

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592035

研究課題名(和文) 膵癌患者における骨髄由来抑制性細胞の影響と治療を介した免疫環境変動に関する検討

研究課題名(英文) Immunological effect of myeloid-derived suppressor cells in pancreatic cancer patients and its alteration after treatment

研究代表者

見城 明 (Kenjo, Akira)

福島県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40305355

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌患者血中のMDSCsに着目し、担癌患者の免疫学的環境と治療による変化を検討した。膵癌患者では健常人と比較して有意にMDSCsが多く、膵胆道癌・肝癌患者も同様の結果であり、胆道癌患者の末梢血中MDSCsを手術前後で比較検討し、術後MDSCsの減少を認めた。サイトカインの一種である血清中s-IL2Rを測定したところ、膵胆道癌・肝癌患者において健常人と比較して有意に増加していることが明らかとなり、リンパ球幼弱試験や血清中IFN- γ の値は逆相関を示した。sIL-2Rの多寡はCRPと正の相関を示し、栄養指標であるトランスフェリン値と負の相関をしめした。MDSCsの炎症と栄養への関与が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We evaluated the immune environment of pancreatic cancer patients focusing on myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) and analyzed its changes after treatment. Not only pancreatic cancer patients but also hepatobiliary cancer patients had significantly large number of MDSCs compared to healthy volunteers. In biliary cancer patients, the number of MDSCs has been reduced after resection. Focusing on chronic inflammatory conditions, we evaluated serum soluble IL-2 receptor (sIL-2R) levels in tumor-bearing patients. In hepatobiliary and pancreatic cancer patients, sIL-2R levels were significantly higher than health volunteers. In addition, sIL-2 levels were significantly correlated with serum CRP levels and significantly inversely correlated with immune response indicators (PHA-blastogenesis and IFN- γ induction) and patient nutritional status (transferrin). MDSCs was suggested to be associated with systemic inflammatory conditions and nutritional status of the cancer bearing patients.

研究分野：医学

キーワード：免疫療法 担癌状態 MDSC

1. 研究開始当初の背景

膵癌切除症例の5年生存率が20%前後(膵癌全国調査)と不良である原因は、切除後再発であり、補助療法の開発が切望されている。当教室では、樹状細胞(dendritic cell: DC)に注目し、術前DC腫瘍内局注と外科手術を組み合わせる臨床試験を実施し、9例中2例に5年生存を認めたと、同時期の非DC局注群と比較して生存期間に有意差を認めなかった。組織学的検討より、DC局注群のリンパ節内の成熟DCとFOXP3+ Tregがともに非DC局注群と比較して増加したことから、抗腫瘍免疫反応は誘導されたものの、抑制性免疫機構の関与により十分な再発予防効果を得られなかったものと考えた。

切除不能進行・再発膵癌を対象として、癌ペプチドワクチンとgemcitabineを併用した臨床試験を実施した。ペプチド特異的CTLの誘導は6割を超える症例に観察されたが、CTL誘導の有無は抗腫瘍効果を反映するものではなかった。

免疫療法の成績を向上するためには、胆管患者の免疫状態、特に免疫抑制に働く因子に対する解析が重要である。癌の進行・患者予後との関連性が指摘されている腫瘍内に存在するMDSCsおよびTregに着目した。

2. 研究の目的

膵癌患者を対象として、治療(外科的あるいは化学療法)前後でのMDSCsとTregの変動を解析し、担癌患者の免疫学的環境を把握するとともに、免疫反応誘導に有利な環境を明らかにし、ひいては、膵癌に対する免疫療法の効果予測が可能にすること、免疫抑制環境を改善する方策を探ることである。

3. 研究の方法

MDSCsの測定

膵癌のみならず、肝胆道悪性疾患患者

より採取した末梢血単核球分画のうち、CD11b⁺、CD14⁻、CD33⁺の細胞をMDSCとして、健常人との比較検討をおこなった。癌治療介入前後でのMDSCsの変化についても検討を行う。

