

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19581

研究課題名(和文) 難治性胸部悪性腫瘍の炎症性癌微小環境を標的とした画期的抗体療法

研究課題名(英文) Development of innovative therapeutic antibodies targeting the inflammatory tumor microenvironment in refractory thoracic tumors

研究代表者

豊岡 伸一 (Toyooka, Shinichi)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：30397880

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、癌細胞・間質細胞および免疫担当細胞が作り出す癌微小環境における炎症性メディエータータンパク質に関連した病態の解明を進め、新規治療法の開発を目的とした。活性型線維芽細胞が肺癌細胞に対してSTAT3経路の活性化を誘導し、肺がん細胞の伸展・薬剤耐性獲得に関与していることを明らかにした。そして炎症性メディエーターであるS100A8/9蛋白やHMGB1蛋白は、線維芽細胞の増殖・機能は活性化し、癌細胞の伸展を促進することを確認した。さらにそれぞれの中和抗体投与により、これらの活性は抑制されることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、難治性疾患の一つである肺癌をはじめとする癌微小環境における慢性炎症を一因とする胸部悪性腫瘍に対する、既存の化学療法や分子標的薬とはまったく機序の異なる新規治療法の開発につながる成果と考えられる。特に肺癌は日本において最も死亡者数の多い癌であり、肺癌の治療成績の向上は社会的にも意義が大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to elucidate the pathophysiology related to inflammatory mediator proteins in the cancer tumor microenvironment, including cancer cells, stromal cells and immune cells, and to develop new therapeutic strategies. We showed that active fibroblasts induce activation of the STAT3 pathway in lung cancer cells, promoting cancer progression and the acquisition of drug resistance. The inflammatory mediators, S100A8 / 9 protein and HMGB1 protein, activate the proliferation and function of fibroblasts, promote the growth of cancer cells. These activations are suppressed by the administration of their respective neutralizing antibodies.

研究分野：呼吸器外科学

キーワード：肺癌 癌微小環境 炎症 抗体療法

1. 研究開始当初の背景

肺扁平上皮癌や悪性胸膜中皮腫では、それぞれ長期にわたる喫煙やアスベストの曝露による慢性炎症により癌微小環境が構築されている。これらの癌は分子標的治療薬の標的となるドライバー遺伝子異常を有する肺腺癌と比べて有効な治療法が少なく難治性の胸部悪性腫瘍と言える。これまでに炎症性メディエーターは、炎症および免疫応答において重要な働きを担うだけでなく、様々な癌腫の発育に影響を与えていることが知られている。予備検討において、肺がんでは炎症性メディエーターとされる S100A11、S100A8/9、S100A4、S100Z 等の S100 ファミリー蛋白質や HMGB1 の発現上昇が確認されており、新規治療標的となりうる可能性が示唆された。これまでに申請者らは炎症性メディエーターの一つである S100A11 に着目した検討において、細胞外に分泌された S100A11 が、線維芽細胞の炎症性サイトカイン分泌を促進し、正常中皮細胞の浸潤能を促進させ、発癌の過程に分泌型 S100A11 が関与している可能性、さらに分泌型 S100A11 に対する中和抗体が悪性胸膜中皮腫の増殖能を抑制すること報告している（豊岡ら、Cancer Microenviron 2017）。そこで、これまでの知見を発展させ、その他の炎症性メディエーターに関連する病態の解明へ展開することとした。

2. 研究の目的

本研究では、癌細胞・間質細胞および免疫担当細胞が作り出す癌微小環境における炎症性メディエーター蛋白質に関連した癌の発生と進行に関する病態の解明を進め、これら微小環境における炎症を抑制することで、癌微小環境の負の連鎖を断ち切り、癌を土壌ごと殲滅するための新規治療法の開発を目的としている。

3. 研究の方法

(1) 肺癌臨床組織検体、細胞株における炎症性メディエーターの発現の評価

肺癌組織、細胞株を用いて炎症性メディエーターである S100A9、HMGB1 の蛋白発現を確認した。

(2) 炎症性メディエーター蛋白が、線維芽細胞に与える影響の in vitro 検証

線維芽細胞に S100A9 蛋白、HMGB1 蛋白を暴露させ、線維芽細胞の増殖能・活性化マーカーの変化を評価した。

(3) in vitro および in vivo 共培養モデルを用いた活性型癌関連線維芽細胞が肺癌細胞に対し与える作用の検討

In vitro の共培養モデルおよび in vivo マウス皮下腫瘍モデルを用いて、活性型線維芽細胞の共培養により、肺癌細胞の増殖能・遊走能・シグナル伝達に与える影響を検討した。

