

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16256

研究課題名（和文）CAFの糖代謝に着目した腫瘍免疫制御のメカニズムの解明

研究課題名（英文）Regulation of metabolism in cancer associated fibroblasts

研究代表者

西 正暁（NISHI, Masaaki）

徳島大学・病院・助教

研究者番号：70464344

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：Cancer associated fibroblasts (CAF)・腫瘍関連マクロファージ (TAM) は腫瘍微小環境において、癌の浸潤・転移に関与することが報告されており、CAFをtherapeutic targetとした新規治療法の開発が近年進められているが臨床応用にいたっていない。現在、腫瘍微小環境の制御が治療成績向上に寄与すると期待されている。今回、CAFの代謝を制御することで腫瘍微小環境におけるPD-1/PD-L1、TGF $\beta$ 、MDSCを介した腫瘍免疫制御するとの着想にいたり、CAFをtherapeutic targetとした新規治療法の開発の可能性があると考え、本研究計画を実施した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

化学療法、免疫療法の変化に遅れることなく、腫瘍関連線維芽細胞 (CAF) /腫瘍関連マクロファージ (TAM) を中心とした腫瘍微小環境を介した抗腫瘍免疫のメカニズム解明、新規治療法に関する研究を行っていく必要がある。CAF制御により、治療抵抗性の問題を克服し、そのメカニズムを解明しようとする試みは、対象となる疾患すべてに応用できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Cancer associated fibroblasts (CAF) interact with cancer cells and play an important role in cancer initiation, growth, and metastasis. Furthermore Tumor associated macrophages (TAM) lead to cancer progression. This time, we focused on the metabolism in the tumor microenvironments. Cancer cells were cocultured with CAF or treated with CAF conditioned medium, after which their migration and invasion ability, epithelial mesenchymal transition (EMT) related marker expression and CXCL10 chemokine expression and secretion were detected. Lactic acid was significantly elevated in CAF. Furthermore, Macrophage Nrf2 activation by cancer cell-derived lactate skews macrophages polarization towards an M2-like phenotype and educated macrophages activate Nrf2 of the cancer cells to promote EMT of cancer cells. This study provides a new understanding of the role of Nrf2 in the cancer cell and TAM with lactate and VEGF signaling interaction and suggests a potential therapeutic target.

研究分野：腫瘍微小環境, 腫瘍外科

キーワード：腫瘍微小環境 糖代謝 癌間質線維芽細胞 glucose lactate 腫瘍関連マクロファージ

様式 C-19、F-19-1、Z-19

### 1. 研究開始当初の背景

早期の消化器癌は外科手術により根治が望めるが、進行再発癌は依然難治性である。Cancer associated fibroblasts (CAF) は腫瘍微小環境において、癌の浸潤・転移に関与することが報告されており、CAF を therapeutic target とした新規治療法の開発が近年進められているが臨床応用にはっていない。また Programmed cell death protein 1(PD-1)、Programmed cell death protein ligand 1 (PD-L1)などの免疫チェックポイントをターゲットとした治療が臨床応用され、腫瘍微小環境の制御が治療成績向上に寄与すると期待されている。

