

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293286

研究課題名(和文) 腹膜播種細胞が足場とするニッチ様細胞の同定とその標的化による治療技術の開発

研究課題名(英文) Development of a novel therapeutic approach based on the mechanism of tumor dissemination

研究代表者

米満 吉和 (Yonemitsu, Yoshikazu)

九州大学・薬学研究科(研究院)・教授

研究者番号：40315065

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：がん性腹膜炎は消化器がんや卵巣がんにおける非常に難治性の病態であり、現在までに有効な治療法が確立されておらず、またその形成メカニズムも不明であった。

本研究においては、がん細胞の生着=腹膜播種形成に従来必須と考えられていた“Milky spots”が必須ではなく、腸間膜上の傍血管脂肪織に存在するSCF+/CXCL12+で規定される造血幹細胞ニッチ様細胞こそが重要であることを発見し、従来の仮説と異なる転移様式が存在していることを突き止めた。すなわち、この極めて難治性の病態の治療法開発を推進する上で、Sp1/CXCR4/CXCL12カスケードが合理的な創薬ターゲットとなることを証明した。

研究成果の概要(英文)：Peritonitis carcinomatosa is an advanced and intractable state of gastrointestinal and ovarian cancer, where mechanistic elucidation might enable the development of more effective therapies. Peritoneal dissemination of this type of malignancy has been generally thought to initiate from "milky spots" of primitive lymphoid tissues in the peritoneal cavity. Spheroid formation strongly induced the expression of CXCR4 in an Sp1-dependent manner to promote niche-directed metastasis. Notably, disrupting sphere formation or inhibiting Sp1 activity was sufficient to suppress tumor dissemination and potentiated chemosensitivity to 5-fluoro-uracil. Our findings illuminate mechanisms of peritoneal cancer dissemination and highlight the Sp1/CXCR4/CXCL12 signaling axis as a rational target for the development of therapeutics to manage this intractable form of malignancy.

研究分野：血管外科学、病理病態学、腫瘍免疫学

キーワード：腹膜播種 悪性腫瘍 治療抵抗性

1. 研究開始当初の背景

消化器がんの腹膜播種は今なお予後不良であり、確立された治療法や延命に明らかな有用性が確認された技術は存在しない。申請者らはこれまで、驚くべきことに(1)腹膜では造血現象が見られること、そして骨髄における造血幹細胞の維持に重要な(2)ニッシュ様 CAR 細胞 (CXCL12-abundant reticular 細胞) が腹膜に存在することを突き止め、がん細胞がそれを足場にして増殖し、幹細胞様の形質を示す可能性が示唆されていた。

2. 研究の目的

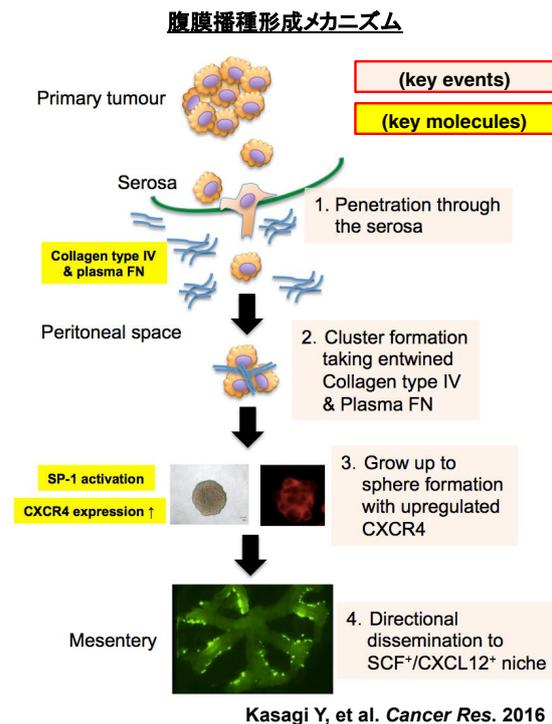
上記のこれまでのデータは、腹膜播種が化学療法に極めて抵抗性が高いという臨床的知見を支持する。そこで本研究では、腹膜播種の全容を解明するとともに、腹膜 CAR 細胞や播種結節を標的とした治療技術を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

