

本吉康英論文内容の要旨

主 論 文

Different mechanisms for anti-tumor effects of low-and high-dose cyclophosphamide

「高用量・低用量シクロフォスファミドによる抗腫瘍効果の機序の相違」
本吉康英、神之田和久、斉藤巨樹、濱崎圭輔、中尾一彦、石井伸子
永山雄二、江口勝美

(Oncology Reports 16(1) : 141-146, 2006)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：江口勝美教授)

緒 言

シクロフォスファミド(以下 CTX)はアルキル化を機序とする細胞障害性を持つ抗癌剤であるが、免疫を負に調節する CD4⁺CD25⁺制御性 T 細胞を除去する免疫調整効果があることも知られている。しかし、その至適濃度については十分に検討がなされていない。我々は低用量・高用量 CTX の CD4⁺CD25⁺T 細胞数抑制効果をマウスで検討した。次に腫瘍免疫における CTX の抗腫瘍効果を肝癌(MH129)モデルマウスで検討した。

対象と方法

低用量 (20 mg/kg) 或いは高用量 CTX (200 mg/kg) を C3H/HeN マウスに腹腔内投与し、脾細胞中の CD4⁺T 細胞、CD8⁺T 細胞、CD4⁺CD25⁺T 細胞の数・比率を経時的に検討した。T 細胞サブセットは抗 CD4 抗体、抗 CD8 抗体、抗 CD25 抗体で標識し FACS で検討した。次に C3H/HeN (MH129 と同系)、またはヌードマウスで MH129 皮下腫瘍モデルを作成し、これらに CTX を腹腔内投与し抗腫瘍効果を検討した。また、腫瘍組織を HE 染色しリンパ球浸潤の程度を比較した。さらに MACS で精製した同系統マウスの CD4⁺CD25⁺T 細胞の Adoptive transfer でこの抗腫瘍効果が消失するかを検討した。また、抗 CD25 抗体(PC61)による CD4⁺CD25⁺制御性 T 細胞除去の抗腫瘍効果と比較した。

結 果

- (1) 低用量 CTX 群では高用量 CTX 群に比べると、CD4⁺T 細胞や CD8⁺T 細胞の減少は明らかに軽減しており、かつ 4 週ではほぼ回復していた。CD4⁺CD25⁺T 細胞の減少は両群間で同程度であった。その結果として、CD4⁺CD25⁺/CD4⁺ T 細胞の比率は低用量 CTX 群においてより低く保たれていた。
- (2) C3H/HeN マウスの MH129 皮下腫瘍モデルに対し、腫瘍接種後 7 日目に高用量または

低用量 CTX を腹腔内投与したところ、両群で同等の抗腫瘍効果が認められた。しかし同じ検討をヌードマウスの皮下腫瘍モデルで実施すると、低用量 CTX 群では抗腫瘍効果は認められなかった。C3H/HeN 皮下腫瘍モデルでの低用量 CTX の抗腫瘍効果は、CD4⁺CD25⁺T 細胞の adoptive transfer で消失した。また、C3H/HeN 皮下腫瘍モデルの腫瘍組織を検討したところ、低用量 CTX では腫瘍組織内にリンパ球浸潤が強かった。

- (3) CD4⁺CD25⁺T 細胞を除去する別の方法として、抗 CD25 抗体 (PC61) による同細胞群の除去を検討した。まず基礎検討で PC61 の投与により CD4⁺CD25⁺T 細胞が除去される事を確認し、C3H/HeN 皮下腫瘍モデルにおける PC61 と低用量 CTX の抗腫瘍効果を比較・検討した。低用量 CTX 投与群では腫瘍接種後投与で、PC61 投与群では腫瘍接種前投与で抗腫瘍効果は高かった。

考 察

CTX による CD4⁺CD25⁺制御性 T 細胞抑制に関しては以前から報告されており、免疫調整効果のある量として 10 mg/kg から 300 mg/kg まで報告されている。今回我々は、20 mg/kg (低用量) と 200 mg/kg (高用量) の 2 つの濃度で比較検討した。高用量では CD4⁺T 細胞や CD8⁺T 細胞の数が 90% 以上減少するのに対し、低用量ではその減少が 50% 未満と軽度であった。しかし CD4⁺CD25⁺T 細胞数は同程度に抑制されており、低用量 CTX が CD4⁺CD25⁺T 細胞を選択的に抑制する事を示した。

この CD4⁺CD25⁺T 細胞の選択的抑制が制御性 T 細胞の抑制であることを証明するために腫瘍モデルで検討を実施した。結果として低用量 CTX における抗腫瘍効果は、CD4⁺CD25⁺制御性 T 細胞の除去による抗腫瘍免疫増強であり、高用量 CTX の効果は薬剤の細胞障害性によるものと考えられた。

治療的手段として考える場合、適切な薬剤投与時期を明確にすることは重要である。低用量 CTX 群では腫瘍接種後投与でより強い抗腫瘍効果が認められた。対称的に、抗 CD25 抗体群では腫瘍接種前投与でより強い抗腫瘍効果を示した。その理由として、抗 CD25 抗体では CD25⁺を示す活性化された CD4⁺T 細胞も除去される事が考えられた。治療的利用を考えると低用量 CTX のほうが優れていると思われた。

また、CTX による CD4⁺CD25⁺制御性 T 細胞抑制に関してはヒトにおいても報告があり、マウスより低い濃度が至適とされているが、同様の効果を持つとされている。

このように低用量 CTX は、免疫学的な機序を介し抗腫瘍効果を発揮する可能性がある。これは、免疫療法と抗癌剤治療の組み合わせ療法の可能性という観点から重要である。今後 CTX を介した CD4⁺CD25⁺制御性 T 細胞の抑制メカニズムが判れば、新しい抗癌治療につながるものとなるかもしれない。