

【研究区分：先端的研究】

| | |
|---|--------------------------------|
| 研究テーマ：免疫チェック阻害薬による大腸癌治療効果は低濃度アルコール摂取により増強する | |
| 研究代表者：地域創生学部 地域創生学科 健康科学コース 教授 北台靖彦 | 連絡先：kitadai@pu-hiroshima.ac.jp |
| 共同研究者：総合学術研究科 人間文化学専攻 大学院生 田中雅晴 | |
| 【研究概要】 アルコールは多量に摂取すると、癌発生のリスクが上昇すると考えられているが、疫学的検討では、低濃度のアルコールの摂取では、むしろ癌リスクの低下や寿命の延長がみられるとの報告もある（癌のJカーブ効果）。低濃度（0.5%）アルコール摂取により引き起こされる腫瘍微小環境の免疫系の変化が免疫チェックポイント阻害剤の抗腫瘍効果に影響するとの仮説の下に、大腸癌同所移植モデルを用い、低濃度アルコールの経口摂取と免疫チェックポイント阻害剤の併用実験を行った。 | |

【背景・目的】

2020年の世界の臓器別によるがん統計では、大腸癌は年齢調整罹患率において男性3位、女性2位と、男女ともに上位を占めている。大腸癌の死亡原因は転移が大部分を占める。したがって癌転移の成立機序の解明が急務である。癌の転移は、抗腫瘍免疫能の抑制とともに、増殖、浸潤、遊走、血管新生などの促進といった、多段階のステップを経て成立すると考えられている。転移巣の形成は、転移臓器の微小環境に影響を受ける。間質には繊維芽細胞、血管内皮細胞、リンパ管内皮細胞、そしてリンパ球やマクロファージ等の免疫細胞などが、臓器特異的な環境（臓器微小環境(TME)）を形成している。

近年の腫瘍免疫領域研究のめざましい発展により、免疫チェックポイント阻害剤が臨床の場に登場した。T細胞の表面に発現するPD-1と癌細胞に存在するPD-L1が結合すると、T細胞から癌細胞への攻撃は抑制される。抗PD-1抗体は、PD-L1とPD-1の結合を阻害することで、T細胞から癌細胞への攻撃を促進する薬剤である。最近、我々は低濃度（0.5%）のアルコールの経口投与により、腫瘍内にCD8陽性T細胞が浸潤することを見出し、細胞性免疫の誘導が抗PD-1抗体の腫瘍抑制効果に影響していることを報告した(Kimoto et.al.)。

本研究では低濃度アルコール摂取により誘導される臓器微小環境が、免疫チェックポイント阻害剤の抗腫瘍効果を増強させるかどうかを、マウス大腸がん同所移植モデルを用いて検討し、その分子メカニズムに関し考察した。

【方法】

動物実験：BALB/cマウス(生後6週齢)に、BALB/cマウス同系の大腸癌細胞、CT26細胞を使用した。臓器微小環境の影響を考慮し、CT-26細胞 1.0×10^6 個/50 μ lを、マウス盲腸壁に同所移植した。その後、抗PD-1抗体、あるいはIgG(controlとして)を、週に1度、腹腔内に投与した。また、以下の4群に分けるため0.5%(v/v)エタノール、またはイオン交換水を飲水させた。

- A：コントロール群
- B：低濃度アルコール摂取群
- C：抗PD-1抗体治療群
- D：低濃度アルコール、抗PD-1抗体併用群

【研究区分：先端的研究】

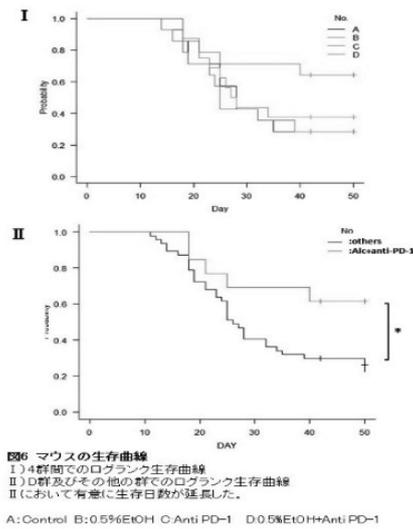


図1 マウス生存曲線

①各群について、毎週体重を測定した。抗体の腹腔内投与は合計5回行い、6週時点で解剖を行った。腫瘍組織を摘出し、重量と体積を計測した。6週以前に死亡したマウスに関しては、死亡直後に腫瘍重量と体積を計測した。

②免疫染色：蛍光二重免疫染色、多重蛍光免疫染色

③CD8 抗体(腫瘍内浸潤 CD8 陽性 T 細胞)、CD4 抗体 Ki67 抗体(細胞増殖能)、CD31 抗体(血管新生能)

④データ解析：体重比較(T 検定)、腫瘍体積 (U 検定)

【結果・考察】

- ① *in vitro* 条件下では、抗 PD-1 抗体は癌細胞株の増殖に影響を与えなかった。
- ② マウスの生存曲線：低濃度アルコール摂取と抗 PD-1 抗体の併用群(D)のマウスではその他の群のマウスに比し、有意差を持って生存期間の延長を認めた(図1)
- ③ 原発腫瘍の重量と体積は併用群(D)で最も小さかった。
- ④ TIL (腫瘍内浸潤リンパ球) は、CD8 陽性 T 細胞(キラーT細胞)、CD4 陽性 T 細胞(ヘルパーT細胞)の有意な増加が見られ、FOXP3 陽性 T 細胞(制御性 T 細胞)は減少傾向が見られた。
- ⑤ 腫瘍内浸潤マクロファージ (TAM) : D 群において、CD68 陽性マクロファージ(全マクロファージ)数が多く、M1 マクロファージへの分極傾向が顕著であった。
- ⑥ 細胞増殖能 (Ki67LI) と微小血管密度 (CD31) は共に、アルコール/PD-1 併用療法により有意に抑制されていた。

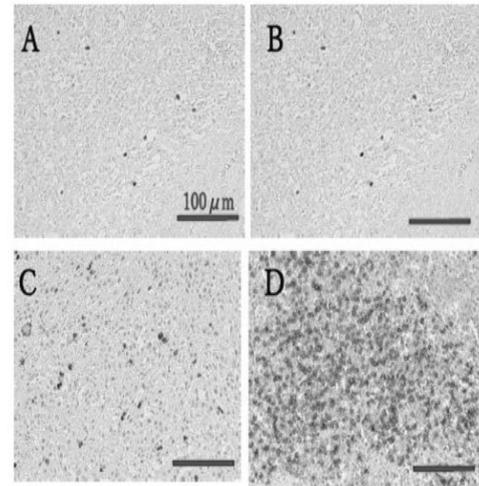


図2 各群腫瘍内の CD8 免疫染色

以上のことから、免疫チェックポイント阻害薬による大腸癌治療効果は低濃度アルコール摂取により増強することが示された。低濃度アルコール摂取による細胞性免疫の活性化やマクロファージの分極異常が、どのように影響を及ぼすのか、更なる検討が必要である。

【研究業績】

- ① Kimoto A and Kitadai Y, et al. Low-dose alcohol-induced inhibition of mouse orthotopically Transplanted tumors is associated with T-cell response. Pathobiology, 2022: p.1-9
- ② Lymphangiogenesis in the Deepest Invasive Areas of Human Early-Stage Colorectal Cancer. Tanaka M and Kitadai Y et.al. Int J Mol Sci. 2025 Apr; 26(7): 2919. Published online 2025 Mar24. <https://doi.org/10.3390/ijms26072919>