

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461955

研究課題名(和文) 消化器癌における免疫回避機構の解明とその制御に関する基礎的研究

研究課題名(英文) The Elucidation of an Immune Escape Mechanism and its control in Gastrointestinal Cancers

研究代表者

有上 貴明(Arigami, Takaaki)

鹿児島大学・医歯学域医学部・歯学部附属病院・助教

研究者番号：40527058

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、腫瘍免疫において重要な役割を担うCD3+腫瘍浸潤Tリンパ球(CD3+ TILs)と宿主側の全身性炎症反応の指標となるNeutrophil-Lymphocyte Ratio (NLR)および血液凝固因子のfibrinogenに着目した。胃癌組織におけるCD3+ TILsの発現は、胃腺腫に比較し、低値であった。さらに進行度とも逆相関を示し、低発現群の予後は高発現群と比較して有意に予後不良であった。これらの結果より癌細胞は、全身性の炎症反応を誘発し、宿主の免疫機能を抑制させ、これらの監視機構を回避することで浸潤や転移をもたらす可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We focused on CD3+ tumor-infiltrating lymphocytes (CD3+ TILs), neutrophil-lymphocyte ratio (NLR), and fibrinogen in this study. The numbers of CD3+ TILs in patients with gastric cancer were lower than those in gastric adenoma. Moreover, CD3+ TILs was inversely correlated with tumor progression and prognosis in patients with gastric cancer. On the other hand, the values of NLR and fibrinogen were significantly correlated with advanced disease. Patients with high NLR and fibrinogen status had poorer prognosis than those with low status. Consequently, our findings suggest that the systemic inflammatory response induced by tumor cells suppress host immune response and its escape mechanism from host immune surveillance produces tumor invasion and metastases.

研究分野：医歯薬学

キーワード：癌免疫機構 好中球リンパ球比 Fibrinogen 全身性炎症反応 胃癌

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 癌細胞は宿主の免疫監視機構を巧みに回避し、自らの増殖や進展あるいは転移に有利な環境を形成している。この免疫回避機構に関連して免疫補助刺激分子が重要な役割を担っていることが知られており、これらの分子の発現が消化器癌の腫瘍細胞においても認められ、その発現の臨床的意義についても報告されている。しかしながら、腫瘍細胞に発現した免疫補助刺激分子が生体内の T 細胞性免疫応答をどのように調節しているのかは未だ不明な点が多い。

(2) 癌細胞は、全身性の炎症反応を惹起し、免疫応答のバランス不均衡をもたらしていると考えられている。この現象は、癌細胞の免疫回避機構の要因の一つでもあり、近年の研究で全身性炎症反応の指標とされる Neutrophil-Lymphocyte Ratio (NLR) が注目されている。さらに血液凝固因子の Fibrinogen も全身性の炎症反応と関連し、癌細胞の浸潤や転移の過程において重要な役割を担っていることが知られており、ある種の悪性疾患においては、予後マーカーとしての有用性も報告されている。

(3) 現在、遠隔転移を伴う根治切除不能進行あるいは再発消化器癌患者の予後は、化学療法の進歩により改善してきたとは言え、臨床的には未だ十分とは言えないのが現状である。一方で近年、免疫チェックポイント分子阻害剤を用いた免疫療法が注目されており、悪性黒色腫や非小細胞肺癌においては、本邦でも日常臨床で導入され、良好な成績が報告されている。しかしながら、消化器癌領域におけるこれらの免疫治療に関する基礎的あるいは臨床的な報告は少なく、今後新たな免疫治療法の開発が望まれる。

## 2. 研究の目的

(1) 胃癌における T 細胞性免疫応答の変化を解析する目的で胃癌臨床検体を用いて CD3+ tumor-infiltrating lymphocytes (CD3+ TILs) を評価し、宿主の免疫機構に対する臨床的意義を検討した。

(2) 胃癌および食道癌における血清 Fibrinogen 値と NLR を評価し、これらの臨床的意義について検討し、全身性炎症反応に起因した免疫回避機構のメカニズムを解析した。

