

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：32645

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16524

研究課題名（和文）コラーゲンを標的とした新規肺癌治療法の開発

研究課題名（英文）Development of a novel lung cancer therapy targeting collagen

研究代表者

山田 侑子（Yamada, Yuko）

東京医科大学・医学部・研究助教

研究者番号：90748097

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：肺腺癌のCAFにおいて、新規マーカーとしてのFascinの有用性と、Fascin陽性細胞と予後不良の相関を見出だした。既存のCAFマーカーである α -SMAおよびFAPと有意な相関が認められ、さらに、Fascin陽性染色を示す腫瘍細胞の割合は、CAFにおける発現と相関があることがわかった。Fascinは癌細胞とCAFの間のクロストークを媒介する可能性があることが示唆され、がん微小環境を標的とした治療法の新規治療標的となり得ると考えた。さらに、miR-29b誘導体の安定性向上のための核酸修飾法の検討を行い、従来の核酸と比較し、ヒト血清内での安定性を向上させることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CAFを標的とした肺癌治療戦略は確立されておらず、Fascinは治療標的の1つとなり得る。また、以前より力価を向上させた新規miR-29b核酸誘導体を作成しており、今回、miR-29b核酸修飾法の検討を行い、安定性を向上させることができた。CAFを治療標的としたmiR-29bの治療効果について、今後の研究の発展が期待される。

研究成果の概要（英文）：In cancer-associated fibroblasts (CAFs) of lung adenocarcinoma, we found that Fascin serves as a novel marker and correlates with poor prognosis in Fascin-positive cells within CAFs. Significant correlations were found with established CAF markers α -SMA and FAP. Additionally, the proportion of tumor cells showing Fascin-positive staining correlated with its expression in CAFs. Since CAFs express Fascin, suggesting its role in mediating crosstalk between cancer cells and CAFs, Fascin could be a novel therapeutic target for cancer microenvironment treatments. Furthermore, we successfully improved the stability of miR-29b derivatives through nucleic acid modifications, enhancing stability in human serum compared to conventional nucleic acids.

研究分野：診断病理学、実験病理学、呼吸器病学

キーワード：肺腺癌 Fascin miR-29b

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肺癌は本邦における癌関連死亡原因の一位であり、肺癌の克服は我が国の公衆衛生上の課題である。近年の EGFR 阻害剤など肺癌のドライバー変異に対する薬剤や免疫チェックポイント阻害剤の登場により、その予後は改善しつつある。しかし、二次的なドライバー遺伝子の変異や免疫細胞の疲弊から、完全な肺癌の克服は困難であり、新規メカニズムによる肺癌治療薬が望まれている。肺癌細胞の増殖、浸潤、転移には周囲微小環境とのクロストークが深く影響している。そもそも癌組織において癌細胞が占める割合は 3 割程度と言われており、また間質が多い癌はより悪性度が高いことが経験的に知られている肺の線維化はガス交換効率低下をもたらす呼吸不全の原因となるのみならず、微小環境を変化させることで悪性腫瘍の増殖を促し、化学療法の効果を減弱させる。腫瘍細胞周囲の線維化の由来は不明であったが、近年肺癌において癌関連線維芽細胞 (cancer-associate fibroblast : CAF) と呼ばれる細胞群が間質線維組織の増殖や、腫瘍血管の増生を促すことにより肺癌の増殖、浸潤、転移を促進することが明らかとなった。しかし、CAF を標的とした肺癌治療戦略は未だ存在しない。

2. 研究の目的

肺癌細胞の増殖、浸潤、転移には周囲微小環境とのクロストークが深く影響している。癌組織において癌細胞が占める割合は 3 割程度と言われており、また間質が多い癌はより悪性度が高いことが経験的に知られている。我々は、肺線維症において mi-RNA の一種 miR-29b が肺の線維化を抑制し、臨床症状を改善させることを確認し、さらに力価を向上させた新規 miR-29b 核酸誘導体を作成した [1]。本研究の目的は、まず、治療標的である CAF の免疫組織学的検討とした。次に、miR-29b 誘導体の最適化によるコラーゲン発現抑制効率の向上と、肺癌-線維芽細胞混在三次元培養系の樹立とコラーゲン抑制による肺癌細胞増殖への影響の検討、噴霧吸入による miR-29b 低侵襲投与とその肺癌への治療効果の検討とした。

