

氏 名（本籍） 武 者 宏 昭

学 位 の 種 類 博 士（医 学）

学 位 記 番 号 医 博 第 1 9 9 7 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 1 5 年 3 月 2 4 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

研 究 科 専 攻 東 北 大 学 大 学 院 医 学 系 研 究 科  
（博士課程）医科学専攻

学 位 論 文 題 目 ヒト大腸癌におけるケモカインおよびケモカイン  
レセプターの発現：癌先進部における腫瘍免疫反  
応への関与  
(Expression of chemokines and chemokine re-  
ceptors in human colorectal cancer : Their in-  
volvement in anti-tumor immune responses  
particular marked along the invasive margin)

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教 授 佐 々 木 巖 教 授 貫 和 敏 博

教 授 小 柳 義 夫

## 論文内容要旨

ヒト大腸癌，ことにその先進部には，各々の症例により様々な程度で炎症性細胞が浸潤している。その細胞の多寡が，腫瘍の進展，予後に関連していることが報告されている。我々のグループは腫瘍浸潤免疫・炎症担当細胞は，腫瘍の進展に対し抑制的であることを報告してきた。一方，ケモカインは白血球走化因子として知られている。大腸癌における単核球浸潤にもケモカインおよびケモカインレセプターが関与していると想定される。このため，大腸癌（とくに先進部）におけるケモカインおよびケモカインレセプターの発現を検討した。

ヒト大腸癌切除標本 40 例を材料とし，免疫組織化学（二重染色，免疫電顕を含む），RT-PCR を行った。また，大腸癌組織または非癌部大腸粘膜より単離した単核球を Flow cytometry にて，表面抗原の検索と非特異的刺激（PMA 刺激）によるサイトカイン産生を確認した。免疫組織化学染色は，CCR4，CCR5，CXCR3，IP-10，RANTES に対する抗体を使用した。

RT-PCR の結果より，大腸癌組織には主に，type1 型のケモカインレセプター（CCR5，CXCR3）およびそれぞれに対応するケモカインリガンド（RANTES，MIP1 $\alpha$ ，MIP1 $\beta$ ，IP-10）の mRNA の発現を認めた。免疫染色では，ケモカインレセプターは，非癌部大腸粘膜においては粘膜固有層の単核球に満遍なく認められ，陽性細胞数は CCR5 $\geq$ CXCR3 $\gg$ CCR4 で，それぞれの分布領域はほぼ一致していた。大腸癌組織では，ケモカインレセプター陽性細胞は，約 8 割の症例（33/40 例：82.5%）で，先進部により集中して多く認められ，帯状に分布しており，陽性細胞数は CCR5 が最も多く，CXCR3 と CCR4 は CCR5 よりは少数であった。癌内部の間質にもケモカインレセプター陽性細胞を認めるが，大部分の症例では陽性細胞数は先進部より明瞭に少なく，CCR5 が最も多く，CXCR3 と CCR4 は CCR5 よりは少数であった。一方癌細胞間（上皮間）では，CD8 陽性細胞よりは少ないが，陽性細胞を認め，陽性細胞数は CCR5 $>$ CXCR3 $\approx$ CCR4 であった。一方，対応するケモカインリガンドは，免疫 2 重染色にて，IP-10 は先進部の癌細胞，単核球（CD68 $>$ CD8）に陽性であり，RANTES は主に CD8 陽性細胞に認められた。IP-10 は約 9 割の症例で先進部の癌細胞に部分的に陽性であった。上記ケモカインのリガンドと対応するケモカインレセプターは，発現している場が一致していた。両者とも癌細胞間ではほとんど認められず，癌間質でも少数の陽性細胞を認めるのみであった。Flow cytometry にて，癌組織より単離した CD4，CD8 陽性細胞には，CXCR3，CCR5 二重陽性細胞を多く認めた。非特異的刺激（PMA 刺激）下での，CD4 陽性細胞のサイトカイン発現は，IFN- $\gamma$  $\gg$ IL-4 であった。また，PMA 刺激により，CD4 $^+$ CCR5 $^+$  陽性細胞および CD8 $^+$ CCR5 $^+$  陽性細胞に，IFN- $\gamma$  産生細胞を認めた。