### 2. 研究の目的

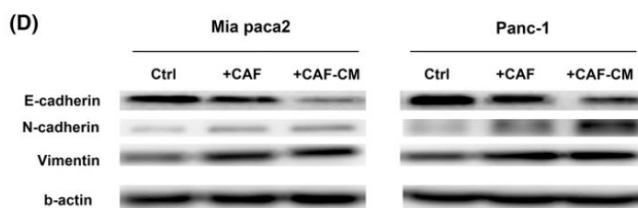
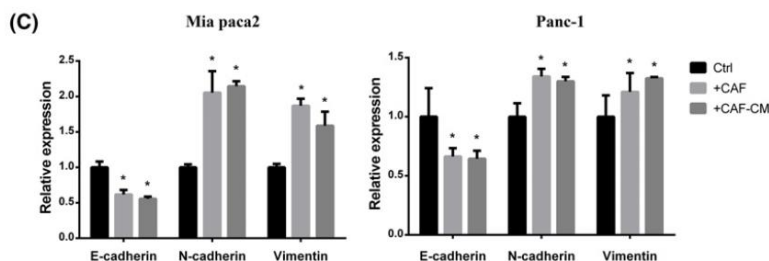
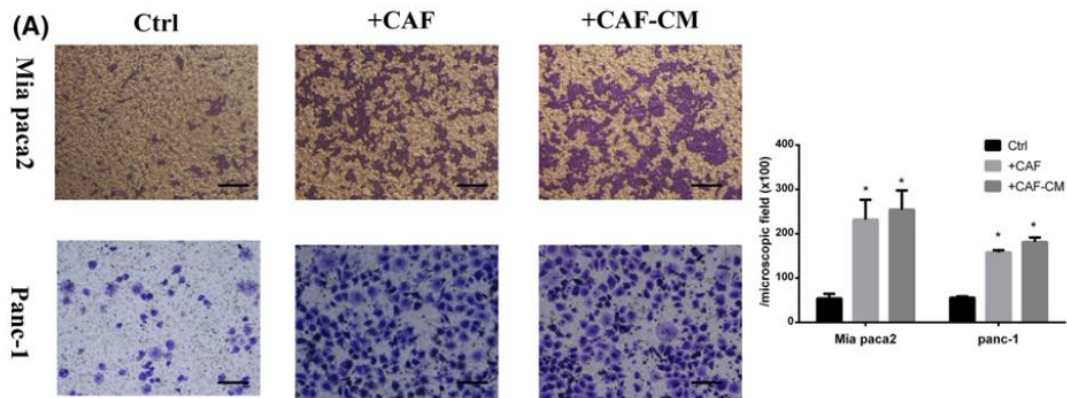
CAF を代謝を制御することで腫瘍微小環境における PD-1/PD-L1、TGFβ、MDSC を介した腫瘍免疫制御するとの着想にいたり、CAF を therapeutic target とした新規治療法の開発に密接に関与する可能性があると考え、本研究計画を立案した。

### 3. 研究の方法

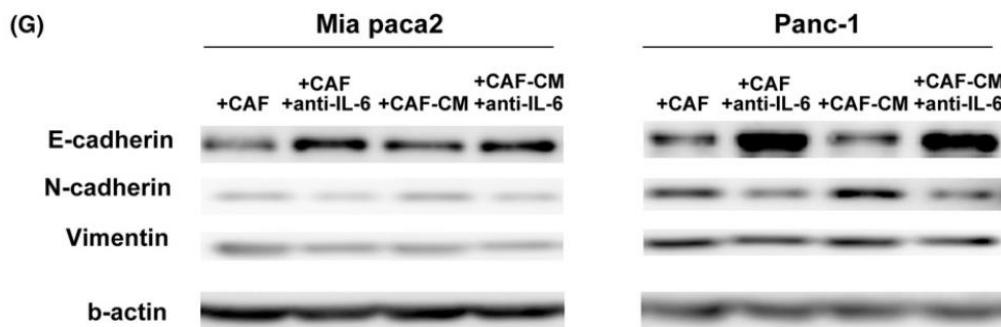
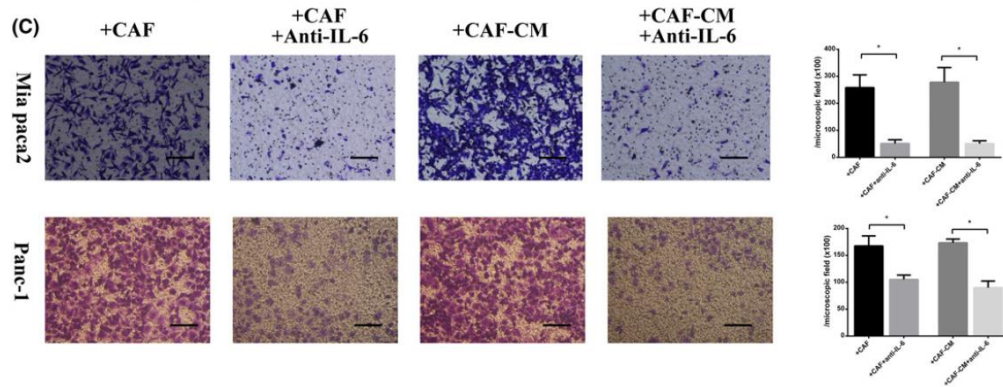
今回、膵癌における CAF の癌細胞悪性度増強効果並びに nab-PTX の膵癌細胞と CAF の相互作用に対する効果を解明する目的で、膵癌細胞株 (MIA PaCa-2, Panc-1) とヒト臨床癌検体から抽出した PSC (CAF) (※徳島大学病院消化器・移植外科膵切除症例から抽出：徳島大学病院倫理委員会 #2790) を用いて、癌細胞での浸潤能、遊走能、EMT 関連因子、C-X-C motif chemokine 10 (CXCL10) 発現、CAF での IL-6 発現を評価した。また nab-PTX の効果を検討した。腫瘍との線維芽細胞共培養下に CAF を作成し、lactate/IL-6/αSMA の評価を行った。さらに lactate-Nrf2-VEGF の腫瘍関連マクロファージ (TAM) への影響を検討した。

