

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04265

研究課題名(和文)放射線治療副作用の軽減とがん転移の抑制を両立する治療薬の開発

研究課題名(英文) Development of drug that both reduce radiation treatment side effects and suppress cancer metastasis

研究代表者

李 桃生 (LI, Tao-Sheng)

長崎大学・原爆後障害医療研究所・教授

研究者番号：50379997

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、放射線治療副作用の軽減とがん転移の抑制を両立する治療薬の開発を目的とした。肺内腫瘍形成(転移)実験モデルと自発肺内腫瘍転移実験モデルを用いて、ニカラベン投与は放射線傷害誘発性がん転移に対する有意な抑制効果が認められ、その機序は肺組織内における炎症性サイトカインや好中球浸潤の抑制によることも明らかにした。また、ニカラベンは放射線による腫瘍殺傷効果に明らかな影響を与えなかったことを確認できた。放射線保護作用を有するニカラベンはがん患者の放射線治療副作用の軽減と癌転移の抑制を両立する治療薬になりうると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんの放射線治療は多くの副作用が伴い、治療中断や重篤な合併症による生命予後への影響が多くみられる。がん放射線治療の副作用を軽減するための薬剤は、いろいろ試されているが、未だに有効で満足な治療結果が得られるものが存在しない。本研究の結果から、抗酸化と抗炎症作用を有する薬剤(Nicaraven)は、放射線治療の副作用を軽減できると同時に癌転移のリスクも減らすことが可能であり、放射線治療がん患者への臨床応用を期待される。現在、食道がん患者を対象とした医師主導治験を計画中である。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to develop a therapeutic drug that can reduce side effects of radiotherapy and suppress cancer metastasis. Using either experimental or spontaneous lung tumor metastasis models in mice, we found that the administration of nicaraven, a chemical compound with anti-oxidative and anti-inflammatory capacity, effectively attenuated the increased cancer metastasis to the lungs exposed to high dose radiation, likely by reducing the inflammatory cytokines and macrophages/lymphocytes in the lung tissues. Moreover, we confirmed that nicaraven had very limited effect on tumor growth whatever receiving with or without radiotherapy. Based on our experimental data, the administration of nicaraven to cancer patients who received radiotherapy may reduce the side effects of radiotherapy and the risk of cancer metastasis.

研究分野：放射線医療科学

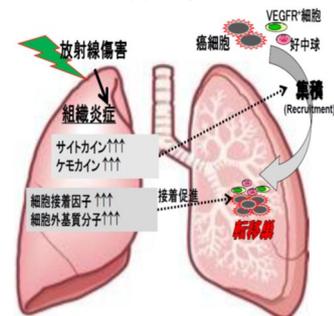
キーワード：放射線 癌 転移 副作用

1. 研究開始当初の背景

外科的手術、化学療法、放射線療法、分子標的治療の著しい進歩にも関わらず、癌は依然として死因の第1位である。癌患者の死亡原因は8割以上が癌の転移によるものであり、転移巣の制圧は癌治療の最重要な課題の一つとなっている。残念なことに、ほとんどの転移癌は外科的手術の適応にならず、また放射線治療や化学療法にも抵抗性を示すため、転移癌に対する有効な治療法は未だ存在しない。そのため、現段階では癌細胞の遠隔組織臓器への転移を阻止することが最も有効な手段の一つと考える。

癌細胞 (Seed: 種) は適切な環境 (Soil: 土壌) でのみ転移巣を形成することが古くから提唱されてきた。つまり、癌細胞から転移巣を形成するには、転移先の組織臓器局所に留まり、増殖していく必要がある。癌転移巣の形成に取りまく微小環境は、種々の細胞 (線維芽細胞、炎症細胞)、細胞外基質分子、液性因子などを含み、極めて複雑に構成されている。しかし、癌転移巣の形成に適した局所組織微小環境 (前転移ニッチ) を構成する分子・細胞の全容は解明されておらず、有効な癌転移抑制治療薬も未だに存在しない。

