胆道癌におけるFoxp3 発現とIgG4 組織反応

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2017-10-03 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 原田, 憲一, 木村, 康, 中沼, 安二 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/31523

胆道癌におけるFoxp3発現とIgG4組織反応

原田 憲一（はらだ けんいち）　木村 康（きむら やすし）　中沼 安二（なかぬま やすに）

金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理

要　旨：胆道癌症例の腫瘍部に種々の程度のIgG4陽性形質細胞を認め，癌腫瘍免疫に関連したIgG4組織反応と考えられている。IgG4組織反応の発生機序について検討した結果，胆管癌組織におけるFoxp3発現とIgG4組織反応との関連性が認められ，さらに胆管癌細胞株でFoxp3発現とIL-10 mRNA発現も確認された。癌細胞自身がTreg細胞類似の免疫抑制機序を有し，IgG4組織反応に関与している可能性が示唆された。《消化器と免疫 48：88–91, 2011》

Keywords：IgG4；腫瘍免疫；胆道癌；Foxp3

背　景

IgG4は，自己免疫性膵炎を代表とするIgG4関連硬化性疾患群の組織像を特徴付ける重要な免疫グロブリンサブタイプであるが，IgG4組織反応の発生機序や病的意義については未だ不明である。また，IgG4陽性形質細胞の浸潤は，IgG4関連疾患のみならず膵癌などの悪性腫瘍でも認められ[1,2,3,4]，癌関連免疫とIgG4反応の関連性が想定されている。我々は，胆道癌組織内に見られるIgG4組織反応について検討した結果，胆道癌においてもIgG4陽性形質細胞浸潤を伴う症例が存在し，IgG4反応はTreg細胞等を介した腫瘍免疫回避機構を反映している可能性を示唆した[5]。さて，IgG4陽性細胞の分化誘導および維持にTh2型サイトカインであるIL-4，IL-10が重要であり，またIL-10，TGF-β産生を特徴とするFoxp3陽性制御性T細胞（Treg細胞）の関与も示唆されている。一方，癌細胞自身がFoxp3を発現し，IL-10産生を介したTreg細胞類似の免疫抑制機序により腫瘍免疫回避に関与することが報告されている[6,7,8,9]。今回，胆道癌におけるIgG4組織反応の発生機序として癌組織におけるFoxp3発現との関連性について検討した。

方　法

対象は胆道癌（肝外胆管癌，胆嚢癌）56症例の外科的摘出組織で，ホルマリン固定パラフィン包埋切片を作成した。HE染色による組織学的観察に加え，IgG4，CD8およびFoxp3

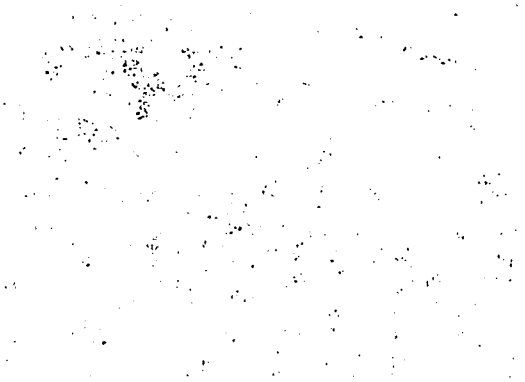

図1　胆道癌（胆嚢癌）のIgG4免疫染色
腫瘍組織内に多数のIgG4陽性細胞を認める。

図2　胆道癌（総胆管癌）のFoxp3免疫染色
N末端を認識する抗体を使用。Treg細胞と思われる単核球（矢頭）の他に，癌組織（矢印）にも発現を認める。

（N末端を認識する抗体を使用）の免疫染色を施行し，免疫染色陽性細胞の有無および組織学的分布について観察した。IgG4，CD8の免疫染色の半定量的評価法として，陽性細胞が目立つ代表的な部位を強拡大（HPF）にて3視野を選定し，IgG4陽性細胞数の平均を算定した。Foxp3発現は，Treg細胞と思われる浸潤単核球の他に癌組織部における発現を観察した。また，ヒト胆管癌培養細胞2株（HuCCT1〔ヒューマンサイエンス研究資源バンク，大阪〕CCKS1[10]）を用いて，Foxp3とIL-10のmRNAをRT-PCR法にて検出した。

