

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：16101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26670418

研究課題名(和文)肝転移を標的とした小細胞肺癌に対する新規分子標的治療の開発

研究課題名(英文)Development of molecular-targeting therapy against liver metastasis of small cell lung cancer

研究代表者

西岡 安彦(NISHIOKA, Yasuhiko)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・教授

研究者番号：70274199

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文):小細胞肺癌細胞株のsphere形成分画を用い、SCIDマウス多臓器転移モデルにおいて検討したところ、特異的に肝転移が増加する結果が得られた。そこでこれらの細胞分画に発現する分子の中から肝転移関連遺伝子Bを同定した。shRNAを用いて遺伝子Bのノックダウンを行い、恒常的に遺伝子B発現を抑制すると、他臓器転移に影響を与えることなく肝転移が減少した。また、臨床的に小細胞肺癌の予後因子を検討したところ、重要な予後因子であるPSと関連する臓器転移として肝転移が同定された。以上から、肝転移を標的とする治療開発の臨床的重要性と遺伝子Bを標的とした肝転移制御の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文):In the present study, we examined the clinical significance of liver metastasis and identified the specific gene associated with liver metastasis in small cell lung cancer (SCLC). We first found the sphere-forming population of SCLC cell line SBC5 preferentially metastasized to the liver. Using these cell lines, the specific gene B associated with liver metastasis was identified. The knockdown of the gene B in SBC5 cells showed the reduction of metastasis to the liver, but not other organs. From the clinical analysis, we confirmed the association between liver metastasis and PS in SCLC patients.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：肝転移 小細胞肺癌 予後

1. 研究開始当初の背景

肺癌に対する個別化医療を考えた場合、driver mutation に対する分子標的治療薬の開発に加え、それぞれの症例が持つ個々の臓器転移に対する個別の治療法確立も重要な検討課題である。しかしながら、現在骨転移以外の臓器転移に対する有効な治療法は確立されていない。特に肝転移は小細胞肺癌再発時に治療抵抗性となり生命予後に大きく影響する。我々は、SCID マウスにおけるヒト肺癌細胞の多臓器転移モデルを用いて、抗転移治療法の開発を進めてきた。最近の検討から、DLL4/Notch 経路、macrophage-stimulating protein (MSP)、癌幹細胞化がそれぞれ他の臓器転移に影響を与えず肝転移のみに影響することを見出した。さらにマイクロアレイを用いたこれらの細胞群の解析により肝転移関連遺伝子を同定した。

2. 研究の目的

本研究では同定した肺癌の肝転移関連遺伝子の癌進展における役割の解析と肝転移に対する治療法開発ならびに肝転移の臨床的重要性を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

SCID マウスの in vivo モデルにおいて肝転移を認める肺癌細胞株 SBC-5 と LC319/bone2 を用いて検討を行った。同定した肝転移関連遺伝子 B に対する shRNA を用いて恒常的に遺伝子 B をノックダウンした細胞株を作製した。これらの細胞株の in vitro における増殖能、遊走能、in vivo における増殖能と転移形成能を比較検討した。一方で、小細胞肺癌患者に対して各臓器転移を含めた臨床的パラメータの予後因子としての意義を検討した。

4. 研究成果

shRNA を用いて小細胞肺癌細胞株 SBC5 の遺伝子 B のノックダウンを行った。ノックダウン

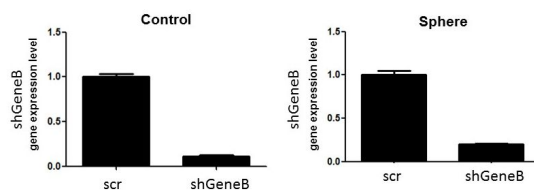


図1 SBC5に対するshRNA導入による遺伝子Bの発現抑制
Lentivirusを用いてshRNA導入による遺伝子B発現抑制株を作製した。

は sphere 細胞と親株の 2 種類の細胞に対して行った (図 1)。Sphere 細胞は、肝転移の

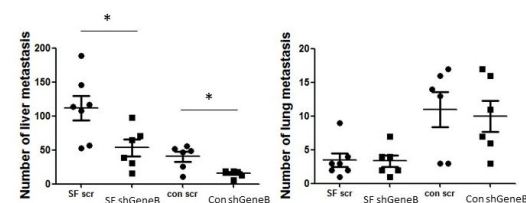


図2 SBC5に対するshRNA導入による遺伝子Bの発現抑制
Lentivirusを用いてshRNA導入による遺伝子B発現抑制株を作製した。これらの細胞株を用いてSCIDマウス多臓器転移モデルにおいて、肝転移および肺転移を評価した。* p<0.05

