

The role of intraperitoneal macrophages in the progression of peritoneal carcinomatosis from gastric cancer

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-03 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/41374

胃癌癌性腹膜炎患者における腹腔内マクロファージの検討

山口 貴久 伏田 幸夫 柄田 智也 木下 淳 尾山 勝信
 渡邊 利史 岡本 浩一 中村 慶史 二宮 致 藤村 隆
 太田 哲生*

[*Jpn J Cancer Chemother* 41(10):1270-1272, October, 2014]

The Role of Intraperitoneal Macrophages in the Progression of Peritoneal Carcinomatosis from Gastric Cancer: Takahisa Yamaguchi, Sachio Fushida, Tomoya Tsukada, Jun Kinoshita, Katsunobu Oyama, Toshifumi Watanabe, Koichi Okamoto, Keishi Nakamura, Itasu Ninomiya, Takashi Fujimura and Tetsuo Ohta (Dept. of Gastroenterologic Surgery, Kanazawa University)

Summary

Tumor-associated macrophages (TAM) of the M2 phenotype (M2 macrophage) promote tumor proliferation and are associated with a poor prognosis in several tumors. We investigated the phenotype of macrophages in gastric cancer patients with peritoneal carcinomatosis (PC). Intraperitoneal macrophages were found more frequently in PC patients than in Stage I or II patients (control). CD163, an M2 macrophage surface marker, was detected in 71.7% of PC patients and 15.7% of controls. In addition, we examined whether macrophage markers were present in ascites caused by gastric cancer following intraperitoneal paclitaxel. The ratio of M2 macrophages decreased with every therapy. These findings indicate that intraperitoneal M2 macrophages may contribute to the progression of PC, and inhibition of M2 macrophages could be a promising treatment strategy. **Key words:** Macrophage, Gastric cancer, Peritoneal carcinomatosis

要旨 癌組織に浸潤するマクロファージには腫瘍促進作用を有するものが存在し、M2マクロファージと呼ばれている。胃癌癌性腹膜炎患者の腹腔内マクロファージの phenotype を評価した。胃癌癌性腹膜炎患者から採取した腹水あるいは腹腔洗浄液から細胞を回収し、比較対照群を Stage I, II 患者の腹腔洗浄液とした。CD45 (汎白血球マーカー)、CD68 (汎マクロファージマーカー)、CD163 (M2マクロファージマーカー) を染色し、フローサイトメトリーにて計測した。癌性腹膜炎患者の腹腔内には多量の腹腔内マクロファージが存在し、その約 71% と大部分が M2 マクロファージであることがわかった。また M2 マクロファージを多数有する Stage IV 症例の腹腔内マクロファージを継時的に検討したところ、パクリタキセルを含んだ腹腔内化学療法により、M2 マクロファージの比率が減少することがわかった。腹腔内マクロファージは腹膜播種増悪と関連しており、治療ターゲットとなることが示唆された。

はじめに

組織由来の単球は、組織修復、炎症、癌などの病的状態において、末梢血から組織内に動員されマクロファージとなることが知られている。マクロファージはその活性化状態によって、抗腫瘍効果を示す M1 マクロファージ (古典的マクロファージ) と腫瘍増殖、免疫抑制作用のある M2 マクロファージに大別される¹⁾。腫瘍組織内に浸潤するマクロファージの多くは、その微小環境によって M2 マクロファージが大部分を占めるとされてい

るが、胃癌癌性腹膜炎の腹腔内マクロファージに関しては十分明らかとなっていない。今回われわれは、癌性腹膜炎患者の腹腔内マクロファージの phenotype を評価した。

I. 対象

2013~2014 年の期間に経験した新規胃癌癌性腹膜炎患者 7 例を対象とした。比較対照群として胃癌 Stage I, II 患者 6 例とした。なお、本研究は金沢大学附属病院の倫理委員会の承認に基づき、患者の同意の下に行われた。

