

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10590

研究課題名(和文) 癌増悪因子：CD147 Emprinを標的とした新規の抗癌免疫療法の基盤の確立

研究課題名(英文) Development of novel anti-cancer immune therapies targeting CD147 antigen

研究代表者

小林 泰之 (Kobayashi, Yasuyuki)

岡山大学・大学病院・講師

研究者番号：50366027

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)：CD147癌抗原-サイトカイン融合タンパク質群を独自に作成し、担癌モデルマウスにおける治療実験系を確立し、CD147癌抗原を発現する腫瘍に特異的な抗腫瘍効果を確認した。また、癌増殖抑制タンパク質：REIC/Dkk-3と癌増悪タンパク質CD147タンパク質の相互関係を示唆する所見として、REIC/Dkk-3の発現が癌増悪因子であるCD147の発現をダウンレギュレーションしていることが明らかとなった。今回の研究成果として、CD147タンパク質が各種サイトカインやREIC/Dkk-3に基づく癌免疫・ワクチン療法において有望な標的となり得ることが示された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we validated and confirmed the anti-cancer immune activity of the fusion proteins consisted of CD147 antigen and cytokines, in in vivo experimental models. We also disclosed the inhibitory function of REIC/Dkk-3 protein overexpressed by Ad-REIC agents, in the endogenous CD147 expression in bladder and prostate cancer cells. We believe that the CD147 antigen could be a promising target for anti-cancer therapy. We are going to conduct the further study to develop novel anti-cancer immune therapies targeting CD147 antigen.

研究分野：腫瘍学

キーワード：癌治療 CD147 腫瘍学

## 1. 研究開始当初の背景

癌領域においては、抗癌免疫活性化効果を期待した種々の癌治療薬の開発が進められている。申請者らによって新規の癌免疫療法「癌治療遺伝子 REIC/Dkk-3 を用いた前立腺癌に対する in-situ 遺伝子治療」の臨床研究が実施され、PSA 低下を伴う抗腫瘍効果および自己癌ワクチン化作用が誘導されることが報告されている。しかしながら、液性免疫および細胞性免疫を賦活化する、いわば抗癌免疫の Key となる標的癌抗原の同定が喫緊の課題であると言える。そこで本研究では、新規の抗癌免疫療法の標的分子として癌増悪因子：CD147 タンパク質 (Basigin or EMMPRIN と呼ばれる) に着目して研究を実施した。

## 2. 研究の目的

癌抗原 CD147 タンパク質を標的とした抗癌免疫活性化治療剤としての CD147-サイトカイン融合タンパク質群を用いて、これらの抗癌免疫作用を検証することを目的とした。さらに、これらサイトカイン成分の併用による治療戦略に基づき、癌増悪因子：CD147 を標的とした抗癌免疫療法・樹状細胞療法の最適化をはかる為の基盤を確立することを目的とした。

## 3. 研究の方法

癌抗原 CD147 タンパク質と各種サイトカイン (mouse GMCSF, human IL2, mouse IL4, human IL7) の融合タンパク質群を用いて、in vitro 実験およびマウスを用いた in vivo 基盤研究を実施した (これらの融合タンパク質については、マウス膀胱癌 MBT2 細胞を移植した担癌マウスモデルでの治療実験においては、既に抗腫瘍効果が確認をされていた)。また、既に抗癌免疫誘導作用が報告されている Ad-REIC 剤 (REIC 遺伝子をコードしたアデノウイルスベクター) および REIC タンパク質について、それらの作用を癌抗原 CD147 の発現動態の観点から解析した。

## 4. 研究成果

CD147 タンパク質は尿路性器癌を含むほぼ全ての癌種でその発現が増強しており、その

一部は細胞外へと分泌され、癌浸潤・転移、腫瘍増殖を引き起こす細胞膜上に存在する機能性タンパク質である。CD147 は、近年、癌増悪タンパク質として注目をされており、我々は今回、各種癌に対する新規の免疫細胞療法を開発するために、癌抗原としての CD147 に着目して研究を行った。特に、ヒト CD147 を標的とした抗癌免疫活性化治療剤としての CD147 癌抗原-サイトカイン融合タンパク質群を独自に作成し、担癌モデルマウスにおける治療実験系を確立し、CD147 癌抗原を発現する腫瘍に特異的な抗腫瘍効果の存在を確認した。同様に、ヒト末梢血単球から樹状細胞様細胞を分化誘導させる機能が示されている REIC/Dkk-3 タンパク質について、各種癌細胞およびマウス腫瘍モデルに Ad-REIC 剤を用いることにより、自己癌ワクチン化 (小胞体ストレスによる癌細胞死と抗癌免疫活性化) 作用の観点から解析を加えた。REIC/Dkk-3 と CD147 タンパク質の相互関係を示唆する所見として、REIC/Dkk-3 の発現が癌増悪因子である CD147 の発現をダウンレギュレーションしていることも明らかとなった。癌抑制遺伝子である REIC/Dkk-3 が、CD147 発現を抑制することによりその抗腫瘍機能を果たしている可能性がある。今回の研究成果として、CD147 タンパク質が各種サイトカインや REIC/Dkk-3 に基づく癌免疫・ワクチン療法において有望な標的となり得ることが明らかとなった。引き続き、難治性固形癌を対象とした CD147 癌抗原を標的としたサイトカイン医薬、細胞治療用医薬等の開発研究を行う予定である。

## 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 10件)

Mori A, Watanabe M, Sadahira T, Kobayashi Y, Ariyoshi Y, Ueki H, Wada K, Ochiai K, Li SA, Nasu Y. The Downregulation of the Expression of CD147 by Tumor Suppressor REIC/Dkk-3, and Its Implication in Human Prostate Cancer Cell Growth Inhibition. Acta Med Okayama.

