

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15593

研究課題名(和文) 膵癌患者の免疫寛容改善を目指したPtch1ペプチドを用いた膵線維化抑制療法の開発

研究課題名(英文) Development of the therapeutical strategy of inhibition of pancreatic fibrosis using Ptch1 peptide aiming improvement of immunotolerance in patients with pancreatic cancer

研究代表者

大西 秀哉 (Onishi, Hideya)

九州大学・医学研究院・准教授

研究者番号：30553276

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：ヌードマウスに膵癌細胞株ASPC-1および癌関連線維芽細胞を混合し、皮下移植する系を用いて腫瘍形成後、Ptch1結合ペプチド局所投与群とコントロール群において、活性化リンパ球を腹腔内投与して、膵線維化、癌浸潤リンパ球数および腫瘍径の計測を行った。Ptch1結合ペプチド投与群において、膵線維化が抑制され、癌浸潤リンパ球数が増加し、さらに、腫瘍径が有意に低下した。この結果は、Ptch1結合ペプチドにより膵癌組織の線維化が抑制され、膵癌組織への免疫細胞浸潤が促進し免疫寛容状態が打破できることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：We used nude mice injected with mixture of pancreatic cancer cell line, ASPC-1 and cancer associated fibroblast subcutaneously. After tumor growing, activated lymphocytes were administrated intraperitoneally, and degree of fibrosis, tumor-infiltrated lymphocytes (TIL) number and tumor volume were estimated in control group and Ptch1 peptide group. Pancreatic fibrosis was reduced, TIL number was increased, and tumor volume was decreased in Ptch1 peptide group. These results suggest that Ptch1 peptide improves immunotolerance condition by decreasing pancreatic fibrosis and inducing TIL number.

研究分野：腫瘍免疫学

キーワード：Ptch1ペプチド Hedgehogシグナル 膵癌 線維化 リンパ球 免疫監視機構 癌浸潤リンパ球 抗腫瘍効果

1. 研究開始当初の背景

我々はHhシグナル系が増殖、浸潤および腫瘍形成などの癌悪性形質の誘導や癌幹細胞の機能維持に重要な役割を果たし、癌の新規治療標的となり得ることを報告してきた。現在は、世界各国でHhシグナルの起動蛋白であるSmo蛋白を中心とした機能阻害剤開発がなされている。しかし、Hh阻害剤を使用した膵癌における臨床試験ではいまだ期待された程の効果が得られていない。また標的蛋白のSmo mutationにより阻害剤の効果が認められなくなる症例も報告された(Yauch et al, Science, 2009)。従って、Smo以外のHh構成因子に焦点をおいたHhシグナル阻害剤開発が膵癌の新規治療法開発のための新たなブレークスルとなる可能性がある。我々は、Hhシグナルの起動蛋白であるSmoを上流で制御するPtch1と結合し、Ptch1 ligandとPtch1との結合を阻止することによりHhシグナルを抑制するペプチドを新たに作成し、このPtch1結合ペプチドにより、膵癌の増殖が有意に抑制されるという結果を得た(Nakamura M et al, J Gastroenterol, 2012)。さらに近年、Hhシグナル抑制により膵組織の線維化が抑制されることが報告された(Jung IH et al, PLoS one, 2011)。膵癌における膵線維化は、免疫細胞が膵癌局所に到達できないハードルの一つと考えられ、これが進行膵癌患者の多くが免疫寛容の状態にある一因とも考えられる。細胞性免疫能が低下した膵癌患者は種々の治療を継続することが困難であり、難治性であることを我々は経験している。膵線維化の阻害に伴う免疫寛容状態の改善は、膵癌患者の全身状態、治療効果の改善につながると考えられる。