過去の研究で、骨髄由来VEGFR陽性細胞が前転移ニッチの形成に重要であることが明らかにされた (*Nature*. 2005;438:820-7)。また、最近では癌細胞自身から放出しているExosomeが前転移ニッチの形成にも関与していると報告されている (*Nature*. 2015;527:329-35)。我々は、癌転移巣の形成に適した局所組織微小環境 (前転移ニッチ) は、“炎症”であると推察している (右図)。その根拠としては以下の通りである。



(1) 炎症組織内ではChemokineやCytokineが高くなり、癌細胞の炎症組織内への集積を誘導し、さらに増殖も促進する。また、炎症刺激により細胞接着分子の発現が向上し、癌細胞の接着がより容易になる。つまり、炎症性組織は癌細胞の集積・定着・増殖に適している。

(2) 炎症性組織は再生修復を必要とするため、VEGFR1陽性骨髄由来細胞を含め、多くの幹細胞が集まる。それらの骨髄由来幹細胞は癌転移の促進に貢献する (*Nature*. 2005;438:820-7)。

(3) 最近の研究報告の結果によれば、炎症応答に基本的な役割を担っている好中球が癌転移の促進効果を示し、非ステロイド系抗炎症薬 (リボキシゲナーゼ阻害剤) の投与は癌転移の進展を有意に抑制できる (*Nature*. 2015;528:413-7)。

以上の観点から、“炎症”的な微小組織環境は癌転移巣の形成に好都合で、抗炎症治療は癌転移の抑制に有効と思われる。

一方、放射線治療は、外科的手術、化学療法に並ぶ癌治療の3本柱の一つである。しかし、放射線治療は癌細胞を殺すと同時に、正常な組織細胞や組織幹細胞にも傷害を与え、副作用として現れる。我々は、放射線照射した肺組織には癌転移巣を形成しやすいことを実験的に観察している。その原因は、放射線照射した肺組織に細胞障害が起き、癌転移巣の形成に好都合な“炎症”的な微小組織環境になっていたと考えられる。つまり、放射線照射により肺組織に前転移ニッチの形成が誘導されたということである。

最近、我々は抗酸化剤として中外製薬が開発したニカラベン (N,N'-プロピレンビスニコチンアミド) には、致死量の放射線外部被ばくに対して生命予後改善効果、および中～低線量長期被ばくに対して組織幹細胞傷害の保護作用を有することを明らかにし、その作用機序は抗炎症作用によるものであることも証明した (*PLoS One*. 2013;8:e60023)。そのため、放射線保護剤として開発を進めてきたニカラベンは、抗炎症作用による癌転移の抑制効果も期待される。すなわち、ニカラベンは放射線治療副作用の軽減と癌転移の抑制を両立する治療薬となり得る。

2. 研究の目的

本研究は、“炎症”的な微小環境が癌の前転移ニッチの特性の一つであるという仮説を立て、“炎症”の視点から放射線照射した肺組織に前転移ニッチとして構成する最も重要な分子・細胞基盤を明らかにすることを目的とした。また、我々が放射線被ばく傷害の保護剤として開発を進めてきたニカラベンの投与による癌転移抑制効果を検証すると共に、放射線治療副作用の軽減と癌転移の抑制を両立する治療薬の開発を目指す。

3. 研究の方法

(1) 実験動物と肺組織局所の放射線照射

実験動物は、12-14 週齢の C57BL/6 マウスおよびヌードマウスを用いた。放射線照射はマウスの胸部に 5Gy の X 線放射線照射を行った。

(2) 癌細胞株と細胞培養

マウス Lewis 肺癌細胞株 (LLC3) およびヒト大腸癌細胞株 (HCT8) を用いた。各細胞株は、提唱されている培養方法で細胞培養を行った。

(3) 癌の肺内転移モデルの作製

ア、肺内腫瘍形成(転移)実験モデル：LLC3 細胞(3×10^5 /0.5ml PBS)を経静脈注射により作製した。

イ、自発肺内腫瘍転移の実験モデル：LLC3 細胞 (1×10^6 /0.1ml PBS)を皮下注射し、皮下腫瘍モデルを作製した。腫瘍径が 5~8mm となった時点で、皮下腫瘍の摘出手術を行い、自発肺内腫瘍転移の実験モデルを作製した。

