



TITLE:

Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Ovarian Cancer Inhibits Tumor Immunity through the Accumulation of Myeloid-Derived Suppressor Cells(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Horikawa, Naoki

CITATION:

Horikawa, Naoki. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Ovarian Cancer Inhibits Tumor Immunity through the Accumulation of Myeloid-Derived Suppressor Cells. 京都大学, 2017, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2017-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20253>

RIGHT:

京都大学	博士（医学）	氏名	堀川直城
論文題目	Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Ovarian Cancer Inhibits Tumor Immunity through the Accumulation of Myeloid-Derived Suppressor Cells (卵巣癌における血管内皮増殖因子の発現は、骨髄由来免疫抑制性細胞の浸潤を介して腫瘍免疫を抑制している)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>卵巣癌における血管内皮増殖因子(VEGF)の高発現は、腫瘍血管新生に寄与し、不良な予後に関連することが知られている。一方、VEGFは細胞性免疫を抑制することが報告されているが、腫瘍免疫におけるVEGFの役割については不明である。本研究では、卵巣癌におけるVEGF発現が、骨髄由来免疫抑制性細胞(MDSC)を含む腫瘍免疫に与える影響を解析した。</p> <p>京都大学産婦人科にて手術を行った卵巣漿液性癌32症例の遺伝子発現マイクロアレイの解析を行ったところ、VEGF高発現の症例において、リンパ球関連シグナルの低下を認めた。卵巣漿液性癌56症例の同一患者における原発巣と腹膜播種巣それぞれに対し、VEGF、CD8、CD33(ヒトMDSCマーカー)の免疫染色を行ったところ、腹膜播種におけるVEGF発現はCD33+MDSC数と有意に相関($p<0.005$, $r=0.41$)していた。さらに、腹膜播種におけるCD33+MDSC数の多い症例は予後が不良($p<0.005$)であり、CD33+MDSC数は腫瘍内CD8+リンパ球数と逆相関($p<0.05$, $r=-0.29$)していた。卵巣漿液性癌患者の腹水からCD33+細胞を抽出し、活性化T細胞との共培養を行ったところ、顕著な増殖抑制効果を認めた。これらの事から、腫瘍が発現するVEGFはMDSCの誘導や抗腫瘍免疫の抑制に関与することが示唆された。</p> <p>次に、マウスモデルを用いて、VEGFとMDSC誘導の関連について解析を行った。HM-1マウス卵巣癌細胞株をB6C3F1マウスの皮下に投与し、形成された腫瘍内のMDSC(CD11b+Gr-1+細胞)のVEGF受容体の発現を解析したところ、VEGFR1、VEGFR2それぞれの発現を確認した。また、VEGFR2陽性MDSCは、VEGFR2陰性MDSCと比較して、免疫抑制マーカーであるArg1発現が有意に亢進していることが分かった。マウス骨髄細胞を用いたMDSC産生実験では、リコンビナントVEGFを添加するとMDSCの産生が亢進し、抗VEGF抗体の添加によりMDSC産生が低下した。また、トランスウェルを用いたMDSCの遊走実験では、抗VEGFR1抗体、抗VEGFR2抗体をそれぞれ添加した場合、抗VEGFR1抗体には遊走能の抑制効果は認められず、抗VEGFR2抗体において有意に遊走能の低下($p<0.05$)を認めた。</p> <p>さらに、HM-1のVEGF-A発現抑制株であるsh-Vegf-aを樹立し、皮下腫瘍モデルを作成したところ、sh-Vegf-a腫瘍におけるMDSCの減少($p<0.05$)、CD8+リンパ球の増加($p<0.05$)を認めた。また、sh-Vegf-a腫瘍内MDSCにおけるArg1発現は、sh-control腫瘍内MDSCにおけるArg1発現よりも低下していた。同モデルに対し抗Gr-1抗体を投与し腫瘍内のMDSCを減少させたところ、sh-control腫瘍における抗腫瘍効果を認めたが、sh-Vegf-a腫瘍に対する抗腫瘍効果は認められなかった。これは、VEGFが高発現の腫瘍に浸潤するMDSCが腫瘍進展に関わることを示している。</p> <p>本研究の結果から、卵巣癌において発現するVEGFは、VEGFR2シグナルを介してMDSCを腫瘍局所に誘導し、抗腫瘍免疫を抑制することによって、不良な予後に寄与することが分かった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本研究は、卵巣癌の予後不良因子である血管内皮増殖因子(VEGF)が、既知のメカニズムである腫瘍血管新生以外に、癌の免疫逃避機構にも関与しているかを基礎的に検討したものである。

京都大学医学部附属病院で初回手術を行った卵巣癌の遺伝子発現マイクロアレイ解析において、VEGFが高発現の腫瘍では免疫関連の遺伝子発現が抑制されていた。また、免疫組織染色による解析では、腹膜播種巣におけるVEGF発現と骨髄由来免疫抑制性細胞(MDSC)数に正の相関を認めた。さらに、ex vivoで卵巣癌腹水中のMDSCと共培養すると、T細胞増殖が抑制された。マウス卵巣癌細胞をマウス皮下に接種して生じた腫瘍を調べてみると、腫瘍浸潤MDSCにVEGF受容体2(VEGFR2)の発現を認めた。またex vivoにおいて、MDSCの遊走能は抗VEGFR2阻害抗体により抑制された。Vegf-a発現を抑制したマウス卵巣癌細胞株により作成した腫瘍内ではMDSCが減少しCD8+リンパ球が増加した。抗Gr-1抗体によりMDSCを除去して腫瘍形成能を検討したところ、Vegf-aが発現する腫瘍ではMDSC除去による腫瘍縮小効果を認めたが、Vegf-a発現が抑制された腫瘍ではMDSC除去による腫瘍縮小効果を認めなかった。

すなわち、卵巣癌が発現するVEGFは、MDSCを誘導して腫瘍免疫を抑制することにより腫瘍進展を促進していることが示唆された。

以上の研究は卵巣癌における免疫逃避機構の解明に貢献し婦人科腫瘍学の進歩に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成29年2月13日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降