## 3. 研究の方法

(1) 外科切除を行った 120 例の胃癌症例と内視鏡治療を施行した 27 例の胃腺腫症例を対象とし、切除標本での CD3+ TILs の個

数を免疫染色にて評価した。CD3 の免疫染色では、anti-human CD3 antibody (DAKO 社製) を 100 倍希釈で使用した。CD3 発現リンパ球数の評価は、顕微鏡 200 倍率の 5 視野でカウントを行い、その平均数を算出した。

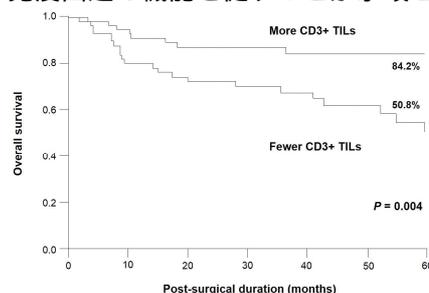
(2) 当科にて手術を施行した切除胃癌 275 例を対象とし、術前 1 週間以内の血液検体を使用して血清 Fibrinogen 値と NLR を評価した。

(3) 当科にて手術を施行した切除食道扁平上皮癌 238 例を対象とし、術前 1 週間以内の血液検体を使用して血清 Fibrinogen 値と NLR を評価した。

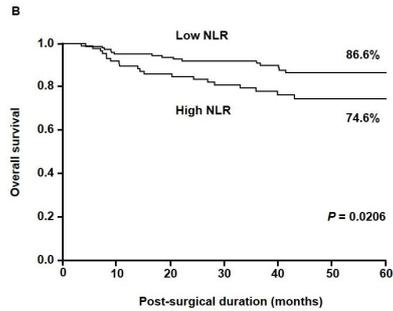
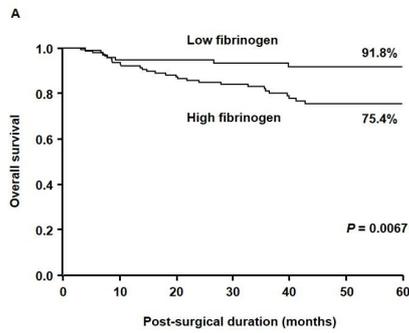
(4) 当科にて化学療法および化学放射線療法を施行した切除不能進行胃癌および再発胃癌 68 例を対象とし、治療前 2 週間以内の血液検体を使用して血清 Fibrinogen 値と NLR を評価した。

## 4. 研究成果

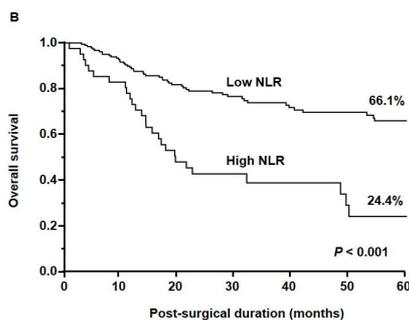
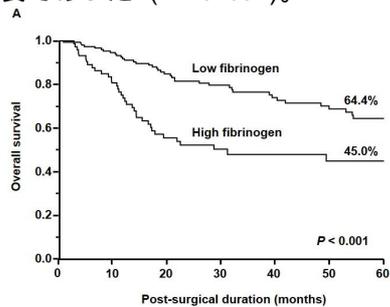
(1) 胃癌および胃腺腫における平均 CD3+ TILs 数は、それぞれ  $87.5 \pm 59.8$ 、 $379.6 \pm 128.1$  であり、有意に胃腺腫で増加していた ( $P < 0.0001$ )。また臨床病理学的因子との関係では、CD3+ TILs 数は有意に深達度、リンパ節転移、ステージと関連していた ( $P < 0.05$ )。さらに CD3+ TILs の低発現群の予後は高発現群に比較し、明らかに予後不良であり ( $P = 0.004$ )、多変量解析では独立した予後因子の一つであった ( $P = 0.034$ )。これらの結果より、胃癌における CD3+ TILs の評価は、リンパ節転移や予後予測を行う上で有用な指標となり、癌細胞は宿主の T 細胞性免疫応答を抑制することで免疫回避の機能を促すことが示唆された。