(4) 放射線照射が癌の肺転移に与える影響の評価

ア、肺内腫瘍形成(転移)への影響(右図)：マウスの胸部に X 線照射後 1, 3, 7 日目に癌細胞を静脈内に注射して、癌細胞の静脈注射の 3 週間後にマウスを犠牲死させ、肺組織を摘出した。

イ、自発肺内腫瘍転移への影響(右図)：皮下腫瘍の摘出手術を行う 1, 3, 7 日前に、マウスの胸部 X 線照射を行った。そして、皮下腫瘍摘出手術の約 5 週間後にマウスを犠牲死させ、肺組織を摘出した。

肺内癌転移の定量評価は、肺組織の重量および肺内腫瘍結節の数の計測により行う。

(5) 放射線照射により誘導した前転移ニッチの特性の解析

放射線照射 1, 3, 7 日後に、それぞれ肺組織を採集し、以下の解析により放射線照射により誘導した前転移ニッチの特性を炎症の視点から中心に調べた。

- PCR array 解析：肺組織内に炎症性関連因子、細胞接着分子、及び細胞外基質分子の発現変化（健常肺組織と比べ）を網羅的に調べた。
- 免疫組織化学解析：肺組織内の好中球やマクロファージなど炎症性細胞の浸潤を免疫組織化学染色により評価した。

(6) ニカラベン投与による癌転移抑制効果と機序解明

前記と同様、肺内腫瘍形成(転移)実験モデルと自発肺内腫瘍転移実験モデルを用いて、ニカラベン投与による癌転移の抑制効果を前記と同様に調べた(右図)。

また、治療後 1, 3, 7 日目に、肺組織を採集し、前記と同様に PCR array および組織学解析により、治療による肺組織内での炎症性関連分子や炎症性細胞の変化を調べた。

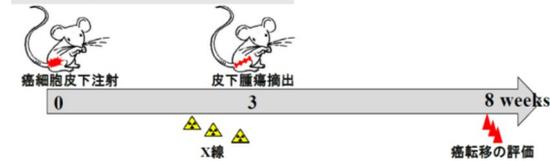
(7) ニカラベン投与による放射線照射の癌殺傷効果への影響

種々のマウスに皮下腫瘍モデルを用いて、放射線照射治療を行う。放射線照射の直前、直後にそれぞれニカラベンを投与した。対照治療として、生理食塩水を投与する。群間比較により、ニカラベンが放射線照射によるがんの殺傷効果へ与える影響を調べた。

