

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16465

研究課題名（和文）光受容体Opsin3を介した青色LED光による消化器癌薬剤耐性解除に関する研究

研究課題名（英文）Opsin3-mediated inhibition of colon cancer drug resistance by blue LED irradiation.

研究代表者

良元 俊昭（YOSHIMOTO, Toshiaki）

徳島大学・病院・特任助教

研究者番号：20758198

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、青色LED光照射が大腸癌の腫瘍微小環境に及ぼす影響をin vitroおよびin vivoで評価した。HCT116細胞の条件培地を用いて腫瘍関連線維芽細胞（CAF）・腫瘍関連マクロファージ（TAM）を作成し青色LED光照射の効果を調査した。結果として、照射によりCAFのIL-6発現やTAMのCD163、CD206発現及びVEGF分泌が低下し、CAF・TAMによるHCT116細胞の遊走能促進作用が抑制された。また、in vivo実験のLED照射群では腫瘍サイズの減少が見られ、青色LED光照射は腫瘍と腫瘍微小環境を制御することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸・直腸癌の罹患者は増加の一途をたどっているが、下部直腸癌の外科的治療では肛門温存・肛門機能温存が不可能な場合が多々あり、また化学放射線療法も種々の副作用や薬剤耐性が問題となる。我々はこれまでに、青色LED光は大腸癌に対して光受容体Opn3を介して細胞増殖抑制効果を示すことを報告してきた。さらに本研究では腫瘍細胞のみならずCAF・TAMからなる腫瘍微小環境への青色LED光の効果を明らかにした。本研究の成果は大腸・直腸癌に対する新たな低侵襲治療法の臨床応用への大きな一歩となると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, the effects of blue LED light irradiation on the tumour microenvironment of colorectal cancer were evaluated in vitro and in vivo: tumour-associated fibroblasts (CAFs) and tumour-associated macrophages (TAMs) were generated using conditioned medium of HCT116 cells and the effects of blue LED light irradiation were investigated. The results showed that irradiation reduced IL-6 expression in CAFs and CD163, CD206 expression and VEGF secretion in TAMs, and inhibited the migration-promoting effect of CAFs and TAMs on HCT116 cells. In addition, tumour size was reduced in the LED-irradiated group in in vivo experiments, suggesting that blue LED light irradiation regulates tumours and the tumour microenvironment.

研究分野：大腸癌、光治療、LED、抗癌剤、薬剤耐性、腫瘍微小環境

キーワード：青色LED光 大腸癌 光受容体 オプシン Opn3 腫瘍微小環境 CAF TAM

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大腸・直腸癌の罹患者は増加の一途をたどっているが、下部直腸癌の外科的治療では肛門温存・肛門機能温存が不可能な場合が多々あり、また化学放射線療法も種々の副作用や薬剤耐性が問題となる。我々はこれまでに、青色 LED の抗腫瘍効果について光受容体が関与しているという仮説の下、ヒト体細胞に広く発現している Gi/o G タンパク共役型光受容体 opsin3(Opn3)に着目し研究を行い、青色 LED 光は大腸癌に対して光受容体 Opn3 を介してオートファジーを誘導し細胞増殖抑制効果を示すことを報告してきた(T. Yoshimoto et al. Annals of Gastroenterological Surgery, 2018)。しかし実際の癌治療においては腫瘍細胞単一の制御のみでは不十分であり、癌関連線維芽細胞(Cancer associated fibroblast: CAF)・癌関連マクロファージ(Tumor associated macrophage: TAM)からなる腫瘍微小環境の制御が必要となる。

2. 研究の目的

癌関連線維芽細胞(CAF)・癌関連マクロファージ(TAM)からなる腫瘍微小環境への青色 LED 光照射の効果を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) ヒト大腸癌細胞株 HCT116 の conditioned medium (CM)を用いヒト線維芽細胞を培養後、青色 LED 照射(465nm・30mW/cm²・30min)群と control 群に分け 48 時間後に CAF の活性と Opn3 発現について評価した。さらに LED 照射 + / - の CAF-CM で HCT-116 の培養を行い、migration assay, invasion assay を行った。

(2) THP-1 細胞に 150nM PMA を加え培養し M0 マクロファージに分化させ、HCT-116 の CM で 48 時間培養後、青色 LED 照射(465nm・30mW/cm²・30min)群と control 群に分け TAM マーカー発現と Opn3 発現について評価した。さらに LED 照射 + / - の TAM-CM で HCT-116 の培養を行い、migration assay, invasion assay を行った。

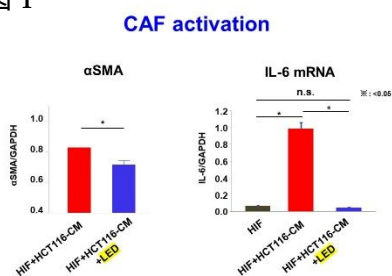
(3) 上記 CAF/TAM の CM で HCT-116 の培養を行い PD-L1 発現について評価し、LED 照射 + / - の CAF/TAM の CM で同様の検討を行い、LED 照射の影響を評価した。