担癌患者血清中のサイトカイン測定

担癌患者の末梢血血清サンプルよりサイトカイン等を測定し、担癌状態の免疫抑環境について、血清因子において比較検討を行った。

4. 研究成果

MDSCsの測定

末梢血単核球分画からFACSを行い、CD11b⁺、CD14⁻、CD33⁺の細胞を採取し、MDSCsとして検討をおこなった(図1)。

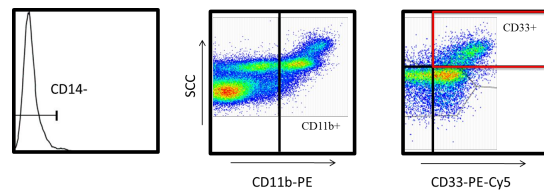


図1 MDSCsの測定法

膵癌症例でのMDSCsの測定

健常人ボランティアの血中MDSCsをコントロールとして、膵癌患者末梢血中のMDSCsを比較検討した。膵癌患者ではコントロールと比較して有意にMDSCsが多く存在していた。肝臓癌患者、胆管癌患者においても同様にMDSCsが多い状態であることが明らかとなった(表1)。

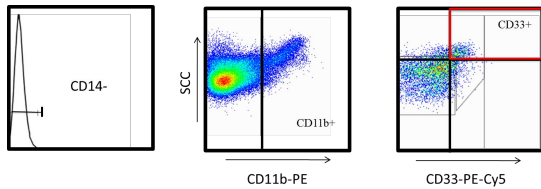
	MDSCs (%/PBMC)	標準偏差	対健常人 p-value
膵臓癌 (n=7)	2.2	0.9	P<0.01
肝臓癌 (n=4)	2.0	1.3	P<0.01
胆管癌 (n=4)	2.5	2.1	P<0.01
健常人 (n=5)	0.5	0.25	-

表1 疾患毎の末梢血中MDSCs

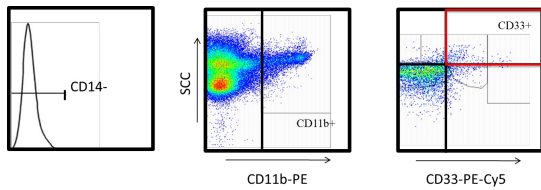
治療前後での MDSCs の変化

胆道癌患者において手術前後での末梢血中 MDSCs の比較検討を行った。図 2 に示すように、手術後において、MDSCs の減少を認めた。

a: 手術前



b: 手術後



	MDSCs (%/PBMC)
手術前	1.5
手術後	0.9

図 2 手術前後での MDSCs の変化

同様の傾向は、乳がん患者を対象とした検討でも示された。手術前、手術後、再発症例において PBMC 中の MDSCs の割合の変化を認めたため、担癌状態では、MDSCs が増加する傾向にあることが示された。

免疫環境と血清中サイトカインの関係

担癌患者において増加している MDSCs の患者の免疫環境に及ぼす影響を観察するため、肝胆膵担癌患者を対象として血清中サイトカイン・栄養状態・リンパ球幼弱試験の結果を比較検討した。

可溶性 IL-2 受容体(s-IL2R)はがん細胞により放出されるメディエーターにより刺激を受けた T 細胞より血中に放出されることから担癌宿主の異常な免疫状態を反映するものと考えられている。

肝胆膵悪性腫瘍患者を対象として血清中 s-IL2R を測定したところ、膵癌をはじめとする癌腫において健常人と比較して有意に増

加していることが明らかとなった(図 3)。

また、s-IL2R とリンパ球幼弱試験(図 4)や血清中 IFN- γ の値は逆相関を示した。

Serum levels of soluble IL-2 receptor

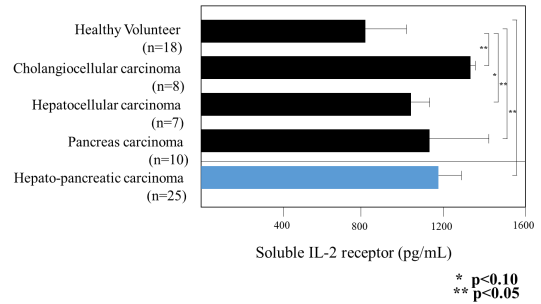


図 3 血清中可溶性 IL-2 受容体濃度

Correlation with Lymphocytes' Blastogenesis

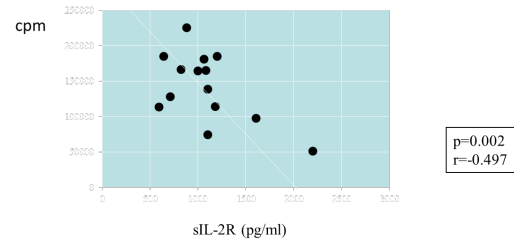


図 4 s-IL2R とリンパ球幼弱試験

さらに、sIL-2R の多寡により 2 群に分けて検討したところ、sIL-2R 高値群では CRP 高値であり、栄養評価の指標であるトランスフェリン値が低い傾向を示した(表 2)。