ア：肺内腫瘍形成(転移)実験モデル



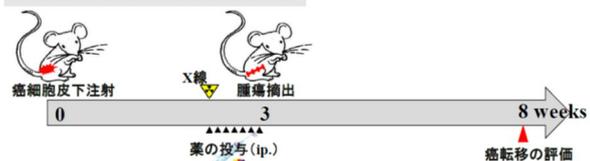
イ：自発肺内腫瘍転移の実験モデル



ア：肺内腫瘍形成(転移)実験モデル

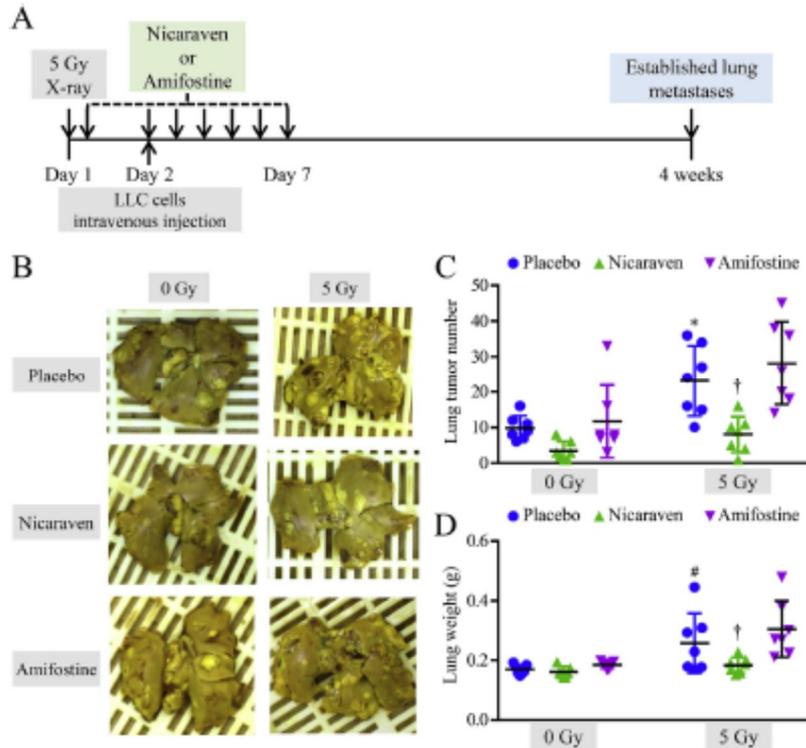


イ：自発肺内腫瘍転移の実験モデル

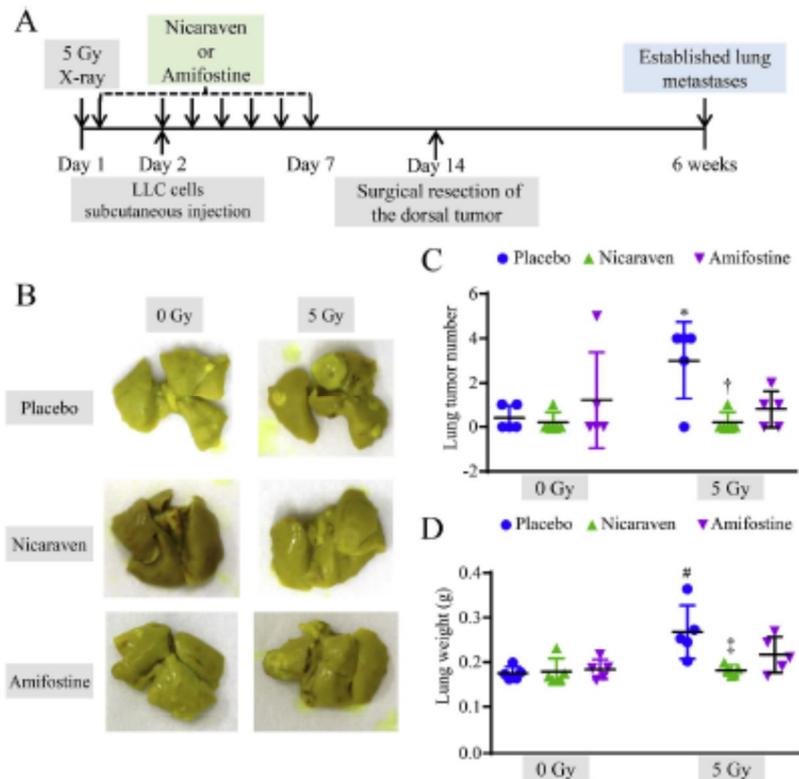


4. 研究成果

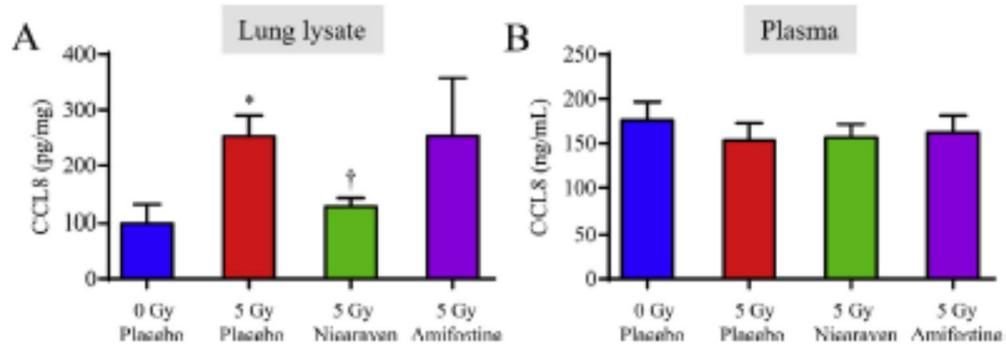
(1) 肺内腫瘍形成実験モデルにおいて、胸部局所放射線照射は肺に腫瘍形成数を顕著に増加したが、Nicaraven 投与により有意に抑制した(下図)。