2. 研究の目的

本研究は膵癌治療開発のため「Ptch1結合ペプチドを用いて膵癌組織の線維化を抑制し、膵癌組織への免疫細胞浸潤を促進し免疫寛容状態を改善する」ことを主目的とする。

3. 研究の方法

(1) Ptch1結合ペプチドを用いた膵組織線維化抑制の検証

免疫不全マウスを用いたヒト膵癌細胞株の皮下移植モデルで、Ptch1結合ペプチド局所投与群とコントロール群における膵癌の増殖、周囲組織への浸潤および線維化の程度を腫瘍径計測、ヘマトキシリンエオジン染色および免疫組織化学染色で比較し検証する。

(2) 膵組織線維化抑制に伴う免疫細胞浸潤促進の検証

ヌードマウスにASPC-1及びPanc-1を皮下移植する系を用いて、Ptch1結合ペプチド局所投与群とコントロール群において活性化リンパ球を尾静脈より投与して、腫瘍の免疫組織染色を行い、膵癌組織内に浸潤したリンパ球をCD3/CD8で染色し計測して比較検討す

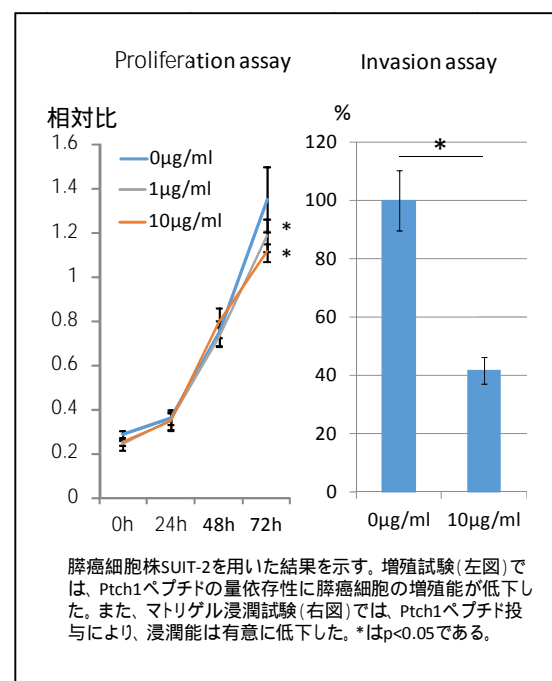
る。

(3) 膵組織線維化抑制に伴う抗腫瘍効果増強の検証

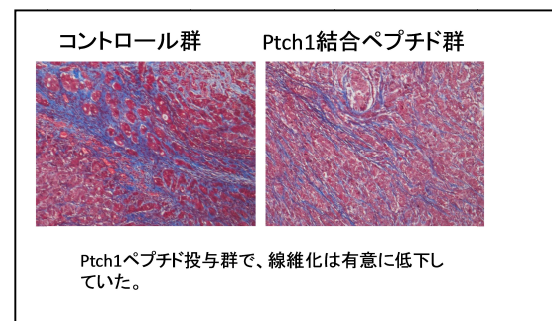
ヌードマウスにASPC-1及びPanc-1を皮下移植する系を用いて腫瘍形成後、Ptch1結合ペプチド局所投与群とコントロール群において、活性化リンパ球を尾静脈より投与して、腫瘍径を経時的に計測する。

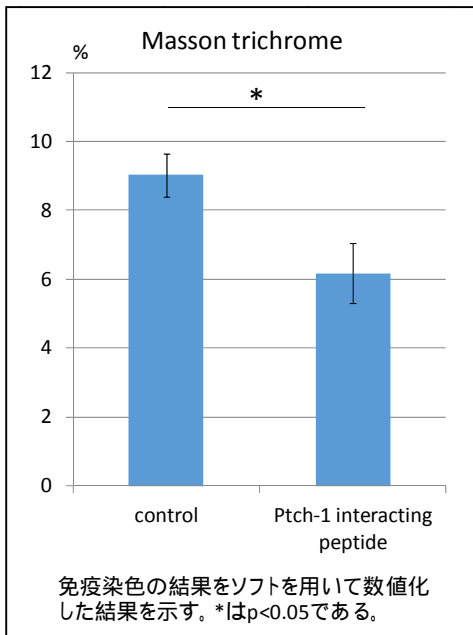
4. 研究成果

(1) Ptch1ペプチドが、直接膵癌細胞に及ぼす影響を解析した。増殖試験では、Ptch1ペプチドの量依存性に膵癌細胞の増殖能が低下した。また、マトリゲル浸潤試験では、Ptch1ペプチド投与により、浸潤能は有意に低下した(論文作成中)。