以上の結果より，大腸癌，ことにその先進部に集簇する単核球は，エフェクター細胞の可能性

があり、単核球および癌細胞が出すケモカインにより遊走してきた可能性が示唆された。これに対し癌内部は先進部と異なった環境であることも示唆された。また浸潤単核球が出す IFN- $\gamma$  によりケモカインリガンドが誘導されている可能性が示唆された。CCR5, CXCR3 優位であることは、Th1, cytotoxic T cell の反応と考え矛盾しない。これらの研究によりヒト大腸癌における宿主反応に、type1 型のケモカインレセプターおよび対応するケモカインリガンドが積極的に関与していることが解明された。

## 審査結果の要旨

ヒト大腸癌組織，ことにその先進部には様々な程度で炎症性細胞が浸潤している。我々のグループは，腫瘍浸潤免疫・炎症担当細胞は，腫瘍の進展に対し抑制的であることを報告してきた。ケモカインは白血球走化因子として知られていることから大腸癌における単核球浸潤にもケモカインおよびケモカインレセプターが関与していると想定される。このため，本研究では大腸癌組織において，主として活性化リンパ球に発現するケモカインおよびケモカインレセプターの発現を検討した。

RT-PCRの結果より，先進部を含む大腸癌組織には主に，type1型のケモカインレセプター(CCR5, CXCR3)およびそれぞれに対応するケモカインリガンド(RANTES, MIP1 $\alpha$ , MIP1 $\beta$ , IP-10)のmRNAの発現を強く認めた。免疫染色にて，大腸癌組織のケモカインレセプター陽性細胞は，約8割の症例(33/40例:82.5%)で先進部により集中して多く帯状に分布しており，陽性細胞数はCCR5が最も多く認めた。一方癌細胞間では，陽性細胞はCD8陽性細胞よりごく少数であった。一方，免疫2重染色にて，対応するケモカインリガンドであるIP-10は先進部の癌細胞，単核球(CD68 $>$ CD8)に陽性であり，RANTESは主にCD8陽性細胞に認められた。IP-10は約9割の症例で先進部の癌細胞に部分的に陽性であった。上記ケモカインのリガンドと対応するケモカインレセプターは，発現している場が一致していた。両者とも癌細胞間ではほとんど認められず，癌間質でも少数の陽性細胞を認めるのみであった。

Flow cytometryにて，先進部を含む癌組織より単離したCD4 $^+$ CD8 $^+$ 陽性細胞には，CXCR3, CCR5二重陽性細胞を多く認めた。非特異的刺激(PMA刺激)下での，CD4 $^+$ 陽性細胞のサイトカイン発現は，IFN- $\gamma$  $>>$ IL-4であった。また，PMA刺激により，CD4 $^+$ CCR5 $^+$ 陽性細胞およびCD8 $^+$ CCR5 $^+$ 陽性細胞に，IFN- $\gamma$ 産生細胞を認めた。

以上の結果より，大腸癌，ことにその先進部に集簇する単核球は，エフェクター細胞の可能性があり，単核球および癌細胞が出すケモカインにより遊走してきた可能性が示唆された。これに対し癌内部は先進部と異なった環境であることも示唆された。また浸潤単核球が出すIFN- $\gamma$ によりケモカインリガンドが誘導されている可能性が示唆された。CCR5, CXCR3優位であることは，Th1, cytotoxic T cellの反応と考え矛盾しない。これらの研究によりヒト大腸癌における宿主反応に，type1型のケモカインレセプターおよび対応するケモカインリガンドが積極的に関与していることが解明された。

以上，大腸癌先進部の単核球浸潤にケモカインおよびケモカインレセプターが関与していることを証明し，今後臨床応用も十分期待されると考えられ，学位論文として十分値するものであると考える。