主に、これまでに確立させたマウス腹膜播種モデル(大腸がん細胞株: CT26)を用いて、その成立機序解明並びに治療技術の確立を図るため、結節形成領域の精査と、腹腔内タンパク成分の腫瘍細胞に与える影響の検討、明らかになったそれらに基づく薬物スクリーニング技術の確立を進めた。

4. 研究成果

明らかになった腹膜播種の全容は下図の通り。CT26 (マウス大腸がん細胞株) 及び HCT116 (ヒト大腸がん細胞株) を用いた研究で、(1) 腫瘍細胞は腹腔内接種直後にクラスターを形成すること、(2) クラスターを形成したがん細胞が CXCR4 を強力に発現する



ようになること、(3) CXCR4 を発現するクラスターが腹膜上の CAR 細胞 niche に遊走・集積すること、(4) このプロセスは aphidicolin による細胞増殖抑制により影響されないことから「腫瘍細胞が非増殖性に細胞クラスターを形成すると、クラスター全体の形質が変化すること」を明らかにした。

さらに、この腹膜播種形成メカニズムを基に、腫瘍細胞がクラスターを形成する過程、および形成されたクラスターを効率よく破壊可能な化合物のスクリーニングを行える系を構築した(下図)。

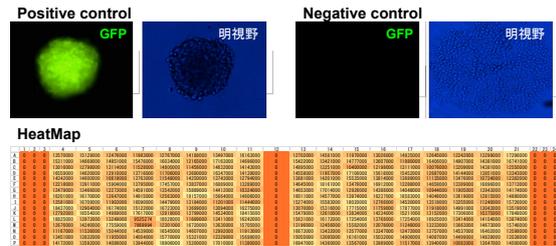


図: CT26を用いたSpheroid形成に基づくスクリーニング系の予備実験  
GFPによりSpheroid形成を感度よく検出可能な系の確立に成功。

本システムを利用して、東大創薬機構の持つ Validated library を対象としたスクリーニングを実施した。本スクリーニングは腹膜播種メカニズムに基づいて設計されており、Hit 化合物はいずれも現状では腹膜播種に適応が無いものの、腹膜播種に効果が期待出来ると考えられる。事実、PD0325901 はマウスモデル(大腸癌腹膜播種モデル: 申請者データ)で劇的に奏功し、Triptolide もマウスモデル(腹水貯留のある膵がんモデル: ミネソタ大学)で顕著な効果を示している開発中の化合物である。前者のターゲットである MEK は近年開発が進められてきたものである (Trametinib が世界初; 2013 年 5 月 FDA 承認)。

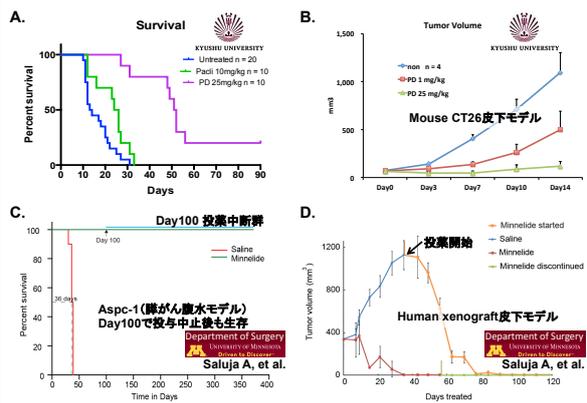


図: Hit化合物によるマウスモデルでの評価

A. 腹膜播種 (PD0325901 著効), B. 皮下腫瘍 (PD0325901 著効)  
C. 腹膜播種 (Minnelide 著効), D. 皮下腫瘍 (Minnelide 著効)

Hit 化合物のマウス腹膜播種モデルに対する著名な腫瘍縮小/腹水減少/生存延長効果を認めたことで、当該スクリーニング技術の有用性を証明するに至った。

今後、革新的な創薬へと繋げるため、本研究を礎として開発を進める。

## 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 2 件)

1. Kimura Y, Harada Y, Yasuda N, Ishidao T, Yusa S, Matsusaki K, Yonemitsu Y. Effective recovery of highly purified CD326+ tumor cells from lavage fluid of patients treated with a novel cell-free and concentrated ascites reinfusion therapy (KM-CART)

*SpringerPlus*. 4:780, DOI: 10.1186/s40064-015-1508-3, 2015.