増加を認めていたが、遺伝子 B のノックダウンにより、肝転移数の減少を認めた (図 2)。この現象は、親株でも確認された。一方で、肺転移数には変化を認めなかった。以上から、遺伝子 B は肝転移特異的に作用している可能性が示唆された。

一方で、肝転移の予後における重要性について臨床的に検討した。当科で診断した 81 症例の小細胞肺癌患者を対象に検討した結果、単変量解析では年齢、PS、間質性肺炎、肝転移、胸膜播種、好中球数、低アルブミン血症、高カルシウム血症、肝胆道系酵素上昇が抽出された。多変量解析の結果、年齢、PS、間質性肺炎、肝胆道系酵素上昇が予後因子として抽出された。その中で PS が最も強い予後因子であったが、各臓器転移の有無と PS との関連を検討したところ、肝転移の有無と PS が相関した (図 3)。以上から、肝転移は

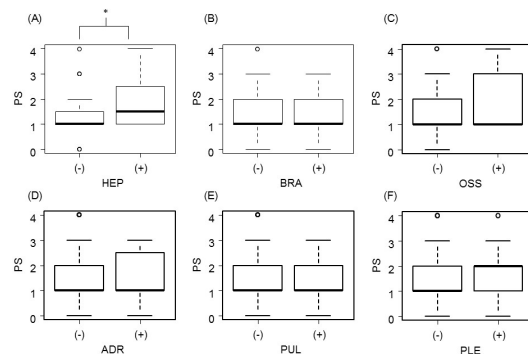


図3 各臓器転移の有無とPSの相関
各臓器転移の有無によるPSを検討した。*p=0.016

小細胞肺癌患者の予後に重要な因子である可能性が示唆された。

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 12 件)

後東久嗣, 西岡安彦. 線維細胞による肺がんに対する血管新生阻害薬の耐性メカニズム. 最新医学, 査読無, Vol.72, No.4, 2017, pp132-137.

Saijo A, Hanibuchi M, Goto H, Toyoda Y, Tezuka T, Nishioka Y. An analysis of the clinical features of lung cancer in patients with connective tissue diseases. Respir Investig, 査読有, Vol.55, No.2, 2017, pp153-160, doi: 10.1016/j.resinv.2016.11.003. Epub 2017 Jan 10.

Ogino H, Hanibuchi M, Takizawa H, Sakiyama S, Sumitomo H, Iwamoto S, Ikushima H, Nakajima K, Nagahiro H, Yamago T, Toyoda Y, Bando Y, Nishioka Y. Primary pulmonary synovial sarcoma showing prolonged survival with multimodality therapy. Intern Med, 査読有, Vol.55, No.4, 2016, pp381-387.

Abe S, Kato KM, Tsuchihashi Y, Izumi T, Ogasawara S, Okada N, Sato C, Tobiume M, Otsuka K, Miyamoto L, Tsuchiya K, Kawazoe K, Kato Y, Nishioka Y. Antitumor effect of novel anti-podoplanin antibody NZ-12 against malignant pleural mesothelioma in an orthotopic xenograft model. *Cancer Sci*, 査読有、Vol.107, No.9, 2016, pp1198-1205.

Ogino H, Hanibuchi M, Kakiuchi S, Saijo A, Tezuka T, Toyoda Y, Tobiume M, Otsuka K, Sakaguchi S, Goto H, Arisawa K, Nishioka Y. Analysis of the Prognostic Factors of Extensive Disease Small-Cell Lung Cancer Patients in Tokushima University Hospital. *J Med Invest*, 査読有、Vol.63, No.3,4, 2016, pp286-293.

後東久嗣, 西岡安彦. 血管新生阻害剤に対する耐性メカニズム. *医学のあゆみ*, 査読無、Vol. 252, No. 7, 2015, pp814-818, 医歯薬出版株式会社.

Sakurada T, Kakiuchi S, Tajima S, Horinouchi Y, Okada N, Nishisako H, Nakamura T, Teraoka K, Kawazoe K, Yanagawa H, Nishioka Y, Minakuchi K, Ishizawa K. Characteristics of and risk factors for interstitial lung disease induced by chemotherapy for lung cancer. *Ann Pharmacother*, 査読有、Vol.49, No.4, 2015, pp398-404.

