

【研究区分：先端的研究】

研究テーマ：ヒト大腸癌浸潤先進部における腫瘍関連マクロファージの分極状態と腫瘍悪性度との関連	
研究代表者：地域創生学部 地域創生学科 健康科学コース 教授 北台靖彦	連絡先：kitadai@pu-hiroshima.ac.jp
共同研究者： 総合学術研究科 人間文化学専攻 大学院生 周茜 総合学術研究科 人間文化学専攻 大学院生 田中雅晴	
【研究概要】 大腸癌間質には活性化線維芽細胞 (cancer-associated fibroblast: CAF) とともに腫瘍浸潤マクロファージ (tumor-associated macrophage: TAM) が多数存在し、特異的な微小環境を形成することが知られている。我々は大腸癌細胞 (KM12SM) とともに、CAF の前駆細胞である間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell: MSC)、マクロファージ系細胞 (TPH-1) との共培養を行い、がんの発育・進展に及ぼす影響について検討した。本研究ではマクロファージが高密度に集積している浸潤先進部では、癌細胞の上皮間葉移行 (EMT) や血管新生を誘導することを示した。	

1. 研究の背景

2020年の世界の臓器別によるがん統計では、大腸癌は年齢調整罹患率において男性3位、女性2位、年齢調整死亡率において男性3位、女性4位となっており、男女ともに上位を占めている。間質細胞や内皮細胞、免疫担当細胞などで構成されている**腫瘍微小環境 (tumor microenvironment: TME)** はがん転移能に、大きな影響を及ぼし、その解析が進められている。癌の転移は多くのステップを乗り越えたごく一部の細胞のみ、転移が成立すると考えられており、そのステップとしては、癌細胞の増殖能、浸潤能、遊走能、運動能、そして血管新生能などが報告されている。新しい大腸癌治療法を進展させるためには、癌と間質との相互作用の解明が重要である。そこで私たちは、浸潤と血管新生に焦点を当てて研究を行った。

2. 研究結果

1) ヒト大腸がん細胞を用いた共培養実験

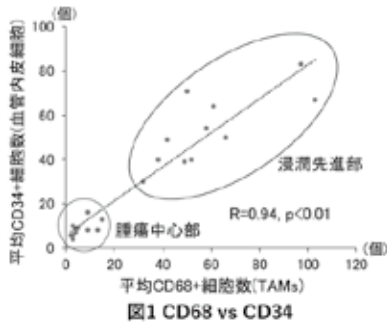
KM12SM (結腸癌)、THP-1 (ヒト単球) 由来マクロファージ、およびヒト MSC の3系統の細胞を用い実験を行った。大腸癌細胞とMSCとの共培養では、KM12SM細胞膜にE-カドヘリン発現を認めたが、マクロファージを加えると、免疫活性は核内に移動した。KM12SMは上皮様の形態から紡錘形や球形の細胞に変化し、接着能も低下した。マクロファージはM1, M2に関わらず、血管新生因子であるVEGFを高発現していた。大腸癌細胞増殖能に関してはM1は抑制的に、M2は促進的に働いた。

2) 臨床材料を用いた組織学的検討

(1) 腫瘍浸潤先進部のTAM高密度集積領域の特徴

浸潤先進部のTAM高密度集積領域を蛍光二重染色し、M1とM2を分離、観察した。M1は浸潤先進部癌細胞に接触し腫瘍腺管上皮の脱落や扁平化が観察された。TAMと血管内皮細胞を蛍光免疫染色したところ、腫瘍中心部に比べて浸潤先進部では、TAMと血管内皮細胞が多く認められた。TAM (M1) が集積している浸潤先進部より深部にはTAM (M2) が密に集積し、2つの集積領域が認められた。

【研究区分：先端的研究】



(2) TAMs と腫瘍血管数の相関関係

症例ごとに、浸潤先進部、腫瘍中心部それぞれ 1.38×10^5 平方 μm あたりの CD68 陽性細胞数、CD34 陽性細胞数(microvessel counts)を5カ所計測し、平均値を求めた。その両者の相関関係を解析すると、両者の間には有意な正の相関関係が認められ、(図1, $r=0.94$, $p<0.01$)、TAM数と腫瘍血管数は相関することが明らかとなった。グラフに示すように、腫瘍中心部に比べて、浸潤先進部ではTAM数および血管内皮細胞数が多かった。

(3) TAM と VEGF と腫瘍血管の特徴

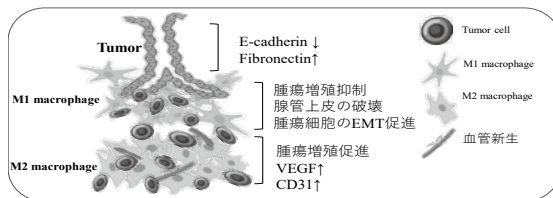
TAM と VEGF の免疫活性は、癌細胞と TAM で強かった。

TAM と血管内皮細胞を蛍光免疫染色したところ、腫瘍中心部に比べて浸潤先進部では、TAM と血管内皮細胞が多く認められた。

図2：腫瘍浸潤先進部に集積するマクロファージ。

浅層と深層の二層に分かれて集積していた。浸潤先進部の深さではM1は癌細胞と直接接触し、癌細胞の破壊、脱分化、EMTを誘導する。深層ではM2がほとんどを占める。癌細胞とともにマクロファージも VEGF を発現していた。

図2



3. 考察・まとめ

- ① 浸潤先進部においては、癌細胞と接触、近接する部位では、M2と共にM1も集積し、同部では癌細胞の破壊やEMTの誘導を認めた。
- ② その深部にはM2を主とするマクロファージの集積がみられ、VEGFを高発現していた。
- ③ 腫瘍血管密度が高い部位とTAMの高密度集積部位とは腫瘍内の部位が一致していた。

以上より、腫瘍浸潤先進部にマクロファージの高密度集積を伴う症例はEMTや血管新生が誘導されている可能性がある。今後は症例を集積し、治療成績も含めて解析を行いたい。