査読有 .2017 Apr;71(2):135-142. DOI: 10.18926/AMO /54982.

Horikawa Y, Watanabe M, Sadahira T, Ariyoshi Y, Kobayashi Y, Araki M, Wada K, Ochiai K, Li SA, Nasu Y. Overexpression of REIC/Dkk-3 suppresses the expression of CD147 and inhibits the proliferation of human bladder cancer cells. *Oncol Lett*. 査読有 . 2017 Sep;14(3):3223-3228. DOI: 10.3892 /ol.2017.6548.

Xu J, Sadahira T, Kinoshita R, Li SA, Huang P, Wada K, Araki M, Ochiai K, Noguchi H, Sakaguchi M, Nasu Y, Watanabe M. Exogenous DKK-3/REIC inhibits Wnt/ -catenin signaling and cell proliferation in human kidney cancer KPK1. *Oncol Lett*. 査読有 . 2017Nov;14(5):5638-5642. DOI:10.3892/ol.2017.6833.

Li X, Xu P, Wang C, Xu N, Xu A, Xu Y, Sadahira T, Araki M, Wada K, Matsuura E, Watanabe M, Zheng J, Sun P, Huang P, Nasu Y, Liu C. Synergistic effects of the immune checkpoint inhibitor CTLA-4 combined with the growth inhibitor lycorine in a mouse model of renal cell carcinoma. *Oncotarget*. 査読有 .2017 Mar 28;8(13):21177-21186. DOI: 10.18632/ oncotarget.15505.

Putranto EW, Kinoshita R, Watanabe M, Sadahira T, Murata H, Yamamoto KI, Futami J, Kataoka K, Inoue Y, Winarsa Ruma IM, Sumardika IW, Youyi C, Kubo M, Sakaguchi Y, Saito K, Nasu Y, Kumon H, Huh NH, Sakaguchi M. Expression of tumor suppressor REIC/Dkk-3 by a newly improved adenovirus vector with insertion of a hTERT promoter at the 3'-side of the transgene. *Oncol Lett*. 査読有 .2017 Jul;14(1): 1041-1048. DOI: 10.3892/ol.2017.6201.

Kumon H, Ariyoshi Y, Sasaki K, Sadahira T, Araki M, Ebara S, Yanai H, Watanabe M, Nasu Y. Adenovirus vector carrying REIC/DKK-3 gene: neoadjuvant intraprostatic injection for high-risk localized prostate cancer undergoing radical prostatectomy. *Cancer Gene Ther*. 査読有 . 2016 Nov;23(11):400-409.

DOI:10.1038 /cgt.2016.53.

Uchida D, Shiraha H, Kato H, Sawahara H, Nagahara T, Iwamuro M, Kataoka J, Horiguchi S, Watanabe M, Takaki A, Noso K, Nasu Y, Kumon H, Yamamoto K. Synergistic anti-pancreatic cancer immunological effects by treatment with reduced expression in immortalized cells/dickkopf-3 protein and peripheral blood mononuclear cells. *J Gastroenterol Hepatol*. 査読有 .2016 Jun;31(6):1154-9. DOI: 10.1111/jgh.13259.

Ruma IM, Putranto EW, Kondo E, Murata H, Watanabe M, Huang P, Kinoshita R, Futami J, Inoue Y, Yamauchi A, Sumardika IW, Youyi C, Yamamoto K, Nasu Y, Nishibori M, Hibino T, Sakaguchi M. MCAM, as a novel receptor for S100A8/A9, mediates progression of malignant melanoma through prominent activation of NF- B and ROS formation upon ligand binding. *Clin Exp Metastasis*. 査読有 . 2016Aug;33(6):609-27. DOI: 10.1007 /s10585-016-9801-2.

Kinoshita R, Watanabe M, Huang P, Li SA, Sakaguchi M, Kumon H, Futami J. The cysteine-rich core domain of REIC/Dkk-3 is critical for its effect on monocyte differentiation and tumor regression. *Oncol Rep*. 査読有 . 2015 Jun;33(6):2908-14. DOI: 10.3892/or.2015.3885.

Fujio K, Watanabe M, Ueki H, Li SA, Kinoshita R, Ochiai K, Futami J, Watanabe T, Nasu Y, Kumon H. A vaccine strategy with multiple prostatic acid phosphatase-fused cytokines for prostate cancer treatment. *Oncol Rep*. 査読有 . 2015 Apr;33(4):1585-92. DOI: 10.3892/or.2015.3770.

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

特になし

## 6 . 研究組織

### (1) 研究代表者

小林 泰之 (KOBAYASHI, YASUYUKI)  
岡山大学・大学病院・講師  
研究者番号：50366027

### (2) 研究分担者

渡部 昌実 (WATANABE, MASAMI)  
岡山大学・大学病院・教授  
研究者番号：70444677

### (3) 研究分担者

黄 鵬 (HUANG PENG)  
岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教  
研究者番号：00610841

### (4) 研究分担者

植木 英雄 (UEKI, HIDEO)  
岡山大学・医学部・技術専門職員  
研究者番号：90537218