

Title	Heterogeneity of Treg/Th17 According to Cancer Progression and Modification in Biliary Tract Cancers via Self-Producing Cytokines
Author(s)	木下, 満
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/77605
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	木下 満
論文題名 Title	Heterogeneity of Treg/Th17 According to Cancer Progression and Modification in Biliary Tract Cancers via Self-Producing Cytokines (胆道癌において自己産生サイトカインを介したTregおよびTh17の不均一性は癌進展および変容に 関与する)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕	
教室では、胆道癌において、炎症性サイトカインのIL-6が自己分泌-傍分泌機構を通じてアポトーシス抵抗性を惹起すること、胆道癌が分泌するTGF-β1と相互刺激して化学療法抵抗性や上皮間葉転換を誘導すること、さらにサイトカイン誘導の腫瘍内不均一性があることを明らかにした。近年、炎症モデルにおいて、これらのサイトカインがnaïve T細胞を制御性T細胞(Foxp3陽性細胞、Treg)やTh17(IL-17陽性細胞)に分化誘導することが報告された。以上から、本研究では、癌が化学療法抵抗性や上皮間葉転換を獲得するにつれサイトカインの腫瘍内不均一性が生じ、分化T細胞の局在現象が起こりうる可能性に着想し、腫瘍中心部、腫瘍先進部におけるサイトカイン(IL-6、TGF-β1)の発現と、T細胞(Foxp3陽性細胞、IL-17陽性細胞)の局在との関連性、癌進展や外科切除成績への影響について検討することとした。	
〔方 法(Methods)〕	
2000年から2012年までの胆道癌切除検体127例を対象とし、抗IL-6抗体、抗TGF-β1抗体、抗Foxp3抗体、抗IL-17抗体による免疫組織化学染色法を施行した。Foxp3陽性細胞およびIL-17陽性細胞は癌周囲に集簇するリンパ球を腫瘍中心部と腫瘍先進部に分けて測定した。さらに胆道癌細胞株親株(TFK-1)および樹立した化学療法耐性株を用いて、naïve T細胞と共培養を行い、Foxp3陽性細胞およびIL-17陽性細胞への分化をflow cytometry法で評価した。	
〔成 績(Results)〕	
免疫組織化学染色法において、Foxp3陽性細胞は腫瘍中心部に発現が多く(11vs. 6, $P<0.01$)、IL-17陽性細胞は腫瘍先進部に多い傾向であり(14vs. 18, $P=0.11$)。臨床病理学的因子解析では、脈管侵襲、腫瘍先進部でのIL-17高発現が全生存期間に関与する独立予後因子であり[hazard ratio (HR)=1.86, $P=0.04$]、腫瘍マーカー(CEA)、腫瘍径、脈管侵襲に加えて、腫瘍先進部でのIL-17高発現が無再発生存期間に関与する独立予後因子であった[HR=2.03, $P=0.03$]。さらに両高発現群においては低発現群と比較して、T因子・リンパ節転移率が高く、予後不良であった[HR=3.81, $P<0.01$]。	
IL-6およびTGF-β1の発現を検討したところ、IL-6は腫瘍中心部より腫瘍先進部において発現する症例が多く、一方でTGF-β1は腫瘍中心部と腫瘍先進部における発現に差を認めなかった。IL-6とTGF-β1の発現を高発現群と低発現群に分類し、Foxp3とIL-17の発現割合を解析したところ、腫瘍中心部においては、TGF-β1の高発現下でFoxp3の発現割合が増加し、腫瘍先進部においては、IL-6の高発現下でIL-17の発現割合が増加していた。多重ロジスティック回帰分析において、腫瘍中心部では年齢、脈管侵襲に加えて、TGF-β1高発現がFoxp3高発現における独立した関連因子であり[odds ratio (OR)=6.00, $P=0.04$]、腫瘍先進部では腫瘍マーカー(CA19-9)、脈管侵襲、T因子に加えて、IL-6高発現がIL-17高発現における独立した関連因子であった[OR=58.48 $P<0.01$]。	
次に、これまでの研究で樹立した化学療法耐性株が腫瘍先進部に存在する癌細胞の特徴を持っていたことから、化学療法耐性株を腫瘍先進部の細胞とみなしてnaïve T細胞との共培養実験を行った。まず、胆道癌細胞株親株と化学療法耐性株のそれぞれが腫瘍中心部と腫瘍先進部における特徴を持つことをMTT assay、invasion assay、qRT-PCR法で確認した。さらに、naïve T細胞にIL-6、TGF-β1を加えたところ、Foxp3陽性細胞はTGF-β1の濃度に依存して上昇し、IL-17陽性細胞はIL-6の濃度に依存して割合が増加することが示された。最後に、naïve T細胞を化学療法耐性株と共培養したところ、親株との共培養よりも、IL-17陽性細胞への分化が高い傾向にあった(親株0.1% vs. 耐性株0.3%, $P=0.12$)。	
〔総 括(Conclusion)〕	
腫瘍中心部ではTGF-β1存在下でFoxp3陽性細胞の発現が増加すること、腫瘍先進部ではIL-6存在下でIL-17陽性細胞の発現が増加することが認められた。すなわち、胆道癌においては自己産生サイトカインがT細胞の不均一性をもたらし、癌進展および変容に関与する可能性が考えられた。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 木下 満		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授 江口 英利
	副 査	大阪大学教授 竹田 潔
	副 査	大阪大学教授 竹原 殷一郎
論文審査の結果の要旨		
本研究論文では、胆道癌において、切除検体を用いた免疫組織免化学染色法でT細胞 (Foxp3陽性細胞、IL-17陽性細胞) の局在に腫瘍内不均一性があることを明らかにし、それらの高発現がリンパ節転移やStageに関与し、予後不良であることを証明した。また、サイトカイン (IL-6、TGF-β 1) の発現によってT細胞の発現が影響されることを示した。特に、腫瘍中心部ではTGF-β 1存在下でFoxp3陽性細胞の発現が増加すること、腫瘍先進部ではIL-6存在下でIL-17陽性細胞の発現が増加することが認められた。 細胞実験において、癌細胞と化学療法耐性癌細胞を用いて、ヒトTリンパ球と共培養を行ったところ、T細胞の分化誘導に相違が認められた。これらの内容は、癌進展の機序解明に寄与し、免疫を生かした新規治療の開発を担える可能性を有していると考えられる。よって申請者は学位に値するものと認める。		