* 金沢大学・消化器・乳腺・移植再生外科

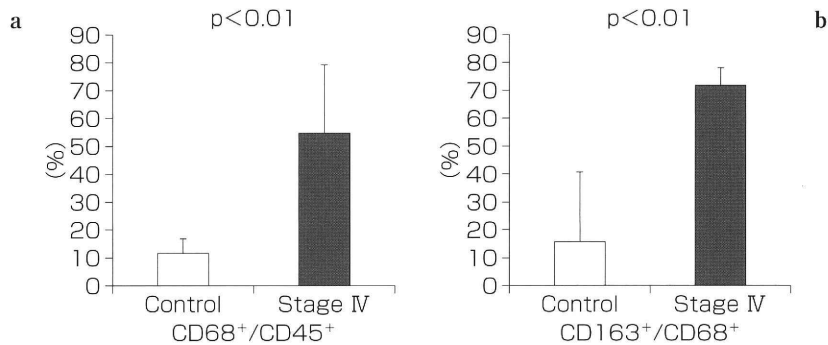


図1 癌性腹膜炎患者の腹腔内マクロファージの検討
 a: CD45 (汎白血球マーカー) 陽性細胞に占める CD68 陽性細胞 (汎マクロファージマーカー) の割合
 b: CD68 陽性細胞に占める CD163 (M2 マクロファージマーカー) 陽性細胞の割合

II. 方法

手術時に腹水あるいは腹腔洗浄液 (50 mL) を採取し、2,000 rpm, 5 分間で遠心分離を行い、腹腔内細胞を回収した。PE-Cy7 標識抗 CD45 抗体 (BD Biosciences), FITC 標識抗 CD68 抗体 (BD Biosciences), PE 標識抗 CD163 抗体 (BD Biosciences) を使用し、フローサイトメトリー法にてマクロファージの phenotype を評価した。

統計学的検定は χ^2 検定で行い、 $p < 0.05$ をもって有意差ありとした。

II. 結果

新規癌性腹膜炎患者 7 例は全例に審査腹腔鏡を施行し Stage IV と診断した。腹膜転移の程度は P1 2 例, P2 1 例, P3 は 4 例であった。また、腹水を有する患者は 7 例中 5 例 (71%) であった。比較対照群 5 例が Stage IA で腹腔鏡下幽門側胃切除術が行われ、1 例が Stage II A で開腹幽門側胃切除術が施行された。

腹腔内マクロファージのフローサイトメトリーの結果を図 1 に示す。CD45 (汎白血球マーカー) 陽性細胞に占める CD68 (汎マクロファージマーカー) 陽性細胞は比較対照群で 11.6% であったのに対し Stage IV 症例で 54.6% と有意にマクロファージが多かった ($p < 0.01$)。また、CD68 陽性細胞に占める CD163 (M2 マクロファージマーカー) 陽性細胞は比較対照群で 15.7%, Stage IV 症例で 71.7% と有意に M2 マクロファージが多かった ($p < 0.01$)。すなわち、癌性腹膜炎症例の腹腔内には多数のマクロファージが存在し、それらの多くは M2 マクロファージであることが示唆された。

III. 症例

腹腔内化学療法により腹腔内マクロファージの phenotype が変化した症例を提示する。症例は 37 歳、女性。

進行胃癌、肺転移、骨転移、腹膜播種の診断にて当科に紹介となった。審査腹腔鏡にて P2, 腹水少量, CY1 を認め治療開始となる。化学療法は患者同意の下に PHOENIX-GC regimen を施行した。PHOENIX-GC regimen は、1 コース 21 日とし、1, 8 日目にパクリタキセル 20 mg/m² を腹腔内投与、50 mg/m² を経静脈投与、S-1 80 mg/m² を 1~14 日に経口投与を行った。腹腔内化学療法時に、留置した腹腔ポートより腹水 50 mL 採取し、フローサイトメトリーにて CD45, CD68, CD163 を評価した。結果を図 2 に示す。化学療法開始後より腫瘍マーカー (CA125) は改善傾向を認めた。それに伴い、CD68 陽性マクロファージの割合は減少し、さらに CD163 陽性マクロファージマーカーの割合も減少した。また、腹水細胞診は 2 コース目開始時に陰性に転じたのを確認した。

IV. 考察

腫瘍組織内に浸潤する M2 マクロファージには細胞増殖、血管新生、浸潤、免疫抑制作用など腫瘍促進作用があるとされる¹⁾。そして様々な癌腫において、M2 マクロファージの存在と予後不良の報告がなされている²⁻⁴⁾。胃癌においても同様で、M2 マクロファージが組織内に多く存在する症例では予後不良との報告がある⁵⁾。