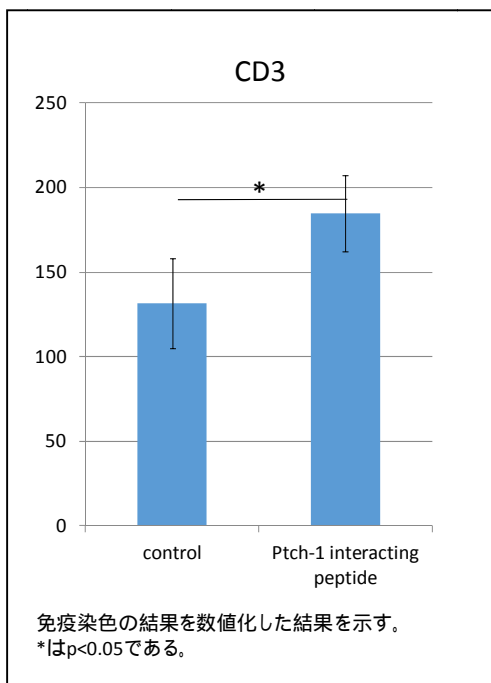
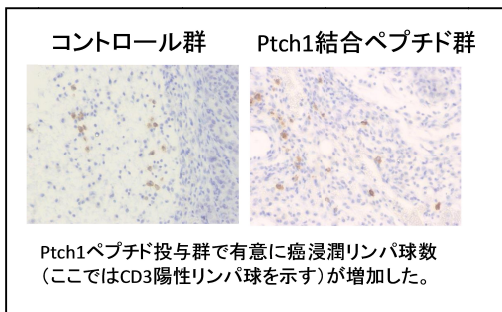


(2) 免疫不全マウスを用いたヒト膵癌細胞株および癌関連線維芽細胞を混合した皮下移植モデルで、Ptch1結合ペプチド局所投与群、コントロールペプチド投与群における形成腫瘍をMasson Trichrome染色を行い、線維化の程度を評価した。Ptch1結合ペプチド局所投与群で有意に線維化が抑制されていた(論文作成中)。

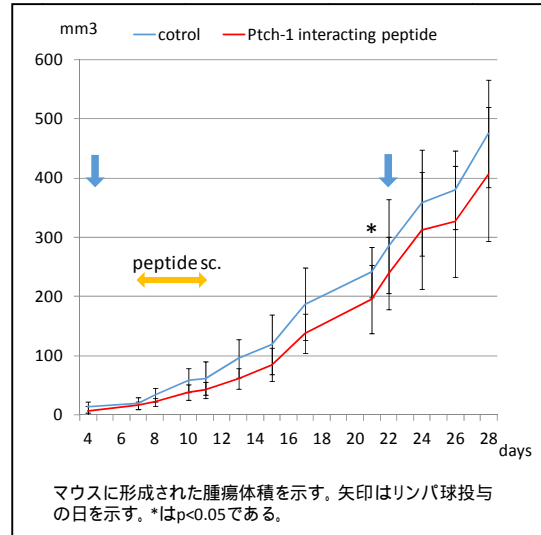




(3) 免疫不全マウスを用いてヒト膵癌細胞株および癌関連線維芽細胞を混合し皮下移植しリンパ球を投与する実験モデルでは、Ptch1 ペプチド投与群で有意に、癌浸潤リンパ球 (CD3、CD8) が増加していた (論文作成中)。