(2) 手術を施行した切除胃癌 275 例での平均血清 Fibrinogen 値および NLR は、それぞれ  $326.5 \pm 76.7$  mg/dL、 $2.21 \pm 1.25$  であった。血清 Fibrinogen 値および NLR は、それぞれ深達度やリンパ節転移、リンパ管侵襲、静脈侵襲、ステージと有意に関連していた ( $P < 0.001$ )。一方、血清 Fibrinogen 値および NLR の高値群は、低値群に比較して有意に予後不良であった ( $P < 0.05$ )。

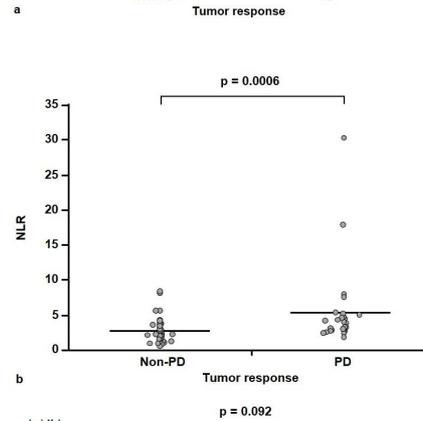
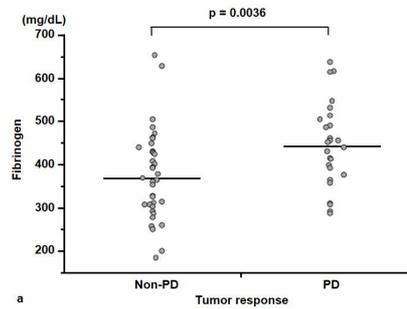


(3) 手術を施行した切除食道扁平上皮癌238例での平均血清Fibrinogen値およびNLRは、それぞれ $369.2 \pm 88.9$  mg/dL、 $2.2 \pm 1.2$ であった。血清Fibrinogen値およびNLRは、それぞれ深達度やリンパ節転移、リンパ管侵襲、静脈侵襲、ステージと有意に相関していた ( $P < 0.001$ )。一方、血清Fibrinogen値およびNLRの高値群は、低値群に比較して有意に予後不良であった ( $P < 0.001$ )。



(4) 化学療法および化学放射線療法を施行した切除不能進行胃癌および再発胃癌68例での平均血清Fibrinogen値およびNLRは、それぞれ $399.9 \pm 103.7$  mg/dL、 $4.0 \pm 4.1$ であった。非奏功進行群(PD)では、non-PD群に比較して有意に血清Fibrinogen値、NLRともに高値であった ( $P < 0.01$ )。一方、血清Fibrinogen値および

NLRの高値群は、低値群に比較して有意に予後不良であった ( $P < 0.05$ )。



これらの結果より癌細胞は、全身性の炎症反応を誘発し、宿主の免疫監視機構から回避することで浸潤や転移をもたらす可能性が示唆された。

## 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6件)

1. Arigami T, Uenosono Y, Ishigami S, Okubo K, Kijima T, Yanagita S, Okumura H, Uchikado Y, Kijima Y, Nakajo A, Kurahara H, Kita Y, Mori S, Maemura K, Natsugoe S: A Novel Scoring System Based on Fibrinogen and the Neutrophil-Lymphocyte Ratio as a Predictor of Chemotherapy Response and Prognosis in Patients with Advanced Gastric Cancer. *Oncology*;90:186-192, 2016. (査読有)  
DOI: 10.1159/000444494
2. Arigami T, Uenosono Y, Matsushita D, Yanagita S, Uchikado Y, Kita Y, Mori S, Kijima Y, Okumura H, Maemura K, Ishigami S, Natsugoe S: Combined fibrinogen concentration and neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic marker of gastric cancer. *Oncol Lett*;11:1537-1544, 2016. (査読有)  
DOI: 10.3892/ol.2015.4049
3. Arigami T, Okumura H, Matsumoto M, Uchikado Y, Uenosono Y, Kita Y, Owaki

