

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 22 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461935

研究課題名(和文) 固形癌術前化学療法による抗腫瘍免疫能誘導と術後再発予防への個別化治療戦略

研究課題名(英文) Treatment strategy to prevent postoperative recurrence of cancers by inducing host immune responses following neoadjuvant chemotherapy.

研究代表者

土川 貴裕 (Tsuchikawa, Takahiro)

北海道大学・大学病院・講師

研究者番号：50507572

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、癌の治療に際して抗癌剤や放射線照射という治療が、腫瘍縮小効果に加えて、患者免疫系にどのような影響を与えるかについて解析を行った。3年間の研究では、この患者局所免疫を修飾する作用は癌種と抗癌剤の組み合わせにより免疫増強にも免疫抑制にもなり得ること、そして長期予後にも影響を与えることが判明した。さらに、免疫染色の手法を用いてそのメカニズムを解析し、学会、論文でその結果を報告した。

研究成果の概要(英文)：In this research, we investigated the effects of anti-cancer agents and radiotherapy to host immune system in addition to direct cytotoxic effects. Our results showed that the combination between types of cancer and anti-cancer reagents also affect patients prognosis through immune related mechanisms. Based on the results, we published 2 papers.

研究分野：腫瘍外科学

キーワード：癌 腫瘍免疫 抗癌剤

### 1. 研究開始当初の背景

近年、様々な癌種で術前化学療法が施行され、術後補助療法と比較して予後良好であることが報告されている。従来、抗癌剤は宿主免疫を抑制すると考えられてきたが、ある種の抗癌剤は癌細胞が抗原提示細胞に取り込まれる際の、免疫原性を高める作用を有することが明らかになっており、教室では培養細胞や動物モデルを用いてそのメカニズムを明らかにするとともに、術前化学療法後の各種癌切除検体を用いて、抗癌剤が癌局所免疫環境に及ぼす正の影響を検証してきた。その結果、術前化学療法後の切除検体には有意に免疫細胞の浸潤が多く、癌細胞に対する種々のストレス反応や周囲微小環境への作用を介して抗腫瘍免疫を誘導する効果があることを明らかにした。この知見を元に、術前化学療法施行後の手術検体の免疫組織学的な解析をすすめ、食道癌・膵癌において、抗癌剤投与により CD4, CD8, CDRO, HLAclass , Treg などの細胞性免疫に関連する因子が変化することを明らかにしてきた。

### 2. 研究の目的

抗癌剤が免疫誘導と抑制を来すそれぞれの投与量は明らかではないが、これまで化学療法の有効性は直接的殺細胞効果に基づく画像上の腫瘍縮小効果のみに焦点を当てて評価されており、このような免疫誘導メカニズムを視野に入れた適確な化学療法プロトコルは確立されていない。以上より、抗癌剤により誘導された局所浸潤リンパ球や液性免疫が腫瘍特異的免疫能を保持しているかを検証し、このような獲得免疫能が術後の微小遺残癌細胞の増大と再発病変を阻止し得るような新たな個別化免疫化学療法の戦略を開発することを目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究計画では、(1)抗癌剤による癌細胞の抗原性増強メカニズムの基礎的検証とその免疫反応モニタリング方法を樹立する。

(2)SEREX 法による抗癌剤投与後の液性免疫誘導の網羅的評価を行う。(3)免疫反応を誘導するために最適な抗癌剤の種類、投与量、投与プロトコルを確立する。以上の3つの方法を確立することによって、臨床試験による癌再発予防効果を検証する。

### 4. 研究成果

本研究期間3年間の研究で抗癌剤や放射線照射が、癌細胞に対する直接の殺細胞効果以外に、宿主の癌局所免疫環境を修飾し予後に影響を与える可能性があることが明らかになった。このメカニズムとして抗原提示機構である HLA class I 分子の発現低下抑制、CD4, CD8 陽性Tリンパ球浸潤の促進や抑制性T細胞(Treg)の浸潤抑制が関与することを切除標本の免疫組織学的解析を行うことによって明らかにした。またこの局所免疫修飾作用は癌種と抗癌剤の組み合わせにより免疫増強にも免疫抑制にもなり得ることも判明した。さらに抗癌剤が膵癌局所の免疫系に与えるメカニズムを解析するために、ヒト膵癌培養細胞を用いた実験系を構築した。in vitro の実験系で、膵癌細胞に対して Gemcitabine ,5FU を至適濃度で添加共培養したところ GM-CSF(顆粒球単球コロニー刺激因子)の発現亢進と共に、ミエロイド細胞から MDSC(Myeloid-derived suppressor cells)への分化促進とT細胞の増殖阻害が生じることが示された。抗 GM-CSF 抗体を用いて阻害実験を行ったところ MDSC 誘導、T細胞増殖阻害が抑制され、この活性化には MAPK や NF-k B 経路が関与することが示唆された。さらに 68 例の膵癌切除切片 TMA の免疫組織学的解析により GM-CSF 強発現症例は有意に予後不良で、術前化学療法施行症例では有意に MDSC が増加することが明らかとなった。その他、膵癌間質における palladin 発現細胞や、異所性リンパ節の出現が膵癌術前化学療法後の予後良好症例を判断するためのバイオマーカーとなることを解明した。また胆道癌