3. 研究の方法

(1) 肺腺癌症例の抽出と CAF の免疫組織学的検討

肺腺癌症例を抽出し、免疫組織化学染色 CAF, α -smooth muscle actin (SMA), fibroblast activation protein (FAP) の発現とその相関について検討した。その他、多数の肺癌症例において、組織学的な形態の特徴と CAF の割合、Fascin その他の免疫組織化学的特徴を鏡検し、画像解析を行った。

(2) miR-29b 誘導体の最適化

我々が作成した Psh-match 型 miR-29b は in vivo において効率よく肺線維症のコラーゲン形成を抑制することを確認した。さらなる改良のために、核酸骨格の修飾を行い、より低濃度で有効かつ生体内安定性を増強した Psh-match-miR-29b を作成した。核酸修飾としては人工核酸である架橋型人工核酸 (LNA) またはリボース 2' 位修飾 (2'-O-methoxyethyl 化) を用いた。各種修飾核酸を作成した。

4. 研究成果

(1) 肺腺癌症例の抽出と CAF の免疫組織学的検討

抽出した肺腺癌症例に対し、CAF マーカーとしての Fascin の有用性と、CAF における Fascin 陽性細胞と予後不良の相関を見出した。浸潤性肺癌の病理解剖例を対象として、肺癌および CAF における Fascin の発現を解析した。検討した肺癌症例の CAF において、Fascin 陽性染色は全ての症例で観察され、既存の CAF マーカーである α -SMA および FAP と有意な相関が認められた。さらに、Fascin 陽性染色を示す腫瘍細胞の割合は、CAF における発現と相関があることがわかった。CAF は Fascin を発現しており、Fascin は癌細胞と CAF の間のクロストークを媒介する可能性があることが示唆された。Fascin はがん微小環境を標的とした治療法の新規治療標的となり得ると考えた。

(2) miR-29b 誘導体の最適化

体内 miR-29b 誘導体の安定性向上のための核酸修飾法の検討を行い、0-メトキシ化とフルオロ化を混在させることで、従来の核酸と比較し、ヒト血清内での安定性を 100 倍以上向上させることに成功した。また、同修飾を施しても遺伝子発現抑制活性に影響を与えないことを確認した。3 次元培養系の樹立とコラーゲン抑制による肺癌細胞増殖への影響の検討は途中であり、今後行っていく予定である。

<引用文献>

[1] Yuko Yamada, Masakatsu Takanashi, Katsuko Sudo, et al. Novel form of miR-29b suppresses bleomycin-induced pulmonary fibrosis. Plos One DOI:10.1371/journal.pone.0171957 2017

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamada Yuko, Kurata Atsushi, Fujita Koji, Kuroda Masahiko	4. 巻 100
2. 論文標題 Fascin as a useful marker for cancer-associated fibroblasts in invasive lung adenocarcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medicine	6. 最初と最後の頁 e27162 ~ e27162
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/MD.00000000000027162	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山田 侑子、倉田 厚、高橋 達彦、藤田 浩司、高木 央、高江洲 央、荻原 優衣、黒田 雅彦
2. 発表標題 Trousseau症候群剖検例における血栓形成機序の免疫組織学的解析
3. 学会等名 第27回 日本血管病理研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山田 侑子、赤木 舞、藤田 浩司、助田 葵、荒井 勇弥、若松 昇平、吉澤 成一郎、長尾 俊孝、黒田 雅彦
2. 発表標題 剖検によりG-CSF産生肺多形癌と診断した原発不明がんの一例
3. 学会等名 第112回 日本病理学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山田 侑子、倉田 厚、藤田 浩司、高橋 達彦、高木 央、荻原 優衣、高江洲 央、黒田 雅彦
2. 発表標題 Trousseau症候群剖検例における血栓形成機序の免疫組織学的解析
3. 学会等名 第113回 日本病理学会総会
4. 発表年 2024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
研究協力者	黒田 雅彦 (Kuroda Masahiko)		
研究協力者	倉田 厚 (Kurata Atsushi)		

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
---------	---------