(4) 炎症性メディエーターを標的とする中和抗体の線維芽細胞に対する活性抑制作用の検証

線維芽細胞、あるいは線維芽細胞と肺癌細胞の共培養モデルを用いて、中和抗体が線維芽細胞、肺癌細胞の活動性抑制効果を検討した。

4. 研究成果

(1) 肺癌臨床組織検体、細胞株における炎症性メディエーターの発現の評価

肺癌組織検体および肺癌細胞株における S100A9、HMGB1 の蛋白発現を免疫染色・ウェスタンブロッティングで評価した。S100A9 蛋白は扁平上皮癌で、HMGB1 蛋白は扁平上皮癌・腺癌両者で高発現していることを確認した(図 1)。

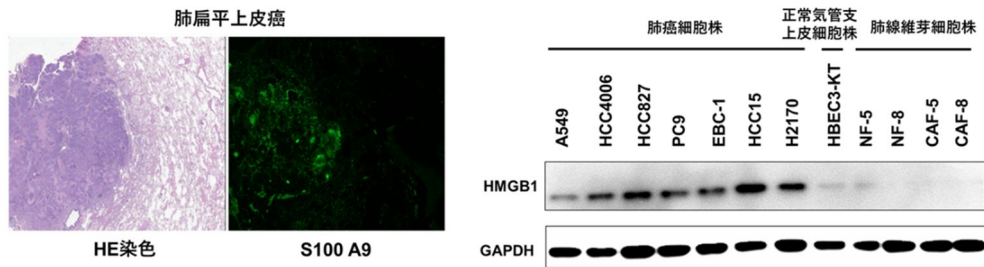


図1. 肺癌検体における炎症性メディエーター蛋白の発現

(2) 炎症性メディエーター蛋白が、線維芽細胞に与える影響の in vitro 検証

S100A9 蛋白、HMGB1 蛋白を暴露により、線維芽細胞の増殖能および活性化マーカー(α-SMA)の上昇を認めた(図 2)。

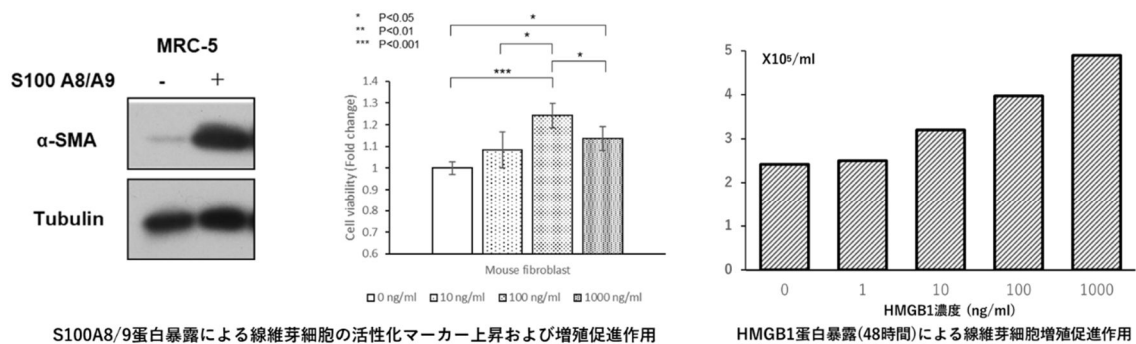


図2. 炎症性メディエーターによる線維芽細胞の活性化

(3) in vitro および in vivo 共培養モデルを用いた活性型癌関連線維芽細胞が肺癌細胞に対し与える作用の検討

線維芽細胞との in vitro 共培養モデルを用いて、肺癌細胞の遊走能の上昇(図 3A)・薬剤耐性との関連性が知られる STAT3 の活性化(図 3B)、さらに薬剤(殺細胞性抗がん剤 シスプラチン(CDDP)および分子標的薬 EGFR-TKI オシメルチニブ)に対する抵抗性の獲得(図 3C)を明らかにした。さらに In vivo マウス皮下腫瘍モデルを用いて、EGFR 変異肺がん細胞株 PC9 と線維芽細胞の共培養により、腫瘍増大の促進(図 3D)およびオシメルチニブに対する治療抵抗性の獲得を認めた(図 3E)。