Kato Y, Kunita A, Abe S, Ogasawara S, Fujii Y, Oki H, Fukayama M, Nishioka Y, Kaneko MK. The chimeric antibody chLpMab-7 targeting human podoplanin suppresses pulmonary metastasis via ADCC and CDC rather than via its neutralizing activity. *Oncotarget*, 査読有、Vol.6, No.34, 2015, pp36003-36018.

Mitsuhashi A, Goto H, Saijo A, Trung VT, Aono Y, Ogino H, Kuramoto T, Tabata S, Uehara H, Izumi K, Yoshida M, Kobayashi H, Takahashi H, Gotoh M, Kakiuchi S, Hanibuchi M, Yano S, Yokomisa H, Sakiyama S, Nishioka Y. Fibrocyte-like cells mediate acquired resistance to anti-angiogenic therapy with bevacizumab. *Nat Commun*, 査読有、Vol.6, 2015, pp8792.

後東久嗣, 西岡安彦. 新薬の最近の話題「デノスマブ」. *分子呼吸器病*, 査読無、Vol.18, No.1, 2014, pp109-111.

Matsuo T, Dat LT, Komatsu M, Yoshimaru T, Daizumoto K, Sone S, Nishioka Y, Katagiri T. Early Growth Response 4 Is Involved in Cell Proliferation of Small Cell Lung Cancer through Transcriptional Activation of Its

Downstream Genes. *PLoS ONE*, 査読有、Vol.9, No.11, 2014, pp e113606.

Hanibuchi M, Kim SJ, Fidler IJ, Nishioka Y. The molecular biology of lung cancer brain metastasis: an overview of current comprehensions and future perspectives. *J Med Invest*, 査読有、Vol.61, No.3,4, 2014, pp241-253.

〔学会発表〕(計 16 件)

Hirokazu Ogino, Masaki Hanibuchi, Soji Kakiuchi, Atsuro Saijo, Toshifumi Tezuka, Yuko Toyoda, Satoshi Sakaguchi, Hisatsugu Goto, Kokichi Arisawa, Yasuhiko Nishioka. Analysis of the Prognostic Factors of Extensive Disease Small-Cell Lung Cancer Patients in Tokushima University Hospital. 第 57 回日本呼吸器学会学術講演会. 東京国際フォーラム(東京・千代田区). 2017 年 4 月 23 日.

荻野広和, 後東久嗣, 西條敦郎, 柿内聡司, 埴淵昌毅, 西岡安彦. 徳島大学病院における進展型小細胞肺癌患者の予後因子に関する後ろ向き研究. 第 57 回日本肺癌学会学術集会. 福岡国際会議場(福岡県・福岡市). 2016 年 12 月 19 日.

荻野広和, 埴淵昌毅, 大塚憲司, 西條敦郎, 坂口暁, 手塚敏史, 柿内聡司, 後東久嗣, 西岡安彦. 徳島大学病院における進展型小細胞肺癌患者の予後因子についての検討. 第 14 回日本臨床腫瘍学会学術集会. 神戸国際展示場(兵庫県・神戸市). 2016 年 7 月 28 日.

Yasuhiko Nishioka. Acquired resistance to anti-angiogenic therapy and new insights toward the overcoming. *JASMO 2016 Annual Meeting (International Symposium 10)*. 神戸国際展示場(兵庫県・神戸市). 2016 年 7 月 28 日.

後東久嗣, 荻野広和, 三橋惇志, 西岡安彦. 小細胞肺癌における肝転移の位置づけとがん幹細胞様細胞の役割. 第 25 回日本がん転移学会学術集会・総会. 米子コンベンションセンター(鳥取県・米子市). 2016 年 7 月 22 日.

西條敦郎, 後東久嗣, 三橋惇志, 中野万有里, 大塚憲司, 荻野広和, 坂口暁, 埴淵昌毅, 西岡安彦. 骨髄由来線維細胞(fibrocyte)は肺癌のがん幹細胞様特性を促進する. 第 25 回日本がん転移学会学術集会・総会. 米子コンベンションセンター(鳥取県・米子市). 2016 年 7 月 21 日.

Ogino H, Goto H, Kakiuchi S, Saijo A, Sakaguchi A, Tobiume M, Otsuka K, Hanibuchi M, Nishioka Y. Receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 2, ROR2, regulates the proliferation of malignant pleural mesothelioma cells.