- T, Mori S, Kurahara H, Kijima Y, Ishigami S, Natsugoe S: Analysis of the Fibrinogen and Neutrophil-Lymphocyte Ratio in Esophageal Squamous Cell Carcinoma: A Promising Blood Marker of Tumor Progression and Prognosis. *Medicine (Baltimore)*. 94:e1702, 2015. (査読有)  
DOI: 10.1097/MD.0000000000001702.
4. Arigami T, Uenosono Y, Ishigami S, Matsushita D, Hirahara T, Yanagita S, Okumura H, Uchikado Y, Nakajo A, Kijima Y, Natsugoe S: Decreased density of CD3+ tumor-infiltrating lymphocytes during gastric cancer progression. *J Gastroenterol Hepatol*. 29:1435-1441, 2014. (査読有)  
DOI: 10.1111/jgh.12551
  5. Arigami T, Uenosono Y, Ishigami S, Yanagita S, Hagihara T, Haraguchi N, Matsushita D, Hirahara T, Okumura H, Uchikado Y, Nakajo A, Hokita S, Natsugoe S: Clinical significance of stanniocalcin 2 expression as a predictor of tumor progression in gastric cancer. *Oncol Rep*;30:2838-2844, 2013. (査読有)  
DOI: 10.3892/or.2013.2775
  6. Arigami T, Uenosono Y, Yanagita S, Matsushita D, Arima H, Hirata M, Uchikado Y, Nakajo A, Okumura H, Ishigami S, Hokita S, Natsugoe S: Feasibility of sentinel node navigation surgery after noncurative endoscopic resection for early gastric cancer. *J Gastroenterol Hepatol*;28:1343-1347, 2013. (査読有)  
DOI: 10.1111/jgh.12269
- [学会発表](計 12件)
1. 有上貴明, 上之園芳一, 大久保啓史, 貴島孝, 天辰仁彦, 奥村浩, 内門泰斗, 盛真一郎, 喜多芳昭, 石神純也, 夏越祥次: 胃癌における免疫チェックポイント分子 B7-H4 発現の臨床的意義と個別化治療への展開, 第 26 回日本消化器癌発生学会総会(シンポジウム), 米子全ニックホテル(鳥取県米子市), 11月19日, 2015.
  2. 有上貴明, 上之園芳一, 大久保啓史, 貴島孝, 柳田茂寛, 内門泰斗, 盛真一郎, 喜多芳昭, 石神純也, 夏越祥次: 胃癌における術前 modified Glasgow Prognostic Score と血清 Fibrinogen 値および Neutrophil-Lymphocyte Ratio に基づいた新たな予後マーカーの臨床的意義, 第 45 回胃外科・術後障害研究会, ヒルトン名古屋(愛知県名古屋市), 11月6日, 2015.
  3. 有上貴明, 上之園芳一, 石神純也, 大久保啓史, 貴島孝, 柳田茂寛, 奥村浩, 内門泰斗, 盛真一郎, 喜多芳昭, 夏越祥次: 切除不能・再発胃癌に対する Fibrinogen と Neutrophil-Lymphocyte Ratio の臨床的意義, 第 53 回日本癌治療学会学術集会(ワークショップ), 国立京都国際会館(京都府京都市), 10月30日, 2015.
  4. 有上貴明, 上之園芳一, 石神純也, 大久保啓史, 貴島孝, 松下大輔, 柳田茂寛, 奥村浩, 内門泰斗, 喜多芳昭, 盛真一郎, 夏越祥次: 切除不能・再発胃癌に対する新たな術前治療効果予測バイオマーカーの検索: 治療前 Fibrinogen 値と Neutrophil-Lymphocyte Ratio に基づいた新規スコアの臨床的意義, 第 23 回日本消化器関連学会週間(JDDW), グランドプリンスホテル新高輪(東京都), 10月10日, 2015.
  5. 有上貴明, 上之園芳一, 石神純也, 大久保啓史, 貴島孝, 松下大輔, 柳田茂寛, 内門泰斗, 奥村浩, 夏越祥次: 胃癌における術前 Fibrinogen 値と Neutrophil-Lymphocyte Ratio に基づいた新たな予後マーカーの臨床的意義, 第 70 回日本消化器外科学会総会(ワークショップ), アクトシティ浜松(静岡県浜松市), 7月17日, 2015.
  6. 有上貴明, 奥村浩, 内門泰斗, 大脇哲洋, 松本正隆, 恵浩一, 喜多芳昭, 上之園芳一, 石神純也, 夏越祥次: 食道扁平上皮癌における血清 Fibrinogen 値と Neutrophil-lymphocyte ratio の臨床的意義, 第 69 回日本食道学会学術集会, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市), 7月3日, 2015.
  7. Takaaki Arigami, Yoshikazu Uenosono, Keishi Ohkubo, Takashi Kijima, Daisuke Matsushita, Shigehiro Yanagita, Yasuto Uchikado, Yoshiaki Kita, Shinichiro Mori, Kenji Baba, Hiroshi Okumura, Sumiya Ishigami, Shoji Natsugoe: Combined Analysis of Fibrinogen and Neutrophil-Lymphocyte Ratio in Gastric Cancer: A Promising Blood Marker for Predicting Tumor Progression and Prognosis, 11<sup>th</sup> International Gastric Cancer Congress, Sao Paulo, Brazil, June 4, 2015.
  8. 有上貴明, 上之園芳一, 石神純也, 柳田茂寛, 平原徹志, 大久保啓史, 松下大輔, 内門泰斗, 奥村浩, 夏越祥次: 胃癌における免疫補助刺激分子 B7-H3 および B7-H4 発現の臨床的意義と個別化治療への可能性, 第 35 回癌免疫外科研究会, シェラトン都ホテル大阪(大阪府大阪市), 5月23日, 2014.
  9. 有上貴明, 上之園芳一, 石神純也,

