

## P1-9-7 卵巣癌腹水中 T 細胞における免疫チェックポイント分子の発現

埼玉医大国際医療センター<sup>1</sup>, 横浜市立大<sup>2</sup>今井雄一<sup>1</sup>, 長谷川幸清<sup>1</sup>, 新谷大輔<sup>1</sup>, 佐藤 翔<sup>1</sup>, 西川忠暁<sup>1</sup>, 花岡立也<sup>1</sup>, 黒崎 亮<sup>1</sup>, 平原史樹<sup>2</sup>, 藤原恵一<sup>1</sup>

【目的】近年免疫チェックポイント阻害剤と呼ばれる抑制性の免疫環境を解除する新しいクラスの薬剤が開発され、一部のがんで臨床効果を示している。本研究では卵巣癌における免疫チェックポイント分子の発現を明らかにし、治療標的としての可能性および抑制性免疫環境との関係を検討する。【方法】倫理委員会承認のもと、卵巣癌患者 38 例の腹水を用いて腹水細胞を蛍光標識された抗体のパネルを用いて染色し、フローサイトメーターを用いて CD3, CD4, CD8, CD14, CD45, CD56, FOXP3, HLA-DR, EpCAM 等によりその細胞組成を解析した。次に T 細胞における免疫チェックポイント分子 PD-1, Tim-3, LAG-3, BTLA の発現について解析し、腹水中の抗腫瘍免疫活性に関係するサイトカイン IFN, TNF, IL4, IL6, IL12, MIP1 に関しては ELISA 法で測定した。【成績】解析可能な生細胞が得られた 29 例について検討した。CD4T 細胞における PD-1, LAG-3, Tim-3, BTLA の中央値はそれぞれ 62.8%, 8.5%, 3.7%, 58.2% であった。一方、CD8T 細胞では 57.5%, 4.9%, 4.9%, 22.5% であった。また、免疫チェックポイント分子の発現が低い群では IFN $\gamma$  や TNF $\alpha$  が高値の傾向であった。PD-1 と Tim-3 の発現は CD4, CD8T 細胞両方で正の相関が認められた。【結論】卵巣癌腹水 T 細胞には、免疫チェックポイントの発現を認め、サイトカインからも抑制性の免疫環境を反映していると考えられた。このことは卵巣癌における免疫チェックポイント阻害剤の有効性を支持すると考えられた。

## P1-9-8 エストロゲン応答性転写因子 FOXP1 は上皮性卵巣癌の予後因子になり得るか？

弘前大

横山良仁, 水沼慎人, 小林麻美, 三浦理絵, 重藤龍比古, 二神真行, 水沼英樹

【目的】FOXP1 は Forkhead ドメインを有する転写調節因子群に属する転写因子であり、癌の発生に密接に関わっている。癌における FOXP1 の役割には組織によって違いがあり、B 細胞性リンパ腫では癌の増悪に、肺癌では癌の進展抑制に機能しているという報告がある。一方、FOXP1 はエストロゲン受容体応答タンパク質であるが FOXP1 の卵巣癌に関する役割は報告されていない。本研究では卵巣癌での FOXP1 の発現の程度と臨床病理学的因子との関係について評価を行い、FOXP1 が卵巣癌の予後因子となり得るかを検討した。【方法】2006 年から 2010 年の 5 年間に当科で手術が施行され、予後が判明している 75 例の卵巣がん組織を用い、抗 FOXP1 抗体による免疫染色を行った。核内の染色強度について陰性を -, 弱陽性を ±, 中等度陽性を +, 強陽性を ++ とした。IRB の承認のもと症例の染色強度と臨床病理学的パラメーターならびに再発の有無、化学療法の反応性、予後との相関について chi square test, Kaplan-Meier 法を用いて解析した。解析上陰性/弱陽性と中等度陽性/強陽性の 2 群に分けた。【成績】FOXP1 陰性/弱陽性は 30 例 40%, 中等度陽性/強陽性は 45 例 60% であった。臨床進行期、組織型、リンパ節転移、残存腫瘍径と FOXP1 染色強度との間に相関はなかった。III/IV 期症例 (n=34) では、CR 率と FOXP1 染色強度との間には有意な相関はなかったが、CR に至った症例 (n=26) の中でその後再発した症例 (n=17) は、再発しなかった症例 (n=9) に比べ FOXP1 の発現は有意に増加していた (P<0.05)。また無病生存期間は FOXP1 中等度陽性/強陽性群で有意に短かった (P<0.05)。【結論】卵巣癌の FOXP1 の発現程度は再発の予後因子になり得る可能性が示唆された。

## P1-10-1 Lipocalin2 は CD44 variant 発現を介して卵巣明細胞腺癌細胞の酸化ストレス耐性を増強する

信州大

山田 靖, 宮本 強, 小原久典, 浅香亮一, 安藤大史, 樋口正太郎, 鹿島大靖, 塩沢丹里

【目的】子宮内膜症においては、嚢胞内に蓄積した遊離鉄からの活性酸素種 (ROS) 産生による過剰な酸化ストレスが発癌に寄与するとされるが、酸化ストレスは同時に細胞死も誘導するため、子宮内膜症関連癌では酸化ストレスを軽減する機能が存在すると考えられる。我々は、卵巣明細胞腺癌 (OCCC) で鉄輸送蛋白 Lipocalin2 (LCN2) が高発現していることを見出した。本研究では OCCC 細胞株における LCN2 発現と酸化ストレス耐性との関連に注目し、特に、癌幹細胞マーカーである CD44 variant (CD44v) 発現との関連を検討した。【方法】OCCC 細胞株 ES2 に LCN2 cDNA を導入し、LCN2 安定強発現細胞 (ES2-LCN2) を作成した。酸化ストレスとして過酸化水素を添加し、ROS を DCFH-DA 蛍光で、酸化ストレスマーカーである 8-OHdG 発現を蛍光免疫染色で、apoptosis を annexin V 蛍光染色で、24 時間後の細胞生存率を WST1 assay により評価し、LCN2 高発現および組み換え LCN2 (rLCN2) 添加の効果を検討した。また抗酸化酵素発現や抗酸化物質であるグルタチオン量や、グルタチオン産生に関与する CD44v, xCT 発現を評価した。【成績】ES2-LCN2 細胞および rLCN2 添加では、コントロールと比較し過酸化水素添加後の ROS や 8-OHdG 発現, apoptosis が減少し、さらに細胞生存率は 152% 増加した (P<0.05)。抗酸化酵素発現に変化を認めなかったが、ES2-LCN2 細胞ではコントロールより細胞内のグルタチオン濃度が高く (P<0.001), CD44v, xCT 蛋白発現の上昇を認めた。【結論】LCN2 は OCCC 細胞において、CD44 variant, xCT 発現上昇を介して細胞内のグルタチオン量を増加させ、酸化ストレス耐性を増強すると考えられた。