### 4. 研究成果

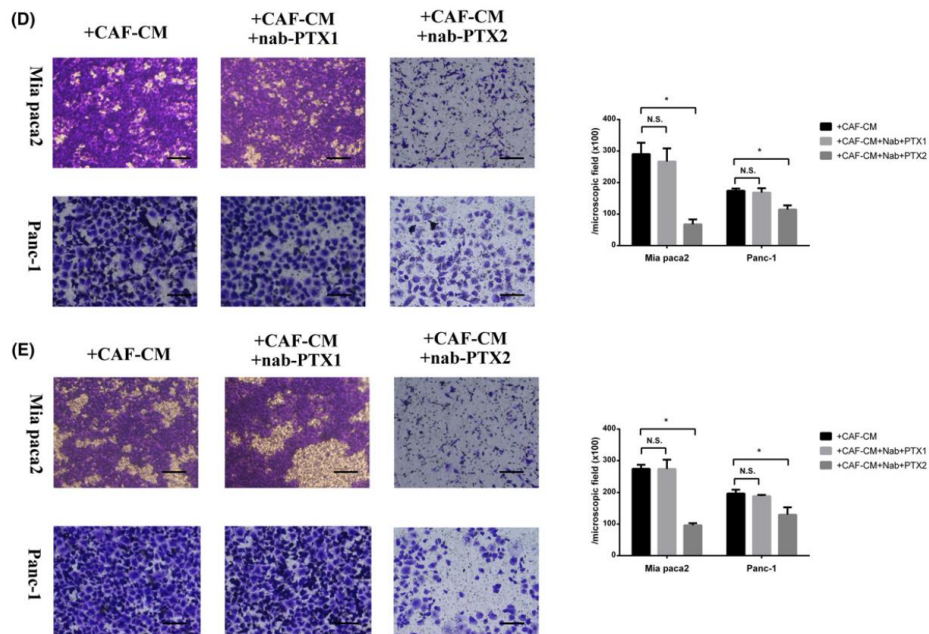
まず初年度は癌細胞と CAF の共培養下における代謝制御と腫瘍免疫の研究を In Vitro で実施した。癌細胞と CAF を共培養し、その代謝を制御すること生物学的メカニズムの研究を行い、腫瘍免疫への効果を明らかにした。膵癌細胞株 (MIA PaCa-2, Panc-1) とヒト臨床癌検体から抽出した PSC (CAF) を用いて、癌細胞での浸潤能、遊走能、EMT 関連因子、C-X-C motif chemokine 10 (CXCL10) 発現、CAF での IL-6 発現を評価した。CAF により膵癌細胞の浸潤能・遊走能の増強、E-cadherin 発現の低下、N-cadherin・vimentin 発現の上昇が認められ悪性度が増強した。