2. Kasagi Y, Harada Y, Morodomi Y, Iwai T, Saito S, Yoshida K, Oki E, Saeki H, Ohgaki K, Sugiyama M, Onimaru M, Maehara Y, Yonemitsu Y.

Peritoneal dissemination requires an Spl1-dependent CXCR4/CXCL12 signaling axis and extracellular matrix-directed spheroid formation

*Cancer Research*. 76:347-357, 2016.

[学会発表] (計 7 件)

1. Harada Y, Morodomi Y, Yonemitsu Y. 腹膜播種がん幹細胞様細胞が足場とするニッシェ様細胞の同定とその標的化  
The 72nd Japanese Cancer Association, 2013、第 72 回 日本癌学会 (横浜)

2. Harada Y, Morodomi Y, Kasagi Y, Saito S, Yonemitsu Y.

Molecular and Cellular Mechanism of Tumor Dissemination in the Peritoneal Cavity  
The 22nd European Society of Gene and Cell Therapy, 2013、第 22 回 ヨーロッパ遺伝子細胞治療学会 (Spain, Madrid)

3. Harada Y, Morodomi Y, Kasagi Y, Yonemitsu Y.

Molecular and cellular mechanism of tumor dissemination in the peritoneal cavity  
The 20th Annual Meeting of JSST, 2014、第 20 回 日本遺伝子治療学会 (東京)

4. Harada Y, Kasagi Y, Morodomi Y, Yonemitsu Y.

Molecular and Cellular Mechanism of Directed Tumor Dissemination in the Peritoneal Cavity

The 73rd Japanese Cancer Association, 2014、第 73 回 日本癌学会 (横浜)

5. Harada Y, Morodomi Y, Kasagi Y, Yonemitsu Y.

Identification of mesenteric hematopoiesis where is the metastatic

niche of tumor dissemination

The 25th Annual Meeting of the Japanese Society for Gastroenterological Carcinogenesis, 2014、第 25 回 日本消化器がん発生学会 (福岡)

6. Harada Y, Teraishi K, Morodomi Y, Yamashita T, Tsuda M, Inoue K, Yonemitsu Y.

Development of a novel therapeutic approach based on the mechanism of tumor dissemination

The 26th Annual Meeting of the Japanese Society for Gastroenterological Carcinogenesis, 2015、第 26 回 日本消化器がん発生学会 (米子)

7. Teraishi K, Harada Y, Morodomi Y, Yamashita T, Tsuda M, Inoue K, Yonemitsu Y, Maehara Y.

腹膜播種形成メカニズムに基づく治療技術の開発-その 2

The 26th Annual Meeting of the Japanese Society for Gastroenterological Carcinogenesis, 2015、第 26 回 日本消化器がん発生学会 (米子)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 規則的に配置された同一サイズのスフェロイド群及びその利用

発明者: 原田結、諸富洋介、寺石紘司、米満吉和

権利者: 株式会社ガイアバイオメディシン、米満吉和

種類: 通常出願

番号: 特願 2016- 37519

出願年月日: 2016 年 2 月 29 日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

革新的バイオ医薬創成学

<http://lits-tr.org>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

米満 吉和 (YONEMITSU YOSHIKAZU)

九州大学・薬学研究院・教授

研究者番号：40315065

(2) 研究分担者

原田 結 (HARADA YUI)

九州大学・薬学研究院・助教

研究者番号：00608507

齊藤 智 (SAITO SATORU)

九州大学・薬学研究院・学術研究員

研究者番号：50634193

(～H25年度：転出のため)

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：