(4) 免疫不全マウスを用いてヒト膵癌細胞株および癌関連線維芽細胞を混合し皮下移植しリンパ球を投与する実験モデルでは、Ptch1 ペプチド投与群で腫瘍体積が減少する傾向が認められた。差が小さかったため、再現実験を行っている (論文作成中)。



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 5 件)

Kawamoto M, Onishi H, Koya N, Konomi H, Mitsugi K, Tanaka R, Motoshita J, Morisaki T, Nakamura M. Stage IV gastric cancer successfully treated multidisciplinary therapy including immunotherapy: a case report. Surg Case Rep 査読有, 3(1), 2017, 112.
DOI: 10.1186/s40792-017-0380-5

大西 秀哉、荻野 利達、森崎 隆、片野 光男. 患者さんを見据えた全人的癌治療 低酸素環境とHedgehog Signal 癌と化学療法. 査読有, 44, 2017, 977-980.

Onishi H. Future prospect of gallbladder therapy using Hedgehog signaling inhibitor. Chin Clin Oncol 査読有, 6, 2017, 11
DOI: 10.21037/cco.2016.05.05.

Yamasaki A, Onishi H, Imaizumi A, Kawamoto M, Fujimura A, Oyama Y, Katano M. Protein-bound polysaccharide-K inhibits Hedgehog signaling through downregulation of MAML3 and RBPJ transcription under hypoxia, suppressing the

malignant phenotype in pancreatic cancer. *Anticancer Res* 査読有, 36, 2016, 3945-3952.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27466498>

Onishi H, Fujimura A, Oyama Y, Yamasaki A, Imaizumi A, Kawamoto M, Katano M, Umabayashi M, Morisaki T Hedgehog signaling regulates PDL-1 expression in cancer cells to induce antitumor activity by activated lymphocytes. *Cell Immunol* 査読有, 310, 2016, 199-204.
DOI: 10.1016/j.cellimm

〔著書〕(計 1 件)

Onishi H, Morisaki T, Katano M. *Regulatory T cell: Immunotherapy of Cancer: An Innovative Treatment Comes of Age*. Springer Japan, Tokyo, 査読有, pp309-322, 2016.

〔学会発表〕(計 15 件)

山崎 章生、大西 秀哉、藤村 晶子、川元 真、森崎 隆. 抗 PD-1 抗体が著効した切除不能上顎洞癌の 1 例、2017 年 12 月 2 日、第 2 1 回 バイオ治療法研究会 学術集会、福大メディカルホール(福岡県、福岡市)

大山 康弘、大西 秀哉、川元 真、藤村 晶子、中山 和典、山崎 章生、中村 雅史. Hedgehog シグナル阻害による膵癌患者の免疫寛容改善の可能性、2017 年 12 月 1 日、第 3 0 回 日本バイオセラピー学会学術集会総会、ホテルグランヴェール岐山(岐阜県、岐阜市)

藤村 晶子、古後 龍之介、森崎 隆、中川 尚志、大西 秀哉. 抗 PD-1 抗体が著効した切除不能上顎洞癌の一例、2017 年 11 月 30 日、第 3 0 回 日本バイオセラピー学会学術集会総会、ホテルグランヴェール岐山(岐阜県、岐阜市)

川元 真、大西 秀哉、山崎 章生、森崎 隆、村橋 睦了、緒方 久修、中村 雅史. 活性化リンパ球の random migration 能は癌免疫療法の効果予測因子となりうる、2017 年 10 月 28 日、第 2 3 回 国際個別化医療学会学術集会、品川フロントビル会議室(東京都、品川区)

村橋 睦了、浜名 洋、岸 裕幸、山口 類、宮野 悟、緒方 久修、岡崎 利彦、宮本 将平、谷 健三郎、大西 秀哉、高松 泰、中西 洋一. びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫における腫瘍浸潤 CD8+T リンパ球の解析、2017 年 9 月 30 日、第 9

回 血液疾患免疫療法学会、一橋講堂(東京都、千代田区)

