

**【目的】** 大腸がんは肺や肝臓に転移しやすく、両臓器に転移が認められる場合、5年生存率は12.7%と予後不良である。近年、抗腫瘍免疫応答を再活性化する免疫チェックポイント阻害剤により、一部の患者において予後を改善する結果が得られているものの、未だ大多数で効果が認められず、新規治療戦略の提案が急務である。我々は、転移性がん細胞の排除を担うとされるNK細胞に着目している。前立腺がんやメラノーマにおいて、NK細胞が転移を抑制することが示唆されている。しかしながら、NK細胞はMHCクラスIをリガンドとする抑制性受容体を発現するため、MHCクラスI陽性の固形がんにおけるNK細胞浸潤の重要性については不明な点も多い。さらに、網羅的解析技術の進歩とメタ分析により、乳がんや大腸がんなど一部の固形がんにおいて、NK細胞の浸潤が多い患者で有意に死亡率が低下することが報告されたが、NK細胞浸潤を制御するメカニズムについても同様に明らかになっていない。そこで、本研究では、転移性大腸がん患者検体を用いた、原発巣浸潤NK細胞の機能解析及び腫瘍内浸潤メカニズムの解明により、大腸がんの転移を抑制する新規治療法の樹立を目的とする。

**【方法】** 原発巣の病理組織標本FFPEを用いた多重免疫染色により、NK細胞を始めとした腫瘍内浸潤免疫細胞の局在及び機能を解析した。同時に、NK細胞ががん細胞を排除する際に必要とする活性化受容体のリガンド(NKG2DL、CD155、B7-H6など)の発現についても検証した。同一患者由来の原発巣浸潤免疫細胞と末梢血単核細胞のフローサイトメトリー解析により、NK細胞サブセットの機能解析、浸潤を制御すると予想されるケモカインレセプター及び接着因子の発現を解析し、NK細胞浸潤と相関する因子を探索した。NK細胞の浸潤能について、トランズウェルやフローサイトメトリー法により評価した。さらに、NK細胞の浸潤能を制御する因子の網羅的探索のため、血漿プロテオーム解析を行った。

**【結果】** FFPEを用いた多重免疫染色では、転移のない患者に比べて、転移のある患者では、NK細胞浸潤が少なかった。さらに活性化リガンドであるB7-H6の発現レベルとNK細胞浸潤には負の相関があることが明らかになり、B7-H6陽性のがん細胞を優先的に排除している可能性が示唆された。フローサイトメトリー解析では、原発巣浸潤NK細胞が少ない患者では、末梢血NK細胞のケモカインレセプターXの発現が低下していることがわかった。さらに、その患者集団の血漿を、健常者末梢血NK細胞に処置すると、Factor Xの発現が低下した。数種類の大腸がん細胞株の培養上清を用いた同様の実験系においても同様に、NK細胞のFactor Xの発現を低下させる細胞株が同定された。患者血漿プロテオーム解析を行い、24種類のタンパク質が同定されたが、NK細胞の浸潤を制御する因子の特定には至っておらず、解析中である。

本研究の概略図