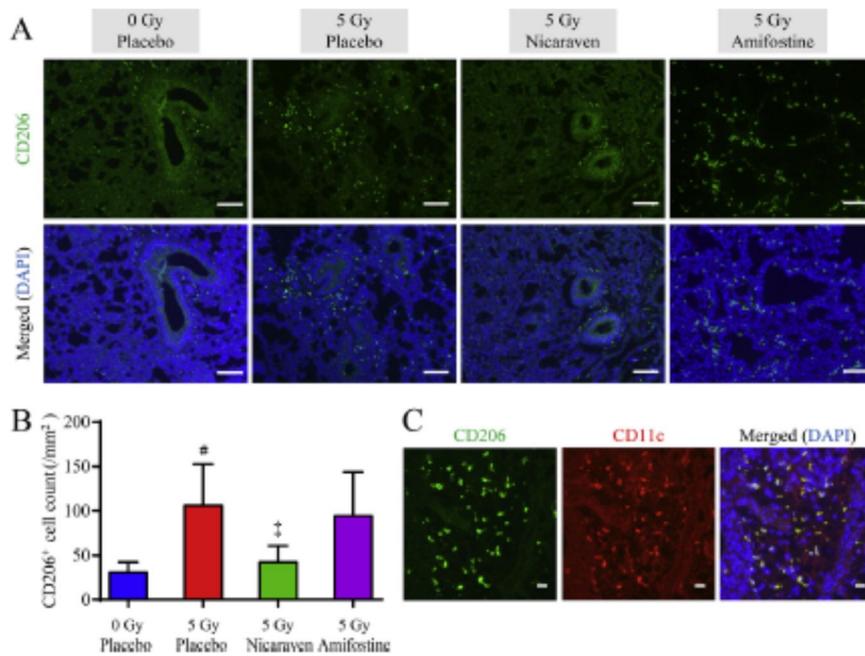
(2) 自発肺内腫瘍転移実験モデルにおいて、胸部局所放射線照射は腫瘍の肺内転移を促進したが、Nicaraven 投与により有意に抑制した(下図)。



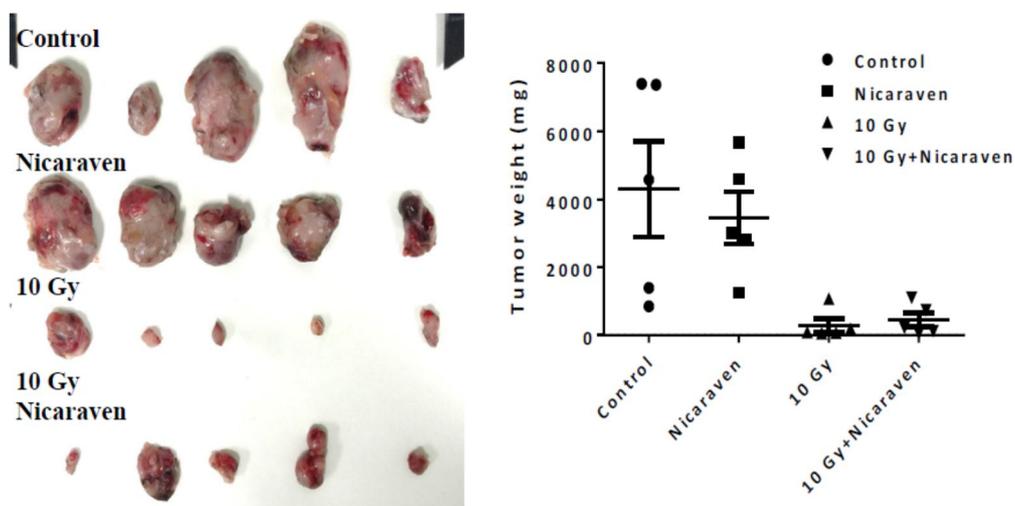
(3) 胸部放射線照射は肺組織内に CCL8 の有意な上昇を認められたが、Nicaraven 投与により CCL8 の上昇を効果的に緩和できた (下図)。