大久保啓史, 貴島孝, 柳田茂寛, 奥村浩, 内門泰斗, 盛真一郎, 喜多芳昭, 夏越祥次: 胃癌に対する術前血清 Fibrinogen 値と Neutrophil-Lymphocyte Ratio に基づくスコアの臨床的意義: modified Glasgow Prognostic Score との比較検討, 第 36 回癌免疫外科研究会 (主題), 奄美観光ホテル (鹿児島県奄美市), 5 月 15 日, 2015.

- 1 0 . 有上貴明, 上之園芳一, 大久保啓史, 貴島孝, 松下大輔, 柳田茂寛, 内門泰斗, 奥村浩, 石神純也, 夏越祥次: 胃癌における術前血清 Fibrinogen 値と Neutrophil-Lymphocyte Ratio の臨床的意義, 第 87 回日本胃癌学会総会, リーガロイヤルホテル広島 (広島県広島市), 3 月 6 日, 2015.
- 1 1 . 有上貴明, 上之園芳一, 石神純也, 松下大輔, 平原徹志, 柳田茂寛, 奥村浩, 夏越祥次: 胃癌における CD3 腫瘍浸潤リンパ球の臨床的意義, 第 114 回日本外科学会定期学術集会, 国立京都国際会館 (京都府京都市), 4 月 4 日, 2014.
- 1 2 . 有上貴明, 上之園芳一, 石神純也, 松下大輔, 平原徹志, 柳田茂寛, 夏越祥次: 胃癌における新規バイオマーカー B7-H3 および B7-H4 発現の臨床的意義と個別化治療への展開, 第 22 回日本がん転移学会学術集会・総会 (ワークショップ), ホテルブエナビスタ (長野県松本市), 7 月 11 日, 2013.

〔図書〕(計 1 件)

1. 有上貴明, 上之園芳一, 夏越祥次: 術後合併症と予後との関連 炎症による局所抗腫瘍免疫系の変化, SURGERY FRONTIER Vol.22 No.4: 81-85. (査読無)  
[http://www.m-review.co.jp/files/tachiyomi\\_J0016\\_2204\\_0081-0085.pdf#search](http://www.m-review.co.jp/files/tachiyomi_J0016_2204_0081-0085.pdf#search)

〔その他〕

ホームページ等

[http://ris.kuas.kagoshima-u.ac.jp/html/100005684\\_ja.html](http://ris.kuas.kagoshima-u.ac.jp/html/100005684_ja.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有上 貴明 (ARIGAMI TAKAAKI)

鹿児島大学・医歯学域医学部・歯学部附属病院・助教

研究者番号: 40527058

(2) 研究分担者

上之園 芳一 (UENOSONO YOSHIKAZU)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・特任准教授

研究者番号: 60398279

夏越 祥次 (NATSUGOE SHOJI)

鹿児島大学・医歯学域医学系・教授

研究者番号: 70237577

大久保 啓史 (OKUBO KEISHI)

鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・医員

研究者番号: 70772223