

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 23 日現在

機関番号：83802

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592725

研究課題名(和文) 抗がん効果を付加した遊離組織皮弁(免疫皮弁)による新しいがん免疫療法の開発

研究課題名(英文) Immunologically augmented skin flap as a novel dendritic cell vaccine against head and neck cancer in a rat model

研究代表者

井上 啓太(Inoue, Keita)

静岡県立静岡がんセンター(研究所)・その他部局等・その他

研究者番号：80618520

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：癌の外科治療では癌を切除した後に局所に残存した癌細胞が再増殖して再発することが問題である。これに対して血管付き自家組織(遊離皮弁)に免疫細胞を付加して、癌切除後の欠損に移植して癌再発を抑制する新しい治療法の研究をおこなった。研究はラットを用いて行った。まずラットの癌細胞を凍結して破碎し、癌特有の目印であるタンパク質(癌特異的抗原)を抽出した。同じくラットの大腿骨から樹状細胞という免疫細胞を採取して、癌特異的抗原を認識させ、癌細胞に対する免疫を獲得させた。この免疫細胞(活性化樹状細胞)をラットの鼠径部(足の付け根)に作成した皮弁に注入して、ラットに植え付けた癌を抑制することに成功した。

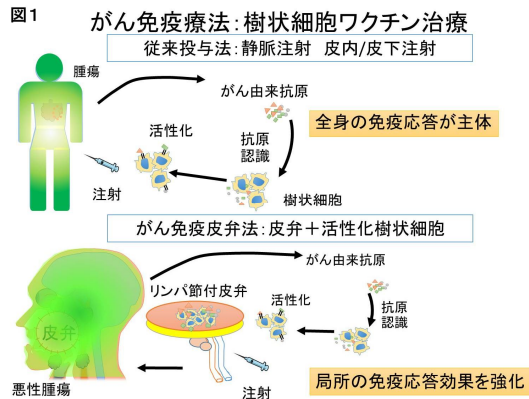
研究成果の概要(英文)：Local recurrence is a major clinical issue following surgical resection in cancer. However, the dissemination and lymph node metastasis of minimal residual disease is relatively difficult to treat due to the lack of suitable therapeutic approaches. In the present study, we developed and evaluated a novel immunotherapy using a skin flap transfer treated with sensitized dendritic cells (DCs), termed the "immuno-flap" in a rat tumor model. After the local round area of skin was resected, SCC-158 cells were inoculated into the muscle surface; lastly, the groin skin flap injected with mature DCs was over-laid. Two weeks after the second DC injection, systemic immunological reactions and tumor size were measured. The DC-treated group showed a significant reduction in tumor size compared with the control. These results suggest that novel immunotherapy based on the immuno-flap method has the potential for clinical application to prevent the local recurrence of head and neck cancer patients.

研究分野：形成外科

キーワード：形成外科 皮弁 がん免疫療法 樹状細胞 遊離皮弁 頭頸部再建 乳房再建

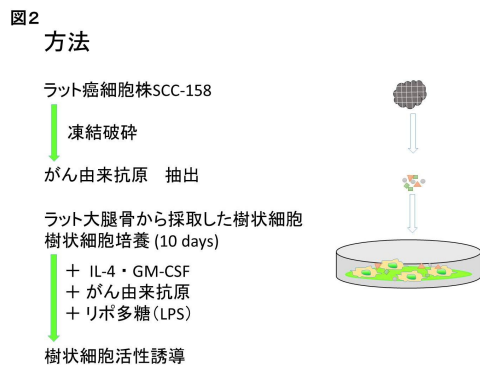
1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍の治療のひとつに樹状細胞を用いたがん免疫療法がある。これは樹状細胞によりがん抗原特異的な免疫応答を誘導し、がん細胞の増殖抑制や傷害を目的とするがんワクチン療法である。



