

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：83901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861242

研究課題名(和文) 肺癌術後再発を制圧するための新たな治療戦略の構築

研究課題名(英文) The new strategy for preventing postoperative recurrence in non-small cell lung cancer patients

研究代表者

前田 亮 (Maeda, Ryo)

愛知県がんセンター(研究所)・分子病態学部・リサーチレジデント

研究者番号：00648769

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：癌が転移形成される際に、骨髄・末梢血から遊走される間質細胞としての炎症細胞が重要な役割を担っていることが報告されている。肺癌患者の体内を循環する血液中の炎症細胞であるCD14+CD204+細胞数を解析することで、肺癌術後の遠隔転移における役割を解明した。肺癌患者の循環する血液中の炎症細胞を解析し、肺癌術後の遠隔転移における役割を解明したことで、循環する炎症細胞をターゲットとした新たな術後補助療法へと展開するための研究基盤を確立することができた。

研究成果の概要(英文)：Bone marrow-derived circulating myelomonocytic CD14-positive (CD14+) cells have been reported to infiltrate tumors and are commonly referred to as tumor-associated macrophages. In this study, we demonstrated that circulating CD14+CD204+ cells from the primary tumor facilitated the metastasis of cancer cells at distant sites.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：肺癌

1. 研究開始当初の背景

わが国の肺癌死亡率は、高齢化の影響で年々増加し、1993年より男性の癌死亡の第1位、1998年には全体の癌死亡でも第1位となり、現在でも癌死亡のトップの地位を占めている。最近では肺癌検診や診断技術の進歩により、切除可能な肺癌症例が増加してきているものの (Maeda R, et al. Gan To Kagaku Ryoho. 2011;38:197-201)、申請者の肺癌完全切除後の再発率に関する検討では、早期肺癌であっても実に20 - 40%の患者において術後5年以内に再発が認められている (Maeda R, et al. Chest 2011;139:855-61.)。肺癌術後再発後の生存率は依然厳しく、肺癌の外科治療成績を向上させるためには、完全切除後の再発をいかに予防するかが課題となっている。近年、肺癌完全切除後の再発を抑制する目的で、体内に残存する癌細胞を標的とする白金製剤を中心とした術後補助化学療法が試され一定の評価が得られているものの、その効果は十分と言えるものではない (Winton T, et al. N Engl J Med 2005; 352: 2589-97.)

生体に増殖する癌は、癌細胞のみからなることはなく、多くは炎症細胞 (単核球・マクロファージ・好中球・リンパ球など)、血管細胞 (血管内皮細胞など)、線維芽細胞などの間質細胞とともに存在している。これまでに、癌細胞と癌細胞以外の間質細胞の相互作用が癌の進展に大きく関わっていることが数多く報告されており、癌制圧に向けては癌細胞のみならず、癌以外の間質細胞をも標的とした治療が重要であることが予想される (Pollard JW. Nat Rev Cancer 2004; 4: 71-8)。実際、最近肺癌治療において認可された抗血管内皮増殖因子抗体は癌細胞以外を標的とした治療薬である。

近年では、癌が転移する際にもその転移初期段階において間質細胞としての炎症細胞が重要な役割を担っていることが、相次い

で報告され注目を集めている (Kaplan RN, et al. Nature 2005;438:820-7.)。この炎症細胞の多くは、骨髄・末梢血から遊走されると考えられているが、実際の癌患者においてどのような炎症細胞が癌の遠隔転移巣形成に寄与しているかは不明である。

2. 研究の目的

肺癌患者の循環する血液中の炎症細胞を解析し、肺癌術後の遠隔転移における役割を解明することで、循環する炎症細胞をターゲットとした新たな術後補助療法へと展開するための研究基盤を確立することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

1. 肺癌患者の血液中に存在する炎症細胞の解析

肺癌患者の切除標本において、肺の流出血管である肺静脈から血液を採取し、肺癌患者の血液中に含まれる炎症細胞を解析する。

1) 肺癌切除症例の遠隔転移再発をきたす high risk 群と low risk 群の分類

これまでの申請者の肺癌完全切除後の再発率に関する詳細な検討により (Maeda R, et al. Chest 2011; 140: 1494-502)、肺癌切除症例を術後遠隔再発 low risk 群と high risk 群に分類する。