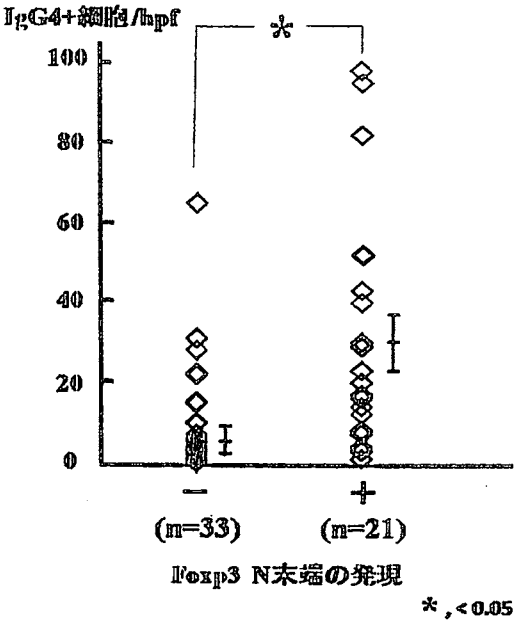

図3　胆道癌におけるFoxp3（N末端）発現とIgG4陽性細胞との関連
Foxp3陽性症例では陰性症例に比べて，有意にIgG4陽性細胞浸潤を高度に認める。

結　果

IgG4陽性細胞浸潤は胆道癌腫瘍の中心部に比し腫瘍辺縁部の間質浸潤部で目立つ傾向があったが，癌表面の粘膜固有層内にIgG4陽性細胞浸潤を伴う症例や非癌部胆道粘膜にもIgG4陽性細胞浸潤を伴う症例もあった（図1）。腫瘍部におけるIgG4陽性細胞数が10以上，20以上，50以上の症例が各々37%，28%，6%に見られた。また，CD8陽性の細胞障害性T細胞は腫瘍周囲および腫瘍細胞間に浸潤を認めたが，IgG4陽性細胞浸潤が10/HPF以上見られる症例では10/HPF未満の症例に比べ腫瘍細胞間に浸潤しているCD8陽性細胞が少ない傾向にあり，さらに予後も悪い傾向が見られた。腫瘍部におけるFoxp3の発現は核および細胞質に認められ（図2），Treg細胞の発現パターンである核発現のみ陽性と評価した結果，56例中陽性症例が21例（38%）であっ

た。さらに，腫瘍部におけるFoxp3発現とIgG4陽性細胞浸潤との関連性を検討した結果，Foxp3陽性症例におけるIgG4陽性細胞浸潤の程度はFoxp3陰性例に比べて高度であった(図3)。ヒト培養胆管癌細胞2株を用いた検討にて，癌細胞は2株ともFoxp3 mRNAを恒常的に発現していたが，一部のExon部を欠くsplicing variantの存在とFrame-shiftによるC末端での新規アミノ酸配列の存在が示唆された。また，癌細胞株2株中1株にIL-10 mRNAの発現を認めた。

考　察

IgG4はIgGの3%程度と最も少ないサブクラスであるが，IgG4関連疾患の患者では血中のIgG4が高値（通常135 mg/dl以上）となる。また，病変部でのIgG4陽性形質細胞の著明な浸潤も特徴であり，さらにIgG4陽性細胞浸潤部では硬化性病変やまれに腫瘤形成を伴うことから，IgG4関連疾患は常に腫瘍との鑑別が臨床病理学的に問題となる。また，IgG4反応または血清IgG4高値を伴う膵癌症例[1,2,3,4]やIgG4関連疾患を背景に発癌した膵癌，胆管癌症例[11,12]も報告されており，IgG4関連疾患と悪性腫瘍との鑑別は注意を要する。IgG4関連硬化性胆管炎の病態形成におけるIgG4へのクラススイッチまたはIgG4陽性細胞の増殖分化促進に，Th2型のサイトカイン環境やTreg細胞から産生されるIL-10の関与が想定されている[13,14,15]。以前我々は，胆道癌症例におけるIgG4反応について検討した結果，胆道癌症例にもIgG4反応を伴う症例があり，IgG4陽性形質細胞浸潤を伴う胆道癌症例では，Foxp3陽性Treg細胞の浸潤が目立つことを報告しており，胆管癌におけるTreg細胞を介した腫瘍免疫回避機構とIgG4組織反応との関連性を示唆した[5]。また，今回我々は腫瘍細胞自身がFoxp3発現を発現，さらにはIL-10を産生し，Treg細胞と同様な調節性機能を有することによりIgG4反応をきたす可能性を検討した。予備実験にてC末端を認識するFoxp3抗体ではTreg細胞と思われる単核球のみが染色され，胆管癌細胞における発現は全く認めなかったが，N末端を認識するFoxp3抗体では，Treg細胞に加え胆道癌症例の38%に核発現を認めた。Foxp3アイソタイプの存在が示唆されたため，培養胆管癌細胞を用いてmRNAレベルでの検討を施行した結果，胆道癌細胞はメラノーマ細胞で報告されているsplicing variant型のFoxp3[8]を発現しており，Frame-shiftによるC末端での新規アミノ酸配列の存在が示唆され，C末端を認識するFoxp3抗体では検出できないFoxp3であることと考えられた。転写因子としてのFoxp3機能については今後検討する余地はあるが，文献的に癌細胞培養株にてFoxp3発現とIL-10産生との関連性が報告されており[9]，また今回用いた胆管癌細胞株2株中1株にIL-10 mRNAの発現を認めたことより，Foxp3アイソタイプ発現とIL-10 mRNA発現との関連性が示唆され，調節性転写因子としての機能的発現が示唆された。