2. 研究の目的

今回、我々は樹状細胞により抗がん効果を付加した皮弁（以下、がん免疫皮弁、図1）を悪性腫瘍浸潤部位に被覆することで局所および全身的ながん増殖抑制効果を誘導できるか検討したので報告する。

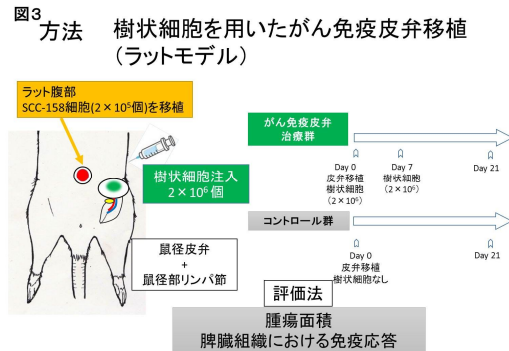


3. 研究の方法

ラット扁平上皮癌細胞株 SCC-158 を凍結破砕して得られたがん由来抗原をラット大腿骨から採取した樹状細胞に in vitro で（培養環境で）貪食（とりこみ）させ、樹状細胞の分化誘導因子である IL-4（インターロイキン）GM-CSF（顆粒球単球コロニー刺激因子）および活性化因子 LPS を用いて培養した（図2）。

次に8週齢F344ラットの腹部に皮膚欠損を作成し、同部位の肉様膜下に SCC-158細胞を移植した。所属リンパ節を含めた有茎鼠径皮弁を拳上し、樹状細胞を皮弁内に注射したがん免疫皮弁治療群（以下、治療群）と、樹状細胞を注射しないコン

トロール群を作製して、皮膚欠損部位を被覆した。治療群では day 7 に樹状細胞のブースト注射を皮弁内に行った。day 21 にコントロール群、治療群ともに皮弁と腫瘍部位を切除し、腫瘍体積を比較した（図3）。



また、全身性のがん免疫応答を評価するため脾臓を摘出し、脾臓における細胞障害性 T リンパ球 (CTL) の cytotoxicity assay、IFN- assay をおこなった。

4. 研究成果

採取し、刺激したラット樹状細胞は CD11b などの樹状細胞マーカーを発現しており、腫瘍抽出抗原を貪食させることにより、腫瘍抗原特異的な免疫応答をすることが分かった。このラット樹状細胞を用いてラット動物モデルの作成をおこなった。ラット樹状細胞を皮弁内に注入した治療群の組織学的検索においては、皮弁周囲から腫瘍内への CTL の浸潤を認め、樹状細胞を注入しないコントロール群に比べて治療群において腫瘍体積が有意に減少した（図4、5）。

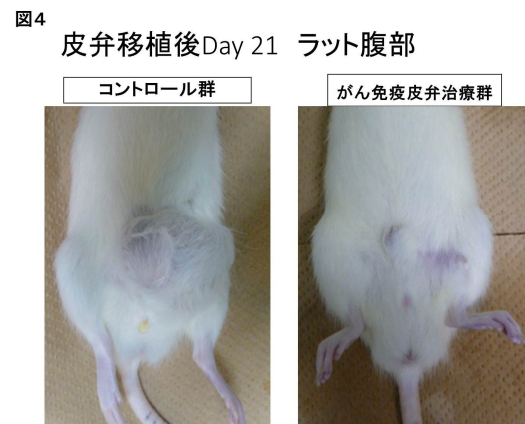
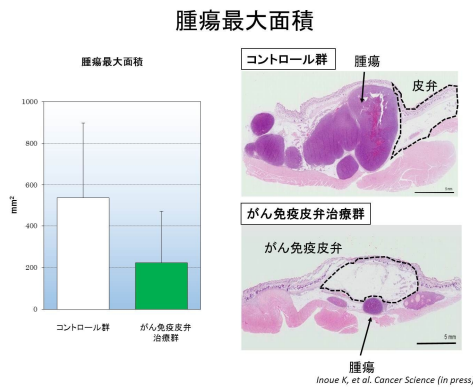


