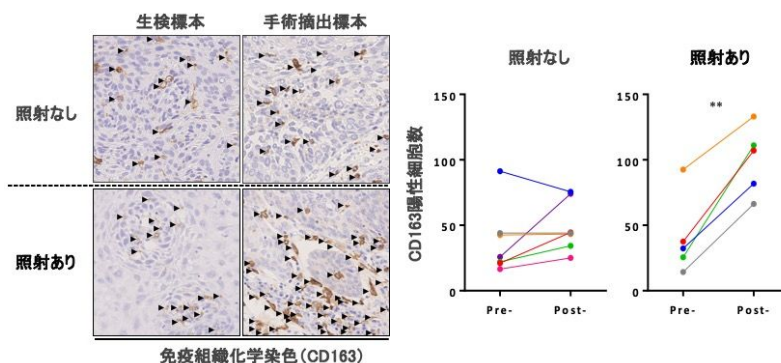


図1 術前補助化学放射線療法前後のESCCのIHC染色(CD163抗体:矢印)(左)と放射線照射によるCD163陽性細胞数の変化(Pre-, 照射前; Post-, 照射後)(右)

ヒト末梢血単核球から MACS ビーズを用いて CD14⁺単球を採取し、M-CSF の存在下で 6 日間培養後、IL-4、IL-6、IL-13 を添加し、3 日間培養することで M2 マクロファージ(TAM 様細胞)を樹立した。TAM 様細胞の形質は、細胞表面マーカー CD163 の発現により確認した(図 2、左)。樹立した TAM 様細胞に放射線照射を行い、細胞表面の CD163、PD-L1、PD-L2 の発現変化をフローサイトメトリーにより解析した。放射線照射により TAM 様細胞の CD163、PD-L1、PD-L2 の発現レベルが有意に増加することが明らかとなった(図 2、右)。

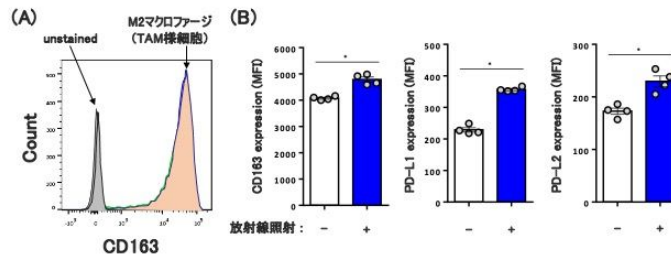


図2 末梢血単球から樹立したTAM様細胞におけるCD163の発現(A)と TAM様細胞への放射線照射による各種細胞表現分子の発現変化(B)

また放射線照射が TAM の M2 分極 (CD163 の発現増加) を促進する可能性に関し、TAM への直接的な影響だけでなく、腫瘍細胞に対する影響にも着目した。TAM の M2 分極は、コロニー刺激因子 (CSF-1) やインターロイキン 34 (IL-34) により誘導されることが知られている。そこで ESCC 細胞株に対し放射線照射を行い、CSF-1 および IL-34 の発現が誘導されるか否か検討を行った。ESCC 細胞株への放射線照射により CSF-1 の発現はほとんど誘導されなかったものの、IL-34 の発現が顕著に誘導されることが明らかとなった (図 3)。

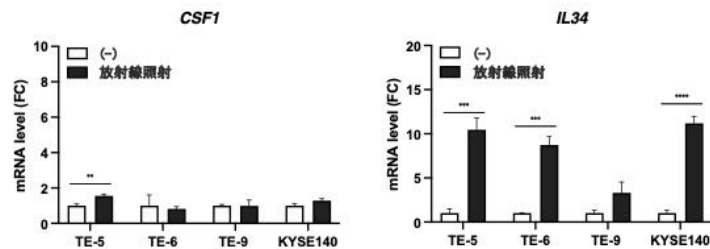


図3 ESCC細胞株における放射線照射時のCSF-1とIL-34のmRNA発現変化

本研究成果より、ESCC への放射線照射により TAM の M2 分極が促進すること、また TAM における PD-L1 などの免疫チェックポイント関連分子の発現が増加すること、さらに TAM の M2 分極には TAM への直接的な影響だけでなく、照射を受けた ESCC 細胞から産生される IL-34 も関与している可能性が明らかとなった。今後は照射線治療後の IL-34 の腫瘍組織での発現なども解析することで、TAM の M2 分極を標的とした免疫照射線療法の新たな治療戦略の開発に繋げていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1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 Nakajima Shotaro et al	4. 巻 19
2. 論文標題 Neoadjuvant Chemotherapy Induces IL34 Signaling and Promotes Chemoresistance via Tumor-Associated Macrophage Polarization in Esophageal Squamous Cell Carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Cancer Research	6. 最初と最後の頁 1085 ~ 1095
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1158/1541-7786.MCR-20-0917	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 Min Aung Kyi Thar, Mimura Kosaku, Nakajima Shotaro et al	4. 巻 70
2. 論文標題 Therapeutic potential of anti-VEGF receptor 2 therapy targeting for M2-tumor-associated macrophages in colorectal cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Immunology, Immunotherapy	6. 最初と最後の頁 289 ~ 298
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00262-020-02676-8	査読の有無 無
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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中嶋正太郎, 三村耕作, 松本拓朗, 伊藤美郷, 金田晃尚, 佐瀬善一郎, 坂本渉, 河野浩二
2. 発表標題 術前補助化学療法が食道扁平上皮癌微小環境に及ぼす影響
3. 学会等名 第34回日本バイオセラピー学会学術集会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中嶋正太郎, 河野浩二
2. 発表標題 食道扁平上皮癌の術前補助化学療法が誘導するIL-34がクロファージのM2分極と薬剤感受性低下を促進する
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021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
--	---------------------------	-----------------------	----

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