(4) 4 週齢 BALB/c マウス直腸粘膜下にマウス大腸癌細胞 CT-26 を注入し、1 週間後より青色 LED(465nm・30mW/cm²・30min)/week 照射し抗腫瘍効果を検討した。

4. 研究成果

(1) 青色 LED 光照射により CAF の SMA 及び IL-6 発現が有意に減少した(図 1)。

図 1



LED 照射ありの CAF-CM で培養した HCT-116 は遊走能・浸潤能が低下した(図 2,3)。

図 2

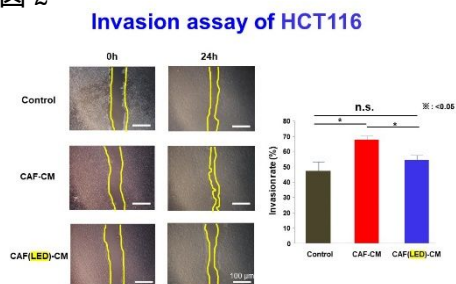
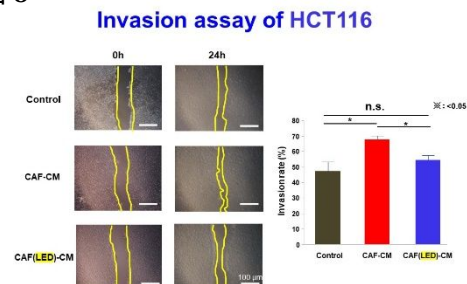
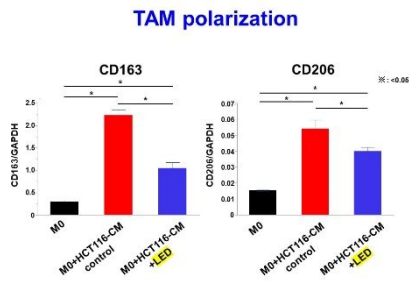


図 3



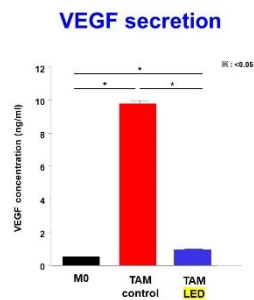
(2) 青色 LED 光照射群では対照群と比して CD163, CD206 発現が低下した(図 4)。

図 4



また青色 LED 光照射により VEGF 分泌が有意に減少した(図 5)。LED 照射ありの TAM-CM で培養した HCT-116 は同様に遊走能・浸潤能が低下した。

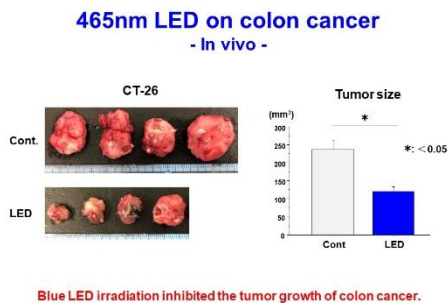
図 5



(3) CAF/TAM の CM で培養した HCT-116 では PD-L1 発現が上昇し、LED 照射ありの TAM-CM で培養した HCT-116 の PD-L1 発現は LED 照射なしと比較して低下した。

(4) 青色 LED 光照射群では腫瘍サイズが減少(図 6)し、腫瘍間質の SMA・TGF- β 発現が低下し腫瘍内の M2 マクロファージマーカー陽性のリンパ球が減少した。

図 6



以上の結果から、青色 LED 光は CAF/TAM といった腫瘍微小環境に対しても抑制効果を発揮し、腫瘍抑制に働きうるということが明らかとなった。

腫瘍細胞の薬剤耐性獲得には CAF/TAM との相互作用が重要な役割を果たしていると考えられており、青色 LED 光照射が CAF/TAM を抑制することで薬剤耐性解除につながることを示唆される。

今後、腫瘍そのものあるいは腫瘍微小環境全体への青色 LED 光照射が、薬剤耐性に与える影響について研究を行っていく。

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 Yoshimoto T, Shimada M, Tokunaga T, Nakao T, Nishi M, Takasu C, Kashihara H, Wada Y, Okikawa S, Yoshikawa K	4. 巻 47
2. 論文標題 Blue light irradiation inhibits the growth of colon cancer and activation of cancer-associated fibroblasts.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oncology Reports	6. 最初と最後の頁 104-104
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/or.2022.8315.	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 良元俊昭, 吉川幸造, 中尾寿宏, 徳永卓哉, 西正暁, 柏原秀也, 高須千絵, 和田佑馬, 沖川昌平, 山下祥子, 岩川陽介, 島田光生
2. 発表標題 青色LEDの腫瘍関連マクロファージ(TAM)および大腸癌細胞に対する効果
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 良元俊昭, 吉川幸造, 中尾寿宏, 徳永卓哉, 西正暁, 柏原秀也, 高須千絵, 和田佑馬, 沖川昌平, 島田光生
2. 発表標題 大腸癌腫瘍関連マクロファージに対する青色LEDの効果
3. 学会等名 第77回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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