大西 秀哉、山崎 章生、大山 康博、川元 真、中村 雅史. 全人的治療を考慮した膵癌に対する Hedgehog 阻害治療の開発、2017 年 7 月 21 日、第 72 回 日本消化器外科学会総会、ホテル金沢(石川県、金沢市)

川元 真、森崎 隆、大西 秀哉. 癌特異的な免疫監視機構の構築により良好な経過を得ている stage IV 胃癌の 1 例、2017 年 7 月 20 日、第 72 回 日本消化器外科学会総会、ホテル金沢(石川県、金沢市)

大西 秀哉. 患者さんを見据えた全人的膵癌治療:低酸素環境と Hedgehog signal、2017 年 5 月 26 日、第 38 回 癌免疫外科研究会、倉敷アイビースクエア(岡山県、倉敷市)

Yamaski A, Onishi H, Nakamura M. Recombination signal binding protein for immunoglobulin-kappa-J region (RBPJ) and Mastermind-like 3 (MAML3) are potential therapeutic targets for pancreatic cancer. 2016 年 12 月 17 日、ESMO ASIA 2016, Singapore, Singapore.

藤村 晶子、大西 秀哉、益田 宗幸、中川 尚志、森崎 隆. 免疫細胞療法と抗 PD-1 抗体で CR となった耳下腺癌多発転移の一例、2016 年 12 月 1 日、第 2 9 回 日本バイオセラピー学会学術集会総会、久留米シティプラザ(福岡県・久留米市)

大西 秀哉、藤村 晶子、大山 康博、川元 真、山崎 章生、今泉 晃、中村 雅史、森崎 隆. 低酸素環境下、活性化リンパ球および樹状細胞における Hedgehog シグナルの生物学的役割の解析、2016 年 12 月 1 日、第 2 9 回 日本バイオセラピー学会学術集会総会、久留米シティプラザ(福岡県・久留米市)

山崎 章生、大西 秀哉、川元 真、大山 康博、藤村 晶子、今泉 晃、中村 雅史. PSK は転写因子 RBPJ および転写共役因子 MAML3 発現制御により低酸素環境における膵癌悪性を制御する、2016 年 12 月 1 日、第 2 9 回 日本バイオセラピー学会学術集会総会、久留米シティプラザ(福岡県・久留米市)

山崎 章生、大西 秀哉、川元 真、片野 光男、中村 雅史. 低酸素環境で活性化する Hedgehog 経路を標的とした新規膵癌

治療法開発、2016年7月16日、第71回 日本消化器外科学会総会、アステイ徳島(徳島県、徳島市)

大西 秀哉、近沢 信人、田坂 健彦、山崎 章生、川元 真、片野 光男、形態形成シグナルを標的とした新規癌治療法開発、2016年12月1日、第29回 日本パイオセラピー学会学術集会総会、久留米シティプラザ(福岡県・久留米市)

大西 秀哉、森崎 隆、山崎 章生、川元 真、中村 雅史、活性化リンパ球におけるHedgehog signalの生物学的意義の解析、2016年5月12日、第37回 癌免疫外科研究会 川越プリンスホテル(埼玉県、川越市)

〔その他〕

ホームページ等

九州大学大学院医学研究院 先端医療医学部門 腫瘍制御学分野

<http://www.tumor.med.kyushu-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大西 秀哉 (ONISHI, Hideya)

九州大学・大学院医学研究院・准教授

研究者番号：30553276

(2) 研究分担者

中野 賢二 (NAKANO, Kenji)

九州大学・先端融合医療レドックスナビ

研究拠点・教授

研究者番号：00315061

中村 雅史 (NAKAMURA Masafumi)

九州大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：30372741

大内田 研宙 (OHUCHIDA Kenoki)

九州大学・大学病院・講師

研究者番号：20452708

山崎 章生 (YAMASAKI, Akio)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：80404440

(平成28年7月15日より追加)