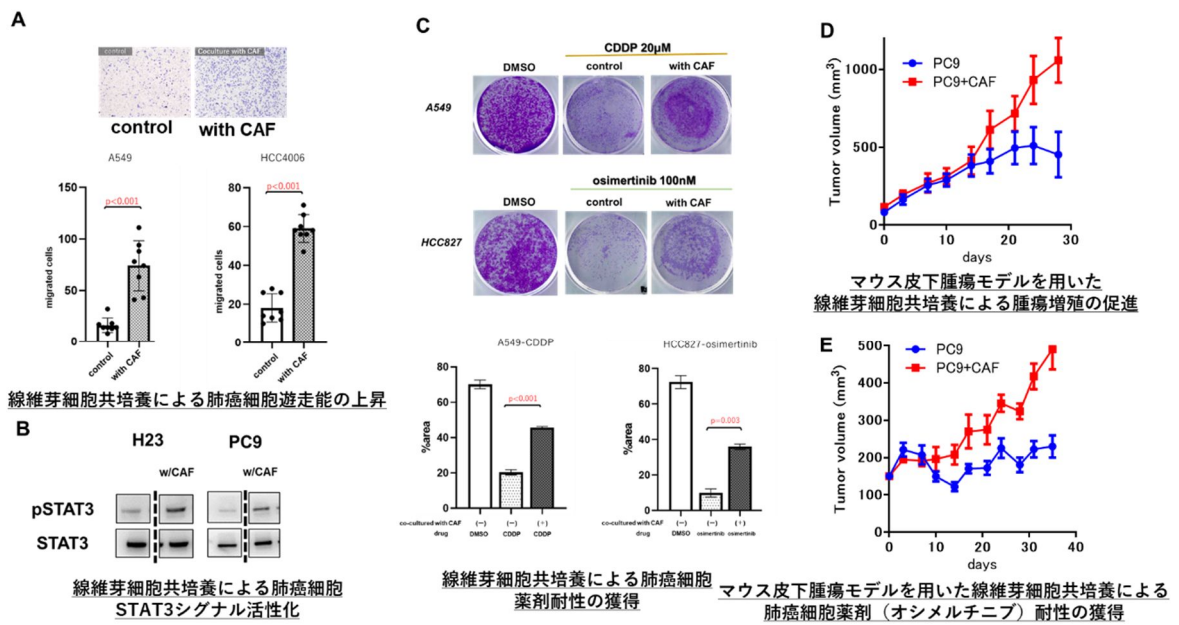
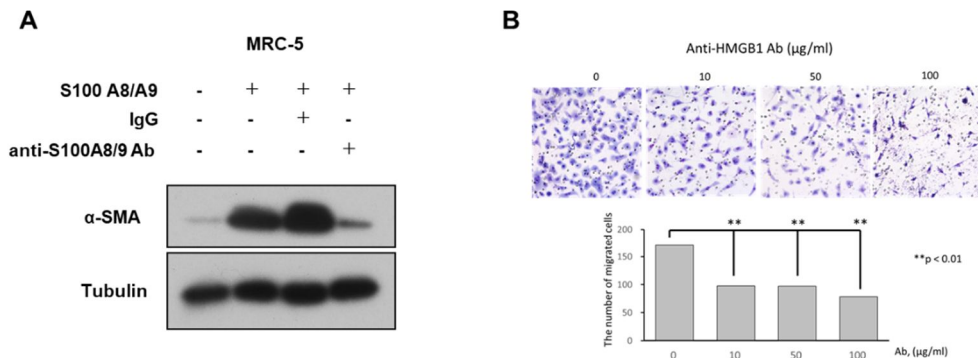


図3. 共培養モデルを用いた活性型癌関連線維芽細胞が肺癌細胞に対し与える作用

(4)炎症性メディエーターを標的とする中和抗体の線維芽細胞に対する活性抑制作用の検証
 線維芽細胞、線維芽細胞と肺癌細胞の共培養モデルを用いて、中和抗体が線維芽細胞、肺癌細胞の活動性抑制効果を検討した。線維芽細胞に S100A8/9 蛋白を投与すると活性化マーカーである SMA の発現上昇を認めるが、抗 S100A8/9 中和抗体投与により抑制された(図 4A)。線維芽細胞と肺癌細胞の共培養モデルにおいて、抗 HMGB1 中和抗体の投与により、肺癌細胞の遊走能は有意に抑制された(図 4B)。



抗S100A8/9中和抗体による線維芽細胞の活性化抑制効果 抗HMGB1中和抗体による線維芽細胞の肺癌細胞遊走促進の抑制

図4. 抗炎症性メディエーター中和抗体による線維芽細胞に対する活性抑制作用

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kota Araki, Kazuhiko Shien, Shunsaku Miyauchi, Akihiro Miura, Yuta Takahashi, Eisuke Kurihara, Yusuke Ogoshi, Kei Namba, Ken Suzawa, Hiromasa Yamamoto, Shuta Tomida, Junichi Soh, Masakiyo Sakaguchi, Shinichi Toyooka
2. 発表標題 Clinicopathological characteristics of lung cancer patients with concomitant idiopathic pulmonary fibrosis
3. 学会等名 AACR Annual Meeting 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔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	枝園 和彦 (shien kazuhiko) (30708079)	岡山大学・大学院・助教 (15301)	
研究分担者	宗 淳一 (soh junichi) (90559890)	近畿大学・医学部・准教授 (34419)	
研究分担者	山本 寛斉 (yamamoto hiromasa) (40467733)	岡山大学・大学院・助教 (15301)	
研究分担者	富田 秀太 (tomida shuta) (10372111)	岡山大学・大学院・准教授 (15301)	

6. 研究組織（つづき）

	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	諏澤 憲 (suzawa ken) (90839713)	岡山大学・大学病院・助教 (15301)	

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