

論文の内容の要旨

論文題目 腫瘍免疫におけるリンパ管の役割
-悪性黒色腫およびリンパ腫細胞における検討-

氏名 記村 貴之

リンパ系は組織の間質液やタンパク質などの微小物質を血液循環に輸送する機能を持つとともに、樹状細胞などの抗原提示細胞やリンパ球をリンパ節に誘導することで、病原体や悪性腫瘍に対する免疫応答において重要な役割を果たしている。リンパ管の機能が障害されると、間質の膠質浸透圧が高くなるために間質液が貯留し、リンパ浮腫に至る。リンパ浮腫の原因として、世界的にはバンクロフト糸状虫などによるフィラリア症、先進国では悪性腫瘍またはその治療によるものが多いと推計されている。リンパ浮腫患者では貯留した間質液に細菌感染を来とし、しばしば蜂窩織炎を繰り返す傾向がある。また慢性に経過したリンパ浮腫患者では罹患部位に脈管肉腫（Stewart-Treves症候群）、カポジ肉腫、リンパ腫などの悪性腫瘍を合併することもある。

メラノーマは皮膚、眼窩内組織、口腔粘膜上皮などに発生するメラノサイト由来の悪性腫瘍である。外科的切除が治療の原則であるが、進行期メラノーマに対する治療は困難であり、化学療法や放射線療法の効果も限定的である。また様々な免疫療法が試みられているが、その有効率は未だ十分とは言えない。

免疫系では悪性腫瘍に対して抑制的に機能する細胞と、促進的に機能する細胞が存在する。腫瘍に対して抑制的に機能する免疫細胞はnatural killer細胞、樹状細胞、細胞傷害性T細胞が知られており、複数の悪性腫瘍においてこれらの細胞浸潤の程度が良好な予後と関連すると報告されている。これに対して好中球、マクロファージ、形質細胞様樹状細胞、myeloid-derived suppressor cells、制御性T細胞は腫瘍に対して促進的に機能することが知られている。

メラノーマ、有棘細胞癌などの皮膚悪性腫瘍をはじめ、乳癌や消化管悪性腫瘍など多

くの癌腫では、リンパ管を介して腫瘍にリンパ節に転移し、その後遠隔転移することが知られている。これらの担癌患者における所属リンパ節は、転移の足場になるものとしてかつては否定的に捉えられる見方があった。実際、明らかなリンパ節転移がない症例についても、かつては予防的リンパ節郭清が選択されていた。メラノーマにおいてはランダム化比較試験の結果、予防的所属リンパ節郭清は生存期間の延長に寄与しないことが示され、現在は予防的リンパ節郭清の有益性は否定されている。一方でメラノーマにおける多変量解析の結果、所属リンパ節郭清における転移陽性リンパ節の割合は重要な独立予後規定因子であると報告されており、リンパ向性に腫瘍が転移することは病勢の進行と密接な関わりがあると考えられる。他方、腫瘍特異的な免疫については、*in vitro* で様々な研究がなされているが、リンパ灌流の障害モデルを用いて、リンパの流れの腫瘍免疫に対する影響をダイナミックに研究しているものはほとんどない。

我々はカポジ肉腫関連ヘルペスウイルスの遺伝子である *k-cyclin* を *vascular endothelial growth factor receptor 3* のプロモーターの下流に挿入してトランスジェニックマウスを作成した。この *k-cyclin* トランスジェニック (**kCYC^{+/+}**) マウスは全身のリンパ管の機能障害と皮膚の浮腫、乳糜胸水を呈する。今回我々は、リンパ灌流が障害された **kCYC^{+/+}** マウスに対して腫瘍を接種することでリンパ系が腫瘍に対する免疫応答にどのような役割を果たしているのか解析した。

kCYC^{+/+} マウスに対して B16 メラノーマ細胞または EL-4 リンパ腫細胞を接種したところ、いずれの細胞株においても腫瘍形成が促進された。また、リンパ流障害マウスにおいて、腫瘍の所属リンパ節転移が減少しているという結果が得られた。VEGF-C や VEGF-D を強発現する癌細胞をマウスに接種すると腫瘍内のリンパ管新生がみられ、リンパ節転移および遠隔転移が増加したとする研究結果から推察すると、逆に本研究の結果のようにリンパ灌流の減少が所属リンパ節転移の抑制をもたらすとしても矛盾はしないと考えられる。

また所属リンパ節におけるサイトカインを解析したところ、**kCYC^{+/+}** マウスにおいてサイトカインの発現が低下していることが示された。適応免疫の誘導において、naïve CD4⁺ T 細胞が抗原提示細胞によって抗原提示を受けると、活性化されてエフェクター T 細胞となり、サイト

カインを産生するようになる。上記の実験結果は、抗原提示が減少し T 細胞の活性化が減弱していることを反映している可能性が考えられた。そこで腫瘍抗原と抗原提示について検討したところ、リンパ流障害マウスの所属リンパ節において腫瘍抗原の流入が減少していること、および所属リンパ節における腫瘍抗原の提示が減弱していることが明らかになった。上記より、kCYC^{+/+}マウスで観察された腫瘍が増大する原因として腫瘍抗原および抗原提示が減弱していることが示唆され、その結果抗腫瘍免疫の低下を来たすことが推察された。そこで腫瘍に対する細胞障害活性をリンパ節および脾細胞を用いて解析したところ、kCYC^{+/+}マウス由来 CD8⁺ T 細胞の細胞傷害活性が減弱していることを *in vitro* および *in vivo* で明らかにした。これらの結果から、腫瘍特異的な免疫応答の成立には腫瘍由来の抗原がリンパ管を介して所属リンパ節にたどりつき、抗原提示されることが重要な役割を果たしていることが示された。

悪性腫瘍におけるリンパ管はリンパ節転移の主要な経路として認識されており、実際に所属リンパ節転移はメラノーマなどでは予後規定因子となりうる。しかしそれと同時に、腫瘍抑制的に機能する免疫応答の成立にもリンパ管が重要な役割を果たしていることが我々の研究で明らかとなった。メラノーマにおいては悪性腫瘍に対する治療として外科的切除、化学療法、放射線治療を適宜組み合わせて行う集学的治療が主流となっている。これに加えて腫瘍特異的な免疫応答を誘導して治療を行う免疫療法が研究されているが、臨床的に有効性のある治療として確立されるにはまだ解決すべき課題が多く残っている。本研究はまず第一に、不要なリンパ節郭清をしない方がむしろ予後をよくする可能性を示した点で重要である。また本研究で得られた知見を更に発展させることで、ケモカインに対する応答性などの違いを利用して抗原提示細胞のみを選択的に所属リンパ節に誘導する、あるいは腫瘍由来抗原のみを選択的にリンパ節に誘導し、抗原提示することができれば、より効率的な腫瘍免疫を実現できる可能性がある。あるいは腫瘍細胞内や周囲のリンパ管新生を抑制することで腫瘍の転移を抑制しつつ、腫瘍免疫を誘導することができれば免疫療法の発展に大きく貢献すると期待される。