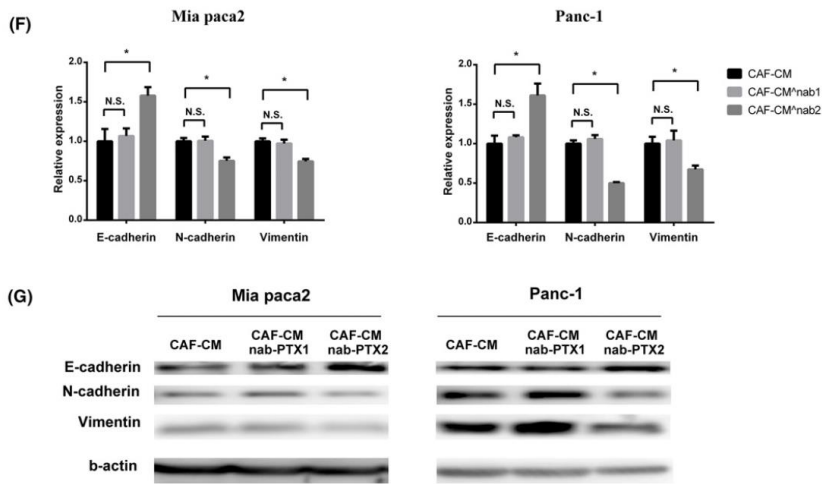


膵癌細胞の悪性度増強に CAF での IL-6 発現上昇が関与した。Anti-IL6 投与により、CM の悪制度増強効果はキャンセルされた。

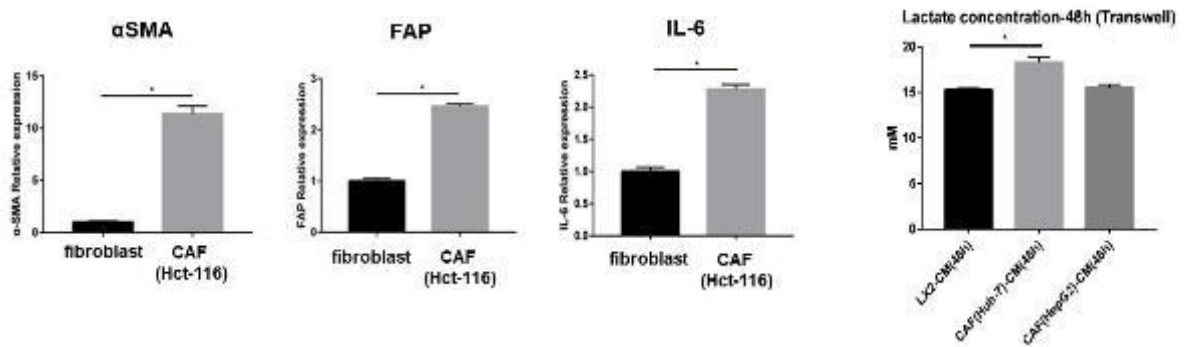


CAF による膵癌細胞悪性度増強に対する効果を解明する目的で研究を行い、nab-PTX は CAF での IL-6 発現抑制、膵癌細胞での CXCL10 発現増強を介して、膵癌微小環境における膵癌細胞と CAF との相互作用に抑制的に働くことが示唆された。