	Patients with low sIL-2R (≤ 1000 pg/ml)	Patients with high sIL-2R (> 1000 pg/ml)	
Serum sIL-2R	773.0 \pm 63.4	1454.5 \pm 171.3	P=0.0003
Lymphocytes' blastogenesis (cpm) Std. value (20500~56800 cpm)	164151 \pm 16429	118289 \pm 18206	P=0.08
CRP (mg/dL) Std. value (< 0.3 mg/dl)	0.05 \pm 0.016	0.48 \pm 0.19	P=0.05
Serum transferrin (mg/dL) Std. value (240~400mg/dl)	234.3 \pm 19.4	188.8 \pm 10.6	P=0.06

表 2 sIL-2R と免疫・栄養状態の関係

以上の検討から CD11b $^{+}$, CD14 $^{-}$, CD33 $^{+}$ MDSCs は、担癌状態患者の免疫環境や栄養状態に影響を与えていることは明らかとなった。

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2件)

Takashi Yazawa, Masahiko Shibata, Kenji Gonda, Takeshi Machida, Satoshi Suzuki, Akira Kenjo, Izumi Nakamura, Takao Tsuchiya, Yoshihisa Koyama, Kenichi Sakurai, Tatsuo Shimura, Ryouichi Tomita, Hitoshi Ohto, Mitsukazu Gotoh, Seiich Takenoshita. Increased IL-17 production correlates with immunosuppression involving myeloid-derived suppressor cells and nutritional impairment in patients with various gastrointestinal cancers. MOLECULAR AND CLINICAL ONCOLOGY. 査読あり、1: 675-679, 2013

Izumi Nakamura, Masahiko Shibata, Kenji Gonda, Takashi Yazawa, Tatsuo Shimura, Takayuki Anazawa, Satoshi Suzuki, Kenichi Sakurai, Yoshihisa Koyama, Hitoshi Ohto, Ryouichi Tomita, Mitsukazu Gotoh, Seiichi Takenoshita. Serum levels of vascular endothelial growth factor are increased and correlate with malnutrition, immunosuppression involving MDSCs and systemic inflammation in patients with cancer of the digestive system. ONCOLOGY LERRERS. 査読あり、5: 1628-1686, 2013

権田憲士、柴田昌彦、中村 泉、見城 明、大竹 徹、安田満彦、鈴木眞一、鈴木弘行、渡辺尚文、藤森敬也、後藤満一、竹之下誠一、癌患者における Myeloid-Derived Suppressor Cells (MDSC)の検討、癌と化学療法、査読あり、39巻、2012年、1797-1799

〔学会発表〕(計3件)

見城 明、柴田昌彦、権田憲士、穴沢貴行、土屋貴男、志村龍男、小山善久、竹之下誠一、後藤満一。肝・胆道・膵癌における血中可溶性 IL-2 受容体濃度の検討。第71回日本癌学会学術集会総会；2012 09 19；札幌。

柴田昌彦、権田憲士、町田 豪、大竹 徹、志村龍男、鈴木眞一、中村 泉、渡辺尚文、藤森敬也、大戸 斉、後藤満一、竹之下誠一。癌の進行に伴う炎症と免疫抑制における MDSC の検討。第71回日本癌学会学術集会総会；2012 09 19；札幌。
柴田昌彦、権田憲士、中村 泉、見城 明、大竹 徹、鈴木眞一、鈴木弘行、渡辺尚文、藤森敬也、後藤満一、櫻井健一、富田涼一、竹之下誠一。癌患者の骨髄由来免疫抑制細胞(MDSC)の炎症と栄養障害における検討。第50回日本癌治療学会学術集会；2012 10 27；横浜。

6. 研究組織

(1)研究代表者

見城 明 (KENJO, Akira)

福島県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40305355

(2)研究分担者

土屋 貴男 (TSUCHIYA, Takao)

福島県立医科大学・医学部・博士研究員

研究者番号：70343390

穴沢 貴行 (ANAZAWA, Takayuki)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：90566811

後藤 満一 (GOTOH, Mitsukazu)

福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：50162160