

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08659

研究課題名(和文) 胃がん休眠と晩期再発の早期診断法の開発

研究課題名(英文) Diagnostic procedure and treatment of late recurrence and tumor dormancy

研究代表者

笹子 三津留 (SASAKO, MITSURU)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：40143490

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：進行胃がん組織から分離培養したがん間質細胞と胃がん再発患者血清の解析からVEGFなどを介した血管新生とがん休眠に關与するCCL2/CCR2 axis阻害が病勢進行に關与していることが明らかになった。臨床研究としてCCL2/CCR2 axis阻害薬であるプロパゲルマニウムを胃がん再発患者15名に投与した結果、全生存期間の延長傾向を認めた。また、治療効果を認めた症例における血清中VEGF-A濃度は低く、末梢血中のcytolytic NK細胞の活性化が見られることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We isolated cancer-associated fibroblast and normal fibroblast from advanced gastric cancer tissue. VEGF isoform and CCL2, which were secreted from fibroblasts, were concerned with a clinical course of gastric cancer patients. We performed a clinical study (UMIN 00017123) for relapsed or metastatic gastric cancer patients. It became clear that CCL2/CCR2 axis inhibition by Propagermanium improved overall survival to participate in immunopotentiative effects and tumor dormancy.

研究分野：外科学

キーワード：がん間質 線維芽細胞 休眠 がん免疫

### 1. 研究開始当初の背景

がん間質反応によって早期再発リスクが評価できるが、晩期再発の有効な診断法はない。スキルス胃がんに見られるように、浸潤・転移能が高い腫瘍はがん間質が豊富であり間質反応が腫瘍の悪性度に影響すると考えられる。われわれは、胃がん間質細胞のプロテオーム解析などから、浸潤部におけるエフリン A2 受容体 (以下 EPHA2) の過剰発現に注目した。浸潤部における間質細胞と胃がん細胞の両者による EPHA2 陽性複合体の形成を IC/A2 陽性として、胃がん治癒切除 107 症例の予後解析を行った。IC/A2 陽性では、術後補助化学療法にも関わらず早期かつ高頻度に再発しており、早期再発リスク評価法として有用であった (Gastric Cancer, 2014)。現在は実用化に向けた Validation study を行っている。しかし、晩期再発の機序は不明であり、適切な診断法がないことは臨床的に大きな問題である。腹腔内やがん組織が低酸素環境であることは良く知られている。我々は低酸素環境における細胞動態を定量解析するために、放射線医学総合研究所との共同研究で 4 次元細胞動態定量解析法を開発した。また、複数の胃がん細胞株に fucci 遺伝子を導入して細胞周期の可視化を行った。単独培養では多くのがん細胞は規則正しい細胞周期を刻む。対して、特定の条件で老化させたがん間質細胞との共培養では、がん細胞は長期間 G0 期にとどまることを明らかにした。結果として、腹腔内 (腹膜) の恒常性保持機構ががん細胞の休眠とその後の再活性化 = 晩期再発をもたらしていると考えている。現在の術後補助療法は休眠細胞には効果がない。そのため、休眠機序の解明と増殖活性評価法開発は、胃がん治療戦略の再構築と治療成績の改善に直結すると考えられた。

### 2. 研究の目的

胃がん間質反応による晩期再発の早期診断法を開発して新しい治療戦略を確立する。本研究では、胃がん臨床検体を使ったがん間質反応の解析により、胃がん再発に直結する微小転移の高感度診断法と増殖活性評価法の開発・がん休眠機序の解明を通して胃がん治療戦略を確立することを目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) 進行胃がん組織由来の初代培養がん間質細胞の分離と凍結保存ライブラリーの拡充：同一患者のがん間質細胞・非がん胃組織間質細胞・正常小腸間質細胞のライブラリーを拡充して -150 で保存した。  
 (2) 間質細胞由来の分泌タンパクの精製：ライブラリー化した間質細胞を特定の環境で老化させて無血清培養上清を継時的かつ大量に採取した。アニオンおよびカチオンカラムを用いてタンパク精製を行った。

(3) がん再発患者の血液および間質細胞を使ったプロテオーム解析：細胞周期に関連する因子、免疫細胞遊走因子、ケモカイン、サイトカインなどの網羅解析を行い、晩期再発に関連した因子の絞り込みを行った。

(4) 3 の結果を受けて CCL2 / CCR2 阻害薬であるプロパゲルマニウムを進行再発胃がん患者に投与する臨床研究を実施した。

### 4. 研究成果

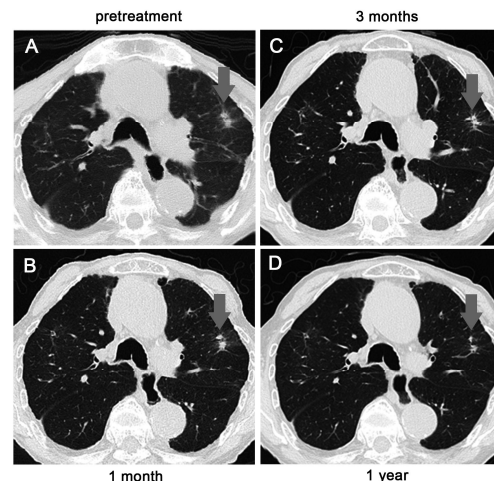
(1) 進行胃がん組織由来の初代培養がん間質細胞の分離と凍結保存ライブラリーの拡充：同一患者のがん間質細胞・非がん胃組織間質細胞・正常小腸間質細胞のライブラリーを拡充して -150 で保存した。

