

令和 3 年 6 月 28 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11286

研究課題名（和文）化学療法による腫瘍微小環境変化を標的とした卵巢癌治療開発の基礎的検討

研究課題名（英文）Microenvironment of advanced ovarian cancer after chemotherapy

研究代表者

添田 周（SOEDA, SHU）

福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：00381377

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：進行再発卵巢癌の組織標本を用いて、化学療法後の癌微小環境の検討を行った。腫瘍内の炎症細胞の出現及び線維化が腫瘍の悪性度に関与する可能性を見出した。本研究成果をもとに、新規治療の開発を行う予定である。また、その実験の過程で卵巢癌の治療で必ず使用する抗癌剤であるパクリタキセルの耐性細胞の容易な培養方法を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により癌微小環境が卵巢癌治療効果予測のバイオマーカーおよび今後の治療標的となることが見出された。本研究成果をもとに、新規治療の開発を行う予定で卵巢癌治療の発展に意義があると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We have evaluated the tumor microenvironment of advanced ovarian cancer after chemotherapy by IHC. We have established the paclitaxel resistant human ovarian cancer cells.

研究分野：Gynecologic Oncology

キーワード：卵巢癌 化学療法 癌微小環境 炎症細胞 線維芽細胞 パクリタキセル耐性

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

癌の腫瘍間質を構成する細胞の中で、その比率が最も高い腫瘍随伴マクロファージ(TAM)は、乳癌・肺癌・前立腺癌など多くの固形腫瘍で腫瘍の増殖・浸潤・血管新生を促進し予後不良因子であることが報告され

ている。申請者らはこれまでに TAM に着目し、子宮体癌において TAM が予後不良因子であることや、浸潤部位に出現する TAM が筋層浸潤や脈管侵襲に関与することを明らかにした。また、TAM 誘導の重要なケモカインである MCP-1 が卵巣癌の浸潤や接着を促進させることなどを検討し婦人科腫瘍における TAM と癌微小環境の研究から婦人科癌浸潤の分子機序を明らかにしてきた。TAM が癌の予後不良因子であることはコンセンサスが得られてきたが、現在はその予後不良因子として働くメカニズムの解明と治療への応用に研究の焦点は移っている。我々は TAM が化学療法や放射線治療などで誘導され、治療効果を低下させる機序について様々な癌種で多角的に解析した結果、癌の治療で重要な化学療法や放射線治療が癌の微小環境を変化させ、さらに TAM の誘導を促進しこれが腫瘍の治療抵抗性につながることから、治療時に癌微小環境を改善させることで治療効果を高めるという新たな癌治療戦略の着想に至った。新たな癌治療制御の重要なターゲットは TAM である。また、腫瘍随伴線維芽細胞 (TAF) も同様に癌の微小環境を構成する細胞のなかで癌の増殖浸潤を助長する重要な細胞であるが、この集簇に TAM が重要な役割を果たしていることが考えられている。そのため癌の治療によって TAM と関連する微小環境構成因子がどのように変化するかを明らかにすることで、腫瘍細胞が治療に抵抗性を獲得するメカニズムを微小環境の側面から明らかにすることが出来る。一方、癌細胞そのものも治療によって様々な遺伝子発現に変化を生じ、化学療法に抵抗を示す細胞が選択され残存・増殖すると考えられている。この治療抵抗性を説明する有力な仮説として、癌幹細胞仮説がある。自己複製能と多分化能を有する癌幹細胞についての仮説は、造血器腫瘍で定義が形成された概念であるが、乳癌や前立腺癌、消化器癌そして卵巣癌でも様々な癌幹細胞マーカーの検討が進んでおり、これに対する治療戦略の開発は抗癌剤耐性の克服につながる事が期待されている。癌幹細胞にはそれを支持する癌幹細胞ニッチと呼ばれる微小環境が重要であるとされており、TAM も重要なニッチ細胞であると考えられてきている。ニッチ細胞は様々なサイトカインを発現し、癌幹細胞の形成と維持に寄与していると考えられている。卵巣癌においては ALDH や CD44、CD133 などの幹細胞マーカーを用いて検討がなされているが、申請者らはシェフィールド大学で卵巣癌細胞株を用いた癌幹細胞ニッチ実験系を確立してきた。申請者が作成した実験系の癌幹細胞様コロニーは、培養環境を変えることや継代により幹細胞マーカーの発現が劇的に変化することもわかっており、化学療法後に増殖してくる細胞において TAM が重要な癌幹細胞のニッチ細胞として機能していることを *in vitro* の実験系で明らかにした (データ未発表)。これらの実験系を用いることにより効率的に今回の実験を遂行していくことが可能である。卵巣癌は癌性腹膜炎を発症する癌種の中では最も化学療法が奏功するが、きわめて高率に再発し、再発後は初回治療を超える成績を得ることは出来ない。つまり、初回の化学療法が最も重要であるが、申請者はこの化学療法の効果を TAM を中心とする癌微小環境を制御することによってより良い治療効果が得られると考えている。我々がすでに構築している卵巣癌腹膜播種モデルを応用し、TAM と癌幹細胞ニッチ応答性の分子機序解明を解明する本研究から卵巣癌浸潤制御機構を明らかにしていく。

## 2. 研究の目的

本研究は卵巣癌化学療法後の TAM を中心とした癌微小環境の解明と癌幹細胞形成に対する癌幹細胞ニッチとしての TAM の機能を解析し、TAM を標的とした新たな治療方法開発への基盤となる研究を行う。

## 3. 研究の方法

- 1) 化学療法による TAM とそれに関連した腫瘍内微小環境の変化についての組織学的検討。卵巣癌患者検体による組織学的検討。
- 2) 抗癌剤暴露後のヒト卵巣癌細胞株再増殖細胞における癌幹細胞マーカー発現に対する癌幹細胞ニッチとしての TAM の機能解析。

## 4. 研究成果

- 1) 化学療法による TAM とそれに関連した腫瘍内微小環境の変化についての組織学的検討。卵巣癌患者検体による組織学的検討。

卵巣癌患者摘出標本を用いて、腫瘍内への炎症細胞や TAF の出現様式を免疫組織染色で検討した。予後への関連が示唆される結果であり現在症例数を増やして検討している。

2) 抗癌剤暴露後のヒト卵巣癌細胞株再増殖細胞における癌幹細胞マーカー発現に対する癌幹細胞ニッチとしての TAM の機能解析。

パクリタキセル耐性ヒト卵巣癌細胞株を樹立した。幹細胞マーカーである ALDH の発現を確認す。親株との遺伝子発現の差をマイクロアレイで検討した。10 種類のサイトカイン、ケモカインの有意な発現の差を認めた。その中で、IL6, MCP-1 の阻害実験を通じて幹細胞マーカーの発現の変化を検討した。これらの結果をもとに、TAM との共培養実験系を用いて検討を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	阿久津 英憲  (Akutsu Hidenori)  (50347225)	国立研究開発法人国立成育医療研究センター・生殖医療研究部・部長    (82612)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関