図5



また、免疫皮弁モデルにおいて脾臓を摘出し、脾細胞を分離して全身性の免疫応答を検索した。脾臓における CTL 活性の上昇、Th1 細胞の活性化に關与するサイトカインである IL-2、IFN- γ の上昇を認めた (図 6 - 8)。

図6

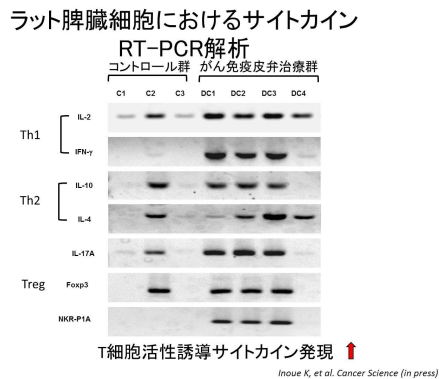


図7

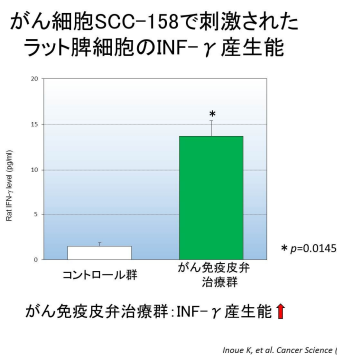
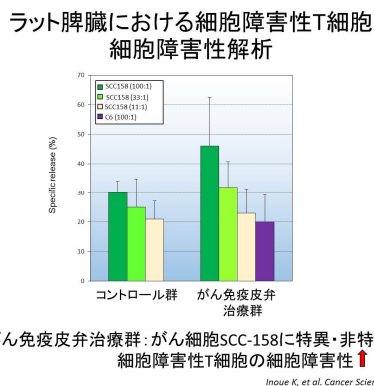


図8



上記の結果から、鼠径部皮弁を用いたラットモデルにおいては、樹状細胞ワクチンによる抗がん効果を付加したがん免疫皮弁療法は、局所的にがん免疫を誘導することで局所病変の制御が可能であり、さらに全身のがん免疫応答の賦活化が可能であることを証明した。将来的に新しいがん免疫療法として臨床応用を目指したいと考える。

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 1件)

Inoue K, Saegusa N, Omiya M, Ashizawa T, Miyata H, Komiyama M, Iizuka A, Kume A, Sugino T, Yamaguchi K, Kiyohara Y, Nakagawa M, Akiyama Y. Immunologically augmented skin flap as a novel dendritic cell vaccine against head and neck cancer in a rat model. Cancer Sci. 2015 Feb;106(2):143-50. doi:10.1111/cas.12586. 査読あり

〔学会発表〕(計 1件)

三枝紀子、井上啓太ほか がん免疫皮弁 - 樹状細胞ワクチンによる抗がん効果を付加した新しい皮弁移植術 - 第1報 ラットにおける基礎的研究 東京大学形成外科同門学術集会 2015年1月

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0件)
取得状況 (計 0件)

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

井上 啓太 (INOUE, Keita)

静岡県立静岡がんセンター・再建形成外科・医長

研究者番号: 80618520

(2)研究分担者

秋山 靖人 (AKIYAMA, Yasuto)

静岡県立静岡がんセンター・免疫治療研究部・部長

研究者番号: 70222552

中川 雅裕 (NAKAGAWA, Masahiro)
静岡県立静岡がんセンター・再建形成
外科・部長
研究者番号：00285793

清原 祥夫 (KIYOHARA, Yoshio)
静岡県立静岡がんセンター・皮膚科・
部長
研究者番号：8380299925

宇田 宏一 (UDA, Hirokazu)
自治医科大学・医学部・准教授
研究者番号：20337306

(3)連携研究者

なし