

## 論文内容の要旨

報告番号		氏名	右田 和寛
Significant involvement of herpesvirus entry mediator in human esophageal squamous cell carcinoma ヒト食道扁平上皮癌におけるherpesvirus entry mediator関与の重要性			

### 論文内容の要旨

【目的】 Herpesvirus entry mediator (HVEM)は、T細胞上に発現する BTLA や CD160 と結合することで T細胞機能を抑制する。一方で、T細胞上の HVEM に、LIGHT や LT $\alpha$ が結合することで T細胞は活性化されることが知られている。また HVEM は、免疫担当細胞だけでなく肺、肝、腎などの非リンパ系組織での発現が確認されている。さらに、いくつかの癌腫における HVEM 発現が報告されているが、未だその役割は明らかではない。今回我々は、食道扁平上皮癌における HVEM 発現の臨床的意義を明らかにするとともに、RNA 干渉法を用いて腫瘍環境下での機能解析を行った。

【方法及び結果】 食道扁平上皮癌 103 例の切除標本を用いて、HVEM モノクローナル抗体で免疫組織染色を行い、HVEM 発現レベルと臨床病理学的因子、予後との関連を検討した。その結果、HVEM 高発現腫瘍は低発現腫瘍に比べ、有意に腫瘍径が大きく、壁深達度が深く、さらにリンパ節転移頻度が高率であった。HVEM 高発現腫瘍患者の 5 年全生存率は 18.3% と低発現腫瘍患者の 49.6% に比べ有意に不良であった。多変量解析の結果、HVEM 発現は、独立した予後因子であった。さらに、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)との関連を検討した結果、HVEM 発現レベルは、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD45RO<sup>+</sup>TIL 数と有意な負の相関を示した。次に、in vitro 実験系でヒト食道扁平上皮癌株 TE-1 および TE-6 の HVEM 発現を siRNA を用いてノックダウンした。MTS アッセイの結果、HVEM ノックダウン細胞株はコントロールに比べ、有意に増殖能が低下していた。細胞周期解析を行ったところ、HVEM ノックダウン細胞株では S 期、G2/M 期の細胞割合が有意に増加していた。さらに、in vivo での HVEM の役割を検討した。BALB/c マウスに同系マウスの大腸癌株 Colon 26 を  $1 \times 10^6$  個皮下に植え込み、皮下腫瘍モデルを作成した。腫瘍塊が確認できる Day 3 から HVEM siRNA の腫瘍局所への投与を週に 2 回計 4 回行った。その結果、HVEM siRNA 投与群はコントロール群に比べて腫瘍増殖が有意に抑制された。病理学的検討により、HVEM siRNA 投与群ではコントロール群に比べ腫瘍の壊死割合が有意に高く(35.2% vs 10.2%)、Ki67 陽性細胞の割合が有意に低い(34.5% vs 64.8%)ことが明らかとなった。さらに、HVEM siRNA 投与群では腫瘍浸潤 CD8<sup>+</sup>リンパ球数が有意に増加しており、real-time PCR 解析の結果、腫瘍局所における IFN- $\gamma$  および IL-2 発現が有意に上昇しており、局所の免疫活性とも関連がみられた。

【結語】HVEM 発現レベルは腫瘍増殖・進展や腫瘍浸潤リンパ球数と有意に関連しており、食道扁平上皮癌患者の予後予測因子となる可能性が示唆された。腫瘍上の HVEM は、増殖に関与するだけでなく、宿主免疫からの回避にも寄与することが示唆された。HVEM を標的とする治療の臨床応用は、難治癌に対する新たな癌治療法として、非常に期待し得る。