結　論

腫瘍組織にFoxp3の発現を示す胆道癌症例があり，IgG4陽性細胞浸潤との関連性も認められた。また，胆管癌培養細胞でFoxp3，IL-10の発現も確認され，癌細胞自身がTreg細胞類似の免疫抑制機序を有し，IgG4組織反応に関与している可能性が示唆された。

文献

1) Raina A, Krasinskas AM, Greer JB, et al: Serum immunoglobulin G fraction 4 levels in pancreatic cancer: elevations not associated with autoimmune pancreatitis. Arch Pathol Lab Med 132: 48-53, 2008.
2) Ghazale A, Chari ST, Smyrk TC, et al: Value of serum IgG4 in the diagnosis of autoimmune pancreatitis and in distinguishing it from pancreatic cancer. Am J Gastroenterol 102: 1646-53, 2007.

3) Kamisawa T, Chen PY, Tu Y, et al: Pancreatic cancer with a high serum IgG4 concentration. World J Gastroenterol 12: 6225-8, 2006.
4) Dhall D, Suriawinata AA, Tang LH, et al: Use of immunohistochemistry for IgG4 in the distinction of autoimmune pancreatitis from peritumoral pancreatitis. Hum Pathol 41: 643-52, 2010.
5) 木村康, 原田憲一, 中沼安二: IgG4陽性形質細胞浸潤を伴う胆道癌の病理学的検討. 消化器と免疫 47: 131-134, 2010.
6) Hinz S, Pagerols-Raluy L, Oberg HH, et al: Foxp3 expression in pancreatic carcinoma cells as a novel mechanism of immune evasion in cancer. Cancer Res 67: 8344-50, 2007.
7) Wang WH, Jiang CL, Yan W, et al: FOXP3 expression and clinical characteristics of hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol 16: 5502-9, 2010.
8) Ebert LM, Tan BS, Browning J, et al: The regulatory T cell-associated transcription factor FoxP3 is expressed by tumor cells. Cancer Res 68: 3001-9, 2008.
9) Karanikas V, Speletas M, Zamanakou M, et al: Foxp3 expression in human cancer cells. J Transl Med 6: 19, 2008.
10) Saito K, Minato H, Kono N, et al: Establishment of the human cholangiocellular carcinoma cell line (CCKS1). Kanzo 34: 122-129 (in Japanese), 1993.
11) Motosugi U, Ichikawa T, Yamaguchi H, et al: Small invasive ductal adenocarcinoma of the pancreas associated with lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis. Pathol Int 59: 744-7, 2009.
12) Oh HC, Kim JG, Kim JW, et al: Early bile duct cancer in a background of sclerosing cholangitis and autoimmune pancreatitis. Intern Med 47: 2025-8, 2008.
13) Zen Y, Fujii T, Harada K, et al: Th2 and regulatory immune reactions are increased in immunoglobin G4-related sclerosing pancreatitis and cholangitis. Hepatology 45: 1538-46, 2007.
14) Jeannin P, Lecoanet S, Delneste Y, et al: IgE versus IgG4 production can be differentially regulated by IL-10. J Immunol 160: 3555-61, 1998.
15) Koyabu M, Uchida K, Miyoshi H, et al: Analysis of regulatory T cells and IgG4-positive plasma cells among patients of IgG4-related sclerosing cholangitis and autoimmune liver diseases. J Gastroenterol 45: 732-41, 2010.

原田　憲一
（金沢大学大学院医学系研究科　形態機能病理）
〒920-8640　石川県金沢市宝町 13-1
TEL　076-265-2199 / FAX：076-234-4229