2) 腫瘍からの流出血管である肺静脈に存在する炎症細胞の術後再発 high risk 群と low risk 群における相違を同定

肺癌切除検体の肺静脈断端から血液を採取、採取した血液から単核球を分離し、1ccあたりの単核球数をカウントする。

分離した単核球を、炎症細胞 (単核球・マクロファージ、リンパ球、好中球) を識別する様々なモノクローナル抗体にて labeling し、フローサイトメトリーを用いて循環血液中の炎症細胞数を count する。Low risk 群と high risk 群から採取した血液中の

各種の炎症細胞数の相違を明らかにし、high risk 群で高値を示す炎症細胞を同定する。

2. 循環する炎症細胞は遠隔転移に寄与するかを探索する

同定した炎症細胞を sorting し、sorting してきた細胞を癌細胞と共にマウスの尾静脈から尾静注し、肺もしくは肝転移数をカウントし、同定した炎症細胞が癌の遠隔転移を促進させるのかを検討する。

3. 転移を促進させる炎症細胞の機能解析

肺癌の遠隔転移を促進させる炎症細胞の機能解析を行うことで、炎症細胞が転移を促進させる機序を解明する。

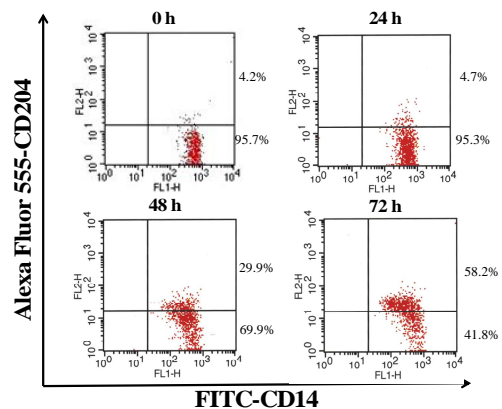
4. 血液を循環する炎症細胞をターゲットとした薬剤の開発及び術後補助療法への応用

マウスを用いて、転移を促進させる炎症細胞の機能をブロックする薬剤で転移が抑制されるかを調べる。その薬剤を術後補助療法として使用することで術後の遠隔転移再発が抑制されるかの臨床試験に向けた研究基盤を確立させる。

4. 研究成果

肺癌患者 106 名の切除標本において、肺の流出血管である肺静脈から血液を採取し、肺癌患者の血液中に含まれる炎症細胞（マクロファージ）と考えられる CD14⁺CD204⁺細胞数を解析した。原発巣組織内における CD204 陽性単球/マクロファージ細胞数と肺静脈内の CD14⁺CD204⁺細胞数は有意に相関しており、また肺癌が進行するほど肺静脈内の CD14⁺CD204⁺細胞数が増加することを明らかにした。肺癌が進行するほど、術後遠隔転移再発は多いことから、血液中を circulating する CD14⁺CD204⁺細胞が術後遠隔転移再発に関わっている可能性が考えられた。そこで、血液を circulating する CD14⁺CD204⁺細胞を流入血管である肺動脈

から sorting し、肺癌細胞株の培養上清で培養したところ、CD14⁺CD204⁺細胞に変化することを確認した。



これらの細胞を癌細胞と共にマウスの尾静脈から尾静注し、肺転移数を計測したところ、CD14⁺CD204⁺細胞を尾静注した場合と比較し、CD14⁺CD204⁺細胞を癌細胞と尾静注した場合に肺転移数が有意に増加することを明らかにした。

このことから、血液を circulating する CD14⁺CD204⁺細胞が術後の遠隔転移再発に関して促進的に働く可能性が示された (J Thorac Oncol. 2014; 9: 179-88)。転移を促進させる CD14⁺CD204⁺細胞と CD14⁺CD204⁻細胞の遺伝子発現解析を行ったところ、CD14⁺CD204⁺細胞は matrix metalloprotease-9 (MMP-9)の発現が有意に上昇しており、MMP-9 阻害剤により、*in vivo* 実験で転移が抑制されることを明らかにした。以上より、肺癌患者の循環する血液中の炎症細胞を解析し、肺癌術後の遠隔転移における役割を解明したことで、循環する炎症細胞をターゲットとした新たな術後補助療法へと展開するための研究基盤を確立することができた。

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1件)

Maeda R, Ishii G, Neri S, Aoyagi K, Haga H, Sasaki H, Nagai K, Ochiai A. Circulating CD14+CD204+ Cells Predict Postoperative Recurrence in Non-Small-Cell Lung Cancer Patients. J Thorac Oncol 2014; 9: 179-88. 査読有

6 . 研究組織

(1)研究代表者

前田 亮 (MAEDA RYO)

愛知県がんセンター(研究所)・分子病態
学部・リサーチレジデント

研究者番号 : 00648769