(4) 胸部放射線照射は肺組織内にマクロファージなど炎症性細胞が顕著な増加を認められたが、Nicaraven 投与により減少した (下図)。



(5) Nicaraven 投与により放射線照射による腫瘍殺傷作用に有意な影響を及ぼすことが見られなかった (下図)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Song Yuewang, Zhao Mengmeng, Xie Yuan, Zhu Tingfang, Liang Wenbin, Sun Baiming, Liu Weixin, Wu Liqun, Lu Guoping, Li Tao-Sheng, Yin Tong, Xie Yucai	4. 巻 23
2. 論文標題 Bmi-1 high-expressing cells enrich cardiac stem/progenitor cells and respond to heart injury	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Cellular and Molecular Medicine	6. 最初と最後の頁 104 ~ 111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1111/jcmm.13889	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 該当する
1. 著者名 El-Sayed Marwa, El-Feky Mohamed Ali, El-Amir Mostafa I., Hasan Al Shaimaa, Tag-Adeen Mohammed, Urata Yoshishige, Goto Shinji, Luo Lan, Yan Chen, Li Tao-Sheng	4. 巻 46
2. 論文標題 Immunomodulatory effect of mesenchymal stem cells: Cell origin and cell quality variations	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Biology Reports	6. 最初と最後の頁 1157-1165
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1007/s11033-018-04582-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Yan Chen, Luo Lan, Urata Yoshishige, Goto Shinji, Li Tao-Sheng	4. 巻 418
2. 論文標題 Nicaraven reduces cancer metastasis to irradiated lungs by decreasing CCL8 and macrophage recruitment	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Letters	6. 最初と最後の頁 204 ~ 210
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.canlet.2018.01.037	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 -
1. 著者名 Yan Chen, Li Tao-Sheng	4. 巻 38
2. 論文標題 Dual Role of Mitophagy in Cancer Drug Resistance	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 617 ~ 621
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.12266.	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 -

1. 著者名 Xu Zhang, Takahito Moriwaki, Tsuyoshi Kawabata, Shinji Goto, Ke-Xiang Liu, Chang-Ying Guo, Tao-Sheng Li	4. 巻 27
2. 論文標題 Nicaraven Attenuates Postoperative Systemic Inflammatory Responses-Induced Tumor Metastasis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology.	6. 最初と最後の頁 1068-1074
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-019-08076-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Xu Zhang, Tao-Sheng Li	4. 巻 27
2. 論文標題 ASO Author Reflections: How Should a Surgeon Care and Manage Cancer Metastasis?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology.	6. 最初と最後の頁 1075-1076
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-019-08131-y.	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2件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Xu Zhang, Lan Luo, Tao-Ssheng Li
2. 発表標題 The probable role of mesenchymal stem cells-derived exosomes in radiation-induced cardiovascular diseases
3. 学会等名 日本放射線影響学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Chen Yan, Lan Luo, Yoshishige Urata, Shinji Goto, Tao-Sheng Li
2. 発表標題 The effects of nicaraven on the survival of cancer cells and the growth of established tumors after radiation exposure
3. 学会等名 日本癌学会
4. 発表年 2017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	浦田 芳重 (URATA Yoshishige) (30185087)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・助教 (17301)	
研究 分担者	後藤 信治 (GOTO Shinji) (50186889)	長崎大学・原爆後障害医療研究所・助教 (17301)	