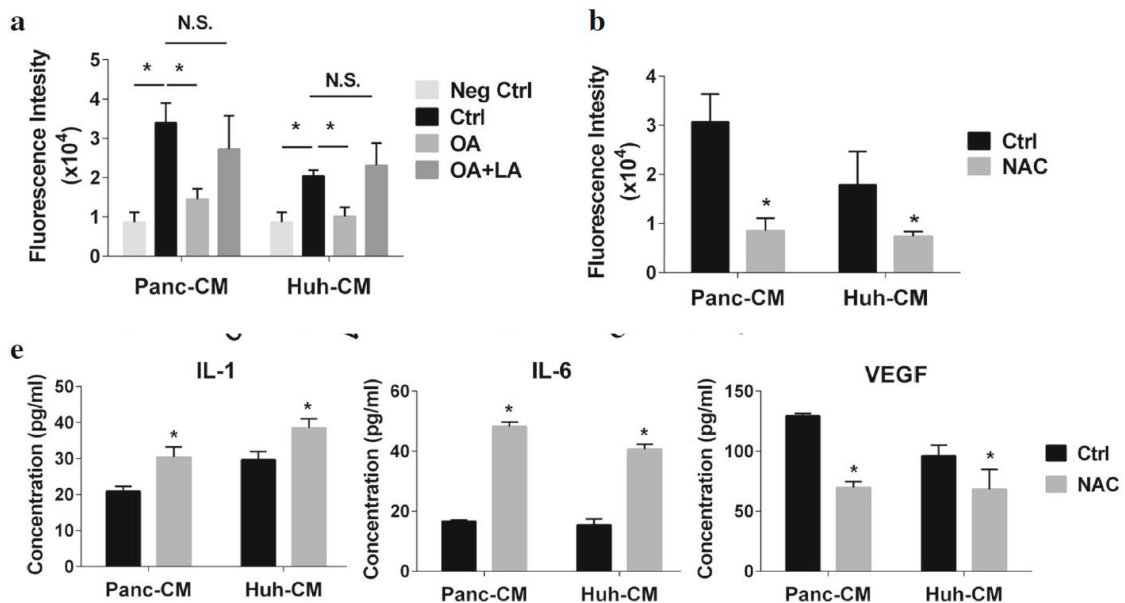


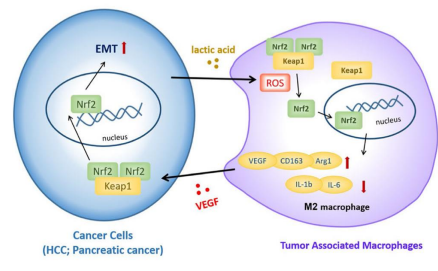
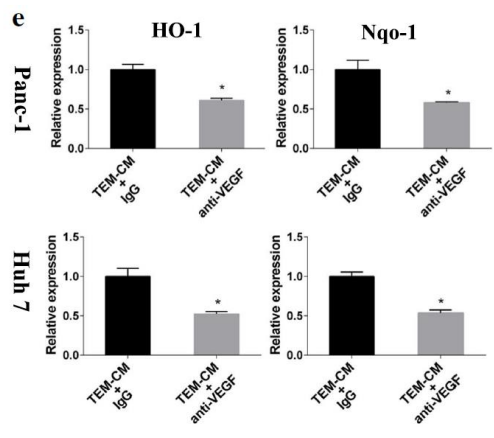


一方、normal fibroblast を用いて行った実験において、肝がん・大腸癌細胞株と fibroblast の共培養において  $\alpha$ SMA/FAP/IL6 の上昇は認められた。



Lactate の腫瘍微小環境における意義を検討し、Nrf2 (NF-E2 related factor 2) に着目した。今回、癌細胞とマクロファージのコミュニケーションシグナルを解明することを目的とし研究を行い、TAM 分極化に Nrf2 が関与し、癌由来の乳酸がマクロファージの ROS 産生を介して Nrf2 活性化、さらには M2 型への分極化に寄与することが示唆された。さらに M2 型マクロファージ (TAM) が VEGF 分泌により癌の Nrf2 を活性化し、さらに悪性度を増強する相互作用を解明した。





## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8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 ISHIKAWA DAICHI, NISHI MASAOKI, TAKASU CHIE, KASHIHARA HIDEYA, TOKUNAGA TAKUYA, HIGASHIJIMA JUN, YOSHIKAWA KOZO, SHIMADA MITSUO	4. 巻 34
2. 論文標題 The Role of Neutrophil-to-lymphocyte Ratio on the Effect of CRT for Patients With Rectal Cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 In Vivo	6. 最初と最後の頁 863 ~ 868
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/invivo.11850	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 ISHIKAWA DAICHI, YOSHIKAWA KOZO, TAKASU CHIE, KASHIHARA HIDEYA, NISHI MASAOKI, TOKUNAGA TAKUYA, HIGASHIJIMA JUN, SHIMADA MITSUO	4. 巻 40
2. 論文標題 Expression Level of MicroRNA-449a Predicts the Prognosis of Patients With Gastric Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 239 ~ 244
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancer.13945	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 IWAHASI SHUICHI, RUI FENG, MORINE YUJI, YAMADA SHINICHIRO, SAITO YU, IKEMOTO TETSUYA, IMURA SATORU, SHIMADA MITSUO	4. 巻 40
2. 論文標題 Hepatic Stellate Cells Contribute to the Tumor Malignancy of Hepatocellular Carcinoma Through the IL-6 Pathway	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 743 ~ 749
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancer.14005	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 ISHIKAWA DAICHI, TAKASU CHIE, KASHIHARA HIDEYA, NISHI MASAOKI, TOKUNAGA TAKUYA, HIGASHIJIMA JUN, YOSHIKAWA KOZO, YASUTOMO KOJI, SHIMADA MITSUO	4. 巻 39
2. 論文標題 The Significance of MicroRNA-449a and Its Potential Target HDAC1 in Patients With Colorectal Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 2855 ~ 2860
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancer.13414	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 ENKHBAT TUMENJIN, NISHI MASAOKI, YOSHIKAWA KOZO, JUN HIGASHIJIMA, TOKUNAGA TAKUYA, TAKASU CHIE, KASHIHARA HIDEYA, ISHIKAWA DAICHI, TOMINAGA MASAHIKO, SHIMADA MITSUO	4. 巻 38
2. 論文標題 Epigallocatechin-3-gallate Enhances Radiation Sensitivity in Colorectal Cancer Cells Through Nrf2 Activation and Autophagy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 6247 ~ 6252
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.12980	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 NISHI MASAOKI, YOSHIKAWA KOZO, HIGASHIJIMA JUN, TOKUNAGA TAKUYA, KASHIHARA HIDEYA, TAKASU CHIE, ISHIKAWA DAICHI, WADA YUMA, SHIMADA MITSUO	4. 巻 38
2. 論文標題 The Impact of Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) Expression on Stage III Gastric Cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 3387 ~ 3392
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.12605	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 Feng Rui, Morine Yuji, Ikemoto Tetsuya, Imura Satoru, Iwahashi Shuichi, Saito Yu, Shimada Mitsuo	4. 巻 16
2. 論文標題 Nrf2 activation drive macrophages polarization and cancer cell epithelial-mesenchymal transition during interaction	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Communication and Signaling	6. 最初と最後の頁 54-54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12964-018-0262-x	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 Feng Rui, Morine Yuji, Ikemoto Tetsuya, Imura Satoru, Iwahashi Shuichi, Saito Yu, Shimada Mitsuo	4. 巻 109
2. 論文標題 Nab-paclitaxel interrupts cancer-stromal interaction through C-X-C motif chemokine 10-mediated interleukin-6 downregulation in vitro	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2509 ~ 2519
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13694	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4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西正暁, 島田光生, 高須千絵, 東島潤, 吉川幸造, 宮谷知彦, 徳永卓哉, 柏原秀也
2. 発表標題 大腸癌におけるsidednessからみた腫瘍免疫機構
3. 学会等名 第119回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高須千絵, 森根裕二, 居村暁, 池本哲也, 岩橋衆一, 齋藤裕, 山田眞一郎, 和田佑馬, 良元俊昭, 太田昇吾, 島田光生
2. 発表標題 大腸癌肝転移における免疫逃避機構は原発巣と異なる可能性がある
3. 学会等名 第119回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山田眞一郎
2. 発表標題 肝胆膵領域悪性腫瘍におけるNrf2に着目した腫瘍関連マクロファージ活性化についての検討
3. 学会等名 第30回日本消化器癌発生学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 荒川悠佑, 宮崎克己, 吉川雅登, 山田眞一郎, 齋藤裕, 池本哲也, 居村暁, 森根裕二, 島田光生
2. 発表標題 肝癌細胞におけるNrf2に着目した腫瘍関連マクロファージ活性化の検討
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
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
研究協力者	池本 哲也  (IKEMOTO Tetsuya)		
研究協力者	吉川 幸造  (YOSHIKAWA Kozo)		
研究協力者	高須 千絵  (TAKASU Chie)		
研究協力者	岩橋 衆一  (IWAHASHI Shuichi)		
研究協力者	柏原 秀也  (KASHIHARA Hideya)		