において PD-L1 発現が予後に与える影響や、Epithelial mesenchymal transition と局所免疫との相関メカニズムについても解明した。

#### 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. Tsuchikawa T, Takeuchi S, Nakamura T, Shichinohe T, Hirano S. Clinical impact of chemotherapy to improve tumor microenvironment of pancreatic cancer. World J Gastrointest Oncol. 2016 Nov 15;8(11):786-792. Review. PubMed PMID: 27895816; 査読有
2. Sato D, Tsuchikawa T, Mitsuhashi T, Hatanaka Y, Marukawa K, Morooka A, Nakamura T, Shichinohe T, Matsuno Y, Hirano S. Stromal Palladin Expression Is an Independent Prognostic Factor in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. PLoS One. 2016 Mar 29;11(3):e0152523. doi: 10.1371/journal.pone.0152523. eCollection 2016. PubMed PMID: 27023252; PubMed Central PMCID: PMC4811423. 査読有
3. Takeuchi S, Baghdadi M, Tsuchikawa T, Wada H, Nakamura T, Abe H, Nakanishi S, Usui Y, Higuchi K, Takahashi M, Inoko K, Sato S, Takano H, Shichinohe T, Seino K, Hirano S. Chemotherapy-Derived Inflammatory Responses Accelerate the Formation of Immunosuppressive Myeloid Cells in the Tissue Microenvironment of Human Pancreatic Cancer. Cancer Res. 2015 Jul 1;75(13):2629-40. doi:10.1158/0008-5472.CAN-14-2921. Epub 2015 May 7.

PubMed PMID: 25952647. 査読有

4. Sato S, Tsuchikawa T, Nakamura T, Sato N, Tamoto E, Okamura K, Shichinohe T, Hirano S. Impact of the tumor microenvironment in predicting postoperative hepatic recurrence of pancreatic neuroendocrine tumors. Oncol Rep. 2014 Dec;32(6):2753-9. doi: 10.3892/or.2014.3530. Epub 2014 Oct 6. PubMed PMID: 25310565. 査読有
5. Nitta T, Mitsuhashi T, Hatanaka Y, Miyamoto M, Oba K, Tsuchikawa T, Suzuki Y, Hatanaka KC, Hirano S, Matsuno Y. Prognostic significance of epithelial-mesenchymal transition-related markers in extrahepatic cholangiocarcinoma: comprehensive immunohistochemical study using a tissue microarray. Br J Cancer. 2014 Sep 23;111(7):1363-72. doi: 10.1038/bjc.2014.415. Epub 2014 Jul 31. PubMed PMID: 25077440; PubMed Central PMCID: PMC4183847. 査読有
6. Yamamura Y, Tsuchikawa T, Miyauchi K, Takeuchi S, Wada M, Kuwatani T, Kyogoku N, Kuroda A, Maki T, Shichinohe T, Hirano S. The key role of calreticulin in immunomodulation induced by chemotherapeutic agents. Int J Clin Oncol. 2015 Apr;20(2):386-94. doi:10.1007/s10147-014-0719-x. Epub 2014 Jun 28. PubMed PMID: 24972573. 査読有

[学会発表](計2件)

1. 佐藤大介, 土川貴裕, 三橋智子, 畑中豊, 野路武寛, 倉島庸, 海老原祐磨, 村上壮一, 中村透, 田本英司, 岡村圭祐, 七戸俊明, 松野吉宏, 平野聡

膵癌局所環境における CAF マーカー  
palladin の発現は独立した予後因子で  
ある第 27 回肝胆膵外科学会・学術集会,  
2015 年 6 月 11-13 日, ホテルグランパシ  
フィック LE DAIBA (東京都港区)

2. Sato D, Mitsuhashi T, Tsuchikawa T,  
Hatanaka Y, Nakamura T, Hirano S,  
Matsuno Y. Stromal Palladin Expression  
Is An Independent Prognostic Factor of  
Pancreatic Ductal Adenocarcinoma  
(PDAC). 2015 United States & Canadian  
Academy of Pathology Annual Meeting,  
March 21-27, 2015, Boston,  
Massachusetts, United States.

[ 図書 ] ( 計 0 件 )

出願状況 ( 計 0 件 )

取得状況 ( 計 0 件 )

[ その他 ]

ホームページ等

北海道大学病院消化器外科 I I

<http://surg2-hokudai.jp>

## 6 . 研究組織

### (1) 研究代表者

土川 貴裕 ( TSUCHIKAWA TAKAHIRO )

北海道大学・大学病院・講師

研究者番号 : 50507572

### (2) 研究分担者

平野 聡 ( HIRANO SATOSHI )

北海道大学・医学研究科・教授

研究者番号 : 50322813

七戸 俊明 ( SHICHINOHE TOSHIAKI )

北海道大学・医学研究科・准教授

研究者番号 : 70374353

中村 透 ( NAKAMURA TORU )

北海道大学・医学研究科・助教

研究者番号 : 70645796

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号 :

### (4) 研究協力者

( )