ATS 2016 International Conference. San Francisco (USA). 2016年5月17日.
Goto H, Mitsuhashi A, Saijo A, Kuramoto T, Tabata T, Aono Y, Uehara H, Hanibuchi M, Nishioka Y. Fibrocytes mediate acquired resistance to anti-angiogenic therapy with bevacizumab in thoracic tumors. ATS 2016 International Conference. San Francisco (USA). 2016年5月15日.
Saijo A, Goto H, Mitsuhashi A, Nakano M, Ogino H, Aono Y, Sakaguchi S, Tobiume M, Otsuka K, Hanibuchi M, Nishioka Y. Bone marrow-derived fibrocytes maintain stem cell-like properties of lung cancer. ATS 2016 International Conference. San Francisco (USA). 2016年5月15日.
荻野広和, 三橋惇志, 後東久嗣, 西條敦郎, 佐藤正大, 坂口暁, 手塚敏史, 倉本卓哉, 田畑祥, 上原久典, 埴淵昌毅, 西岡安彦. Sphere 形成癌幹細胞様分画のヒト肺癌多臓器転移モデルマウスにおける役割についての解析. 第74回日本癌学会学術総会. 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市). 2015年10月10日.
荻野広和, 後東久嗣, 三橋惇志, 西條敦郎, 佐藤正大, 柿内聡司, 埴淵昌毅, 上原久典, 西岡安彦. Sphere 形成癌幹細胞様分画の肺癌多臓器転移における役割についての解析. 第24回日本がん転移学会学術集会・総会. シティプラザ大阪(大阪府・大阪市). 2015年7月23日.
Hisatsugu Goto, Atsushi Mitsuhashi, Atsuro Saijo, Yoshinori Aono, Hirokazu Ogino, Hirohisa Ogawa, Soji Kakiuchi, Masaki Hanibuchi, Yasuhiko Nishioka. The role of fibrocytes in the resistance to anti-angiogenic therapy in malignant pleural mesothelioma and lung cancer. International Conference of Cancer Immunotherapy and Macrophages 2015. 東京大学伊藤国際学術センター(東京都・文京区). 2015年7月9日.
Hirokazu Ogino, Atsushi Mitsuhashi, Hisatsugu Goto, Atsuro Saijo, Takuya Kuramoto, Sho Tabata, Hisanori Uehara, Soji Kakiuchi, Masaki Hanibuchi, Yasuhiko Nishioka. Characterization of Sphere-Forming Stem-Like Population of Lung Cancer Cell Line in Multi-Organ Metastasis Model. ATS 2015 International Conference. Denver (USA). 2015年5月19日.
後東久嗣, 三橋惇志, 倉本卓哉, 田畑祥, 西條敦郎, 柿内聡司, 埴淵昌毅, 上原久典, 西岡安彦. 肺癌多臓器転移モデルにおける sphere 形成癌幹細胞様分画の役割. 第23回日本がん転移学会学術集

会・総会. 金沢市文化ホール(石川県・金沢市). 2014年7月10日.

山子泰斗, 後東久嗣, 三橋惇志, 倉本卓哉, 田畑祥, 西條敦郎, 柿内聡司, 埴淵昌毅, 小川博久, 上原久典, 西岡安彦. ヒト小細胞肺癌骨転移に対する RANKL 標的治療における IGF-1 の関与. 第23回日本がん転移学会学術集会・総会. 金沢市文化ホール(石川県・金沢市). 2014年7月10日.

Hisatsugu Goto, Atsushi Mitsuhashi, Atsuro Saijo, Trung The Van, Yoshinori Aono, Hirohisa Ogawa, Soji Kakiuchi, Masaki Hanibuchi, Seiji Yano, Keisuke Izumi, Yasuhiko Nishioka. The role of fibrocytes in the resistance to anti-angiogenic therapy in malignant pleural mesothelioma and lung cancer. ATS 2014 International Conference (Mini-symposium). San Diego (USA). 2014年5月21日.

〔図書〕(計1件)

西岡安彦. 肺癌. 今日の診療のためにガイドライン外来診療2015. 泉孝英編集, 査読無, 2015, pp570-572, 日経メディカル開発.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西岡 安彦 (NISHIOKA, Yasuhiko)
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授
研究者番号: 70274199

(2) 研究分担者

柿内 聡司 (KAKIUCHI, Soji)
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・非常勤講師
研究者番号: 50380100

(3) 連携研究者

後東 久嗣 (GOTO, Hisatsugu)
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・講師
研究者番号: 00437641