

学 位 論 文 要 旨

氏 名 藤田 陽平

論 文 名 口腔扁平上皮癌患者における予後予測因子としての
インターロイキン-8の有用性：インターロイキン-8によるCD163
陽性M2マクロファージの誘導

学位論文要旨

世界で年間約50万人の新規頭頸部扁平上皮癌患者が報告されており、その中でも口腔扁平上皮癌は最も症例数が多く、約半数以上を占める。われわれの知見や技術、治療法の進歩にも関わらず、5年生存率は早期癌で約90%、進行癌で約50%と過去40年有意な上昇を認めていないのが現状である。新規治療法として分子標的治療薬や免疫治療が期待されているが、まだ発展途上である。われわれは担癌患者の免疫抑制状態に注目し、免疫抑制状態を反映するバイオマーカーを探索すること、またその免疫抑制機序を明らかにすることを目的として本研究を行った。

最初に口腔扁平上皮癌患者の術前血清を用いて予後予測因子のスクリーニングを Multiplex Suspension Array System(IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN- γ , TNF- α) を用いて行った。その結果、早期癌患者において術前血清中の IL-6 及び IL-8 低値患者が、高値患者に比べて有意に OS, DFS が延長していることが明らかになった。IL-6, 8 はともに他癌種において予後との相関が報告されている炎症性サイトカインであり、IL-8 は血管新生に関わる予後不良因子として報告されている。今回はその IL-8 に注目し、腫瘍微小環境下における腫瘍免疫抑制細胞との相関を解析し、IL-8 による免疫抑制機序を検討した。

次に3年以上経過観察可能な根治的切除治療を行った口腔扁平上皮癌患者50例の手術時または生検時のパラフィンブロックを使用して、腫瘍微小環境下における IL-8 発現および腫瘍免疫抑制に関与している CD163⁺ M2 マクロファージの浸潤を免疫組織化学染色を用いて評価した。その結果、腫瘍微小環境下における IL-8 の分泌と CD163⁺ M2 マクロファージの腫瘍周囲への浸潤度には正の相関が認められ、またそれぞれが独立して予後不良予測因子となることが認められた。

氏名 藤田 陽平

さらに術前血清 IL-8 値と腫瘍微小環境下における IL-8 の分泌は早期癌においては相関している傾向が認められたが、進行癌においては相関が全く認められなかった。これは進行癌においては腫瘍細胞や免疫担当細胞などの様々な細胞からサイトカインが分泌されており、サイトカインストームの状態に陥っていることが考えられた。

次いで IL-8 による CD163⁺ M2 マクロファージへの分化誘導の確認を in vitro にて行った。健常人末梢血を 100 ml 採取し、Lymphoprep®を用いてPeripheral blood mononucleated cell(PBMC) を分離して 10cm ディッシュ に播種した。12 時間後に PBS にて洗浄後、5 日間 M-CSF(25ng/ml)にて刺激し、2 日間 IL-8(10ng/ml)で刺激した(IL-8 群)。コントロール群には無刺激で 7 日間培養した群(CTL①群)、及び始めの 5 日間は M-CSF(25ng/ml)で刺激し、残りの 2 日間を無刺激で培養した群(CTL②群)の 2 群を設定した。ポジティブコントロールには 5 日間を M-CSF(25ng/ml)で刺激し、残りの 2 日間を IL-4(20ng/ml)および IL-13(20ng/ml) で刺激した群(PC 群)を設定した。培養終了後 FACS 解析を行い、CD163 への分化誘導の確認を行った。CTL①に比較してその他 3 群では有意に CD163⁺ M2 マクロファージの細胞数が増加しており、M-CSF によって分化されていることが確認された。また、IL-8 群には CTL②と比較して、有意に CD163⁺ 細胞数が増加しており、IL-8 によりさらに CD163⁺ M2 マクロファージへの分化誘導が促進されていることが示唆された。

次に M2 マクロファージの活性化を確認するために、活性化した M2 マクロファージが産生すると報告されている IL-10 の濃度を上記 4 群で培養した際の培養上清を用いて ELISA にて測定した。その結果、CTL①ではほとんど産生されていない IL-10 が、CTL②において産生の上昇を認め、PC, IL-8 においてさらなる上昇が認められた。この結果より、IL-8 は分化誘導だけでなく、M2 マクロファージの IL-10 産生能も上昇させ、活性化にも関与していることが示唆された。

以上の結果より、早期癌においては血清中の IL-8 濃度が腫瘍微小環境下を反映しており、また全病期においては腫瘍微小環境下の IL-8 の発現強度, CD163⁺ M2 マクロファージの浸潤度が予後予測バイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。また、その免疫抑制機序として、腫瘍細胞により産生された IL-8 によって、単球から CD163⁺ M2 マクロファージへの分化誘導が促進され、尚且つ M2 マクロファージを活性化することで IL-10 などの免疫抑制性サイトカインの産生能を上昇させ、最終的に腫瘍免疫の抑制に繋がっていることが示唆された。

キーワード (3~5)	口腔扁平上皮癌 Interleukin-8(IL-8) CD163 ⁺ M2マクロファージ 腫瘍微小環境下 バイオマーカー
-------------	--