(2) 間質細胞由来の分泌タンパクの精製：ライブラリー化した間質細胞を特定の環境で老化させて無血清培養上清を継時的かつ大量に採取した。アニオンおよびカチオンカラムを用いてタンパク精製を行った。

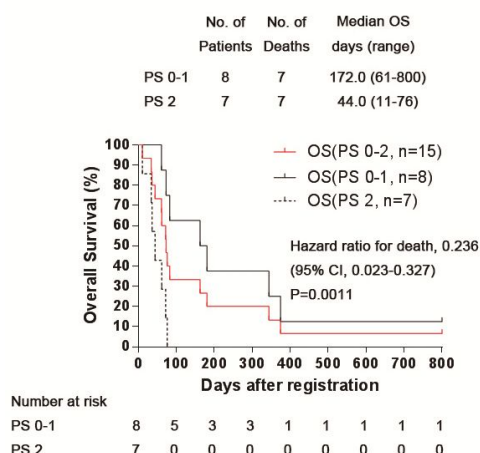
(3) がん組織由来の間質細胞は血管新生因子である VEGF isoform やがん関連マクロファージを骨髄から微小転移巣に誘引する CCL2 などを多く産生していることが確認された。がん再発患者血清の解析結果も同様であるため、CCL2 / CCR2 阻害薬であるプロパゲルマニウムを再発転移胃がん患者に対して投与することで、臨床におけるがん休眠療法の可能性を実証することとした。

(4) 臨床研究：兵庫医科大学病院において化学療法が無効な進行・再発がんを対象に、外来で継続可能なプロパゲルマニウム (商品名：セロシオン) 内服治療を試験治療とした。プロパゲルマニウムの免疫賦活作用による生存期間の延長と安全性などを単施設 (兵庫医科大学病院) にて検証する。併せて、臨床検体 (血液・腹水・組織など) を使った治療効果予測マーカーの探索的研究を行った。15 症例に投与した結果、明らかな有害事象は認めず、胃がん肺転移の完全緩解症例を含む長期生存症例をみとめた (図 1)。

(図 1)



生存期間延長を認めた症例の多くはパフォーマンスステータス(PS 0-1)の症例が多い結果であった(下図2)。



(図2)

本臨床研究で対象とした進行・再発胃がんの生命予後は2.4ヶ月程度であるため、生存期間中央値172日(5.7ヶ月)は良好な成績である。また、末梢血中単核球(PBMC)の解析から、奏功例ではcytolytic NK cellの増加を認めたため、CCL2 / CCR2 阻害によるがん関連マクロファージの誘引阻害に加えて、がん患者の免疫細胞賦活作用も認められた。

(5)今後の発展性：マウス転移モデルにおいては、プロパゲルマニウムの抗腫瘍作用にがん種特異性が無いことがすでに明らかにされている(Yumimoto, K, et al. J Clin Invest. 2015 Feb;125(2):621-35)。プロパゲルマニウムはB型肝炎に対する国産既存内服薬として承認されているが、がん治療薬としては承認されていない。そのため、胃がんだけではなく他がん種において医師主導治験を実施予定である。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 3 件)

1. Kikuchi S, Sawada M, Suzuki T, Shiraga K, Ogawa Y, Matsui T, Shinohara H. CMOS biosensor integrated circuit(IC) enables non-labeled cancer cell analysis by oscillator arrays. The 76th annual meeting of the Japanese Cancer Association 2017.9 Yokohama

2. 菊池正二郎、小澤りえ、中尾英一郎、

瀧井麻美子、仁和浩貴、海邊展明、大嶋勉、竹村雅至、笹子三津留。胃がん休眠と間質反応制御を目的とした免疫治療法の開発。第71回日本消化器外科学会総会 2016.7 徳島

3. 菊池正二郎、岩本典子、小澤りえ、中尾英一郎、仁和浩貴、瀧井麻美子、海邊展明、大嶋勉、竹村雅至、益本浩二、中森正二、笹子三津留。Cancer associated stromal cell induced G0 arrest and invasiveness through SASP in gastric cancer. 第116回日本外科学会定期学術集会 2016.4 大阪

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 1 件)

名称：標準化学療法に不応又は不耐で治癒切除不能な進行又は再発癌患者の治療のための医薬

発明者：城森 孝仁、菊池正二郎、笹子三津留、三輪洋人、篠原尚、岸本裕允、野口一馬  
権利者：株式会社三和化学研究所、学校法人兵庫医科大学

種類：特許

番号：PCT/JP2018/011007

出願年月日：2018年3月20日

国内外の別：国際(PCT)

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

笹子 三津留 (SASAKO, Mitsuru)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：4 0 1 4 3 4 9 0

### (2)研究分担者

本田 一文 (HONDA, Kazufumi)

国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・ユニット長

研究者番号：1 0 2 6 0 9 3 6

菊池 正二郎 (KIKUCHI, Shojiro)

兵庫医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：70381960