胃癌腹膜播種の腹腔内には多数の M2 マクロファージが存在することが本検討で明らかとなった。一般的な腹膜播種の形成は、胃壁から遊離した癌細胞と腹膜中皮細胞の接着から始まり、癌細胞が産生するサイトカイン (TGF- β) により中皮細胞の形態変化、癌細胞の腹膜下組織への浸潤、ファイブロサイトなどの骨髄由来細胞との相互作用による播種の増悪が生じるとされている^{6,7)}。マクロファージは IL-4, IL-10, IL-13 などのいわゆる Th2 サイトカインにより STAT3 を介して M2 マクロファージへと分化することが報告されている⁸⁾。すなわち、胃癌癌性腹膜炎の病態において動員されたマクロファージは、腹腔内癌微小環境により M2 マクロファージ

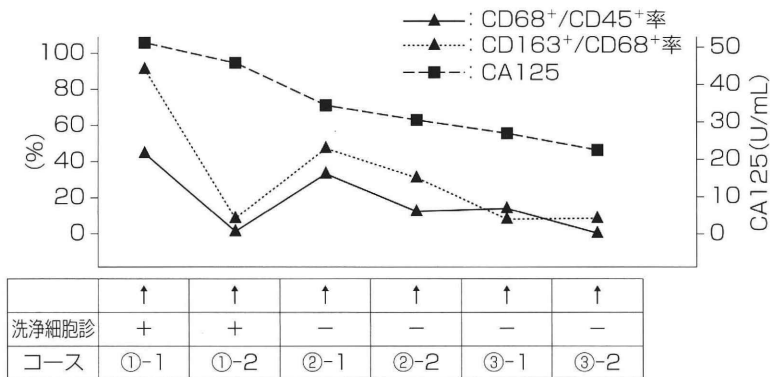


図 2 化学療法に伴う腹腔内マクロファージの継時的変化

ジへの分化が起こると考えられた。さらに M2 マクロファージへと分化したマクロファージは、癌細胞との相互作用により腫瘍促進作用を生じるものと推察される。

本検討では、化学療法を行うことで腹腔内マクロファージの phenotype が変化し、M2 マクロファージの比率が低下することが明らかとなった。本症例で使用したパクリタキセルは、Toll-like receptor 4 (TLR4) のアゴニストであることが知られている⁹⁾。TLR4 はグラム陰性菌の感染時に産生されるリポ多糖 (LPS) の受容体であるが、M1 マクロファージの分化誘導は主に TLR4 を介して起こることが報告されている¹⁰⁾。パクリタキセルは抗癌剤として癌細胞に直接作用するだけでなく、胃癌癌性腹膜炎において誘導された M2 マクロファージを M1 マクロファージへ形質転換した可能性が予想された。

以上より、胃癌癌性腹膜炎の病態進行にはマクロファージが関与していることが考えられ、マクロファージをターゲットとした治療法の開発が望まれる。

文 献

- Galdiero MR, Garlanda C, Jaillon S, *et al*: Tumor associated macrophages and neutrophils in tumor progression. *J Cell Physiol* **228**(7):1404-1412, 2013.
- Steidl C, Lee T, Shah SP, *et al*: Tumor-associated macrophages and survival in classic Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* **362**(10):875-885, 2010.
- Cramer T, Yamanishi Y, Clausen BE, *et al*: HIF-1 α is essential for myeloid cell-mediated inflammation. *Cell* **112**(5):645-657, 2003.
- Fujimoto J, Sakaguchi H, Aoki I, *et al*: Clinical implications of expression of interleukin 8 related to angiogenesis in uterine cervical cancers. *Cancer Res* **60**(10):2632-2635, 2000.
- Ishigami S, Natsugoe S, Tokuda K, *et al*: Tumor-associated macrophage (TAM) infiltration in gastric cancer. *Anticancer Res* **23**(5A):4079-4083, 2003.
- Tsukada T, Fushida S, Harada S, *et al*: The role of human peritoneal mesothelial cells in the fibrosis and progression of gastric cancer. *Int J Oncol* **41**(2):476-482, 2012.
- Terai S, Fushida S, Tsukada T, *et al*: Bone marrow derived "fibrocytes" contribute to tumor proliferation and fibrosis in gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2014. [Epub ahead of print]
- Takaishi K, Komohara Y, Tashiro H, *et al*: Involvement of M2-polarized macrophages in the ascites from advanced epithelial ovarian carcinoma in tumor progression via Stat3 activation. *Cancer Sci* **101**(10):2128-2136, 2010.
- Zimmer SM, Liu J, Clayton JL, *et al*: Paclitaxel binding to human and murine MD-2. *J Biol Chem* **283**(41):27916-27926, 2008.
- Sica A and Mantovani A: Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest* **122**(3):787-795, 2012.

本論文の要旨は第 35 回癌免疫外科研究会において発表した。