

令和元年9月2日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05473

研究課題名(和文) 癌幹細胞とニッチを標的とした卵巣癌Dual-targeted therapy戦略

研究課題名(英文) Elucidation of interactions between cancer stem cells and their niche:
Dual-targeted therapy in ovarian cancer patients

研究代表者

片淵 秀隆 (Katabuchi, Hidetaka)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・教授

研究者番号：90224451

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)： 癌の発生や浸潤・転移の過程においては、癌細胞と周囲の微小環境との細胞間相互作用が重要な役割を果たしている。近年、正常組織の幹細胞と同様に癌幹細胞においても微小環境ニッチが存在し、腫瘍の増殖や治療抵抗性に関与していることが示されている。今回われわれは、卵巣癌における癌幹細胞ニッチを特定し、それらの分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。さらに、卵巣癌幹細胞とニッチとの細胞間相互作用について解析を行い、最終的には卵巣癌幹細胞および癌幹細胞ニッチを治療標的とした卵巣癌に対する新たな治療戦略を開発することを目指している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

実際の臨床の現場での卵巣癌診療において、われわれがしばしば経験する治療抵抗性あるいは寛解後の再発・転移など、既存の抗癌剤治療に限界を感じることも少なくない。卵巣癌患者のさらなる予後改善のためには、癌幹細胞あるいは癌幹細胞ニッチを中心とした組織発生や病態進展に関わる分子生物学的機序に着眼点を切り替えて研究を進めることが重要である。難治性卵巣癌の克服のためには、“種子”としての卵巣癌幹細胞と、それに対応する“土壌”としての癌幹細胞ニッチを標的としたDual-targeted therapyの開発が極めて重要な役割を果たしていくことが考えられる。

研究成果の概要(英文)：The tumor microenvironment represents a dynamic milieu that involves a complex network of interactions between cancer cells and various stromal components and plays a crucial role in cancer cell survival, proliferation, invasion, and metastasis. Considering the distinct biology of ovarian cancer, the elucidation of the cellular and molecular mechanisms underlying the reciprocal interplay between ovarian cancer stem cells and surrounding stromal cell types in the tumor microenvironment will provide further insights into the development of novel therapeutic approaches for patients with advanced ovarian cancer.

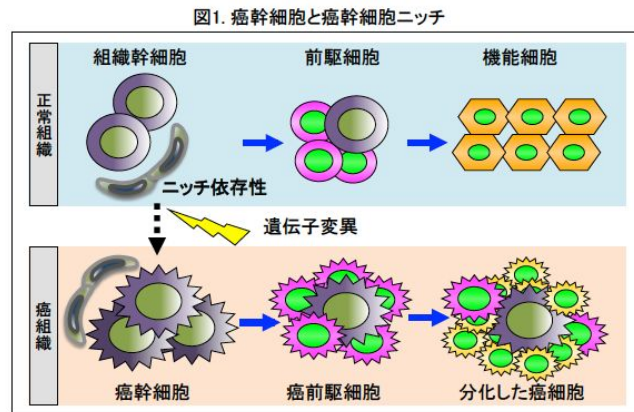
Our research group studied the biological mechanisms that regulate the highly orchestrated crosstalk between ovarian cancer stem cells and their niche in the tumor microenvironment.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：卵巣癌 癌幹細胞 癌幹細胞ニッチ マクロファージ

1. 研究開始当初の背景

本邦において卵巣癌は、罹患数および死亡数ともに急激な増加傾向を示しており、現在では婦人科癌死亡の第1位となっている。卵巣癌の早期診断は困難であることが知られており、約3分の2の症例では既に腹膜播種や遠隔転移を来した進行癌で診断される。また、初回治療が奏効し寛解が得られた場合でも、多くの症例では抗癌剤に耐性を示す癌細胞が出現するため、5年以降の長期的な治療成績の向上はみられていない。したがって、卵巣癌患者の予後のさらなる改善に向けて、他癌種と同様に分子生物学的根拠に基づいた新たな治療戦略の開発が望まれている。近年、悪性腫瘍の治療抵抗性や再発、転移において、“癌幹細胞 cancer stem cell”の関与が指摘されている。すなわち、腫瘍組織の階層性の頂点に位置する癌幹細胞のみが腫瘍形成能を保持しており、自己複製能および多分化能によって腫瘍の発生や増殖に関わっていることが知られている。また、癌幹細胞においても正常の組織幹細胞と同様に特殊な微小環境である“ニッチ niche”が存在し、癌の発生や転移、さらには治療抵抗性に関与していることが明らかにされている(図1)。すなわち、癌幹細胞はニッチという微小環境の中で自己の細胞周期を静止期に保ち休眠状態のまま維持されることから、分裂・増殖が活発な癌前駆細胞や分化した癌細胞を標的とした従来の抗癌化学療法あるいは放射線療法では、いわゆる“芝刈り療法”となっていることが推察され、癌幹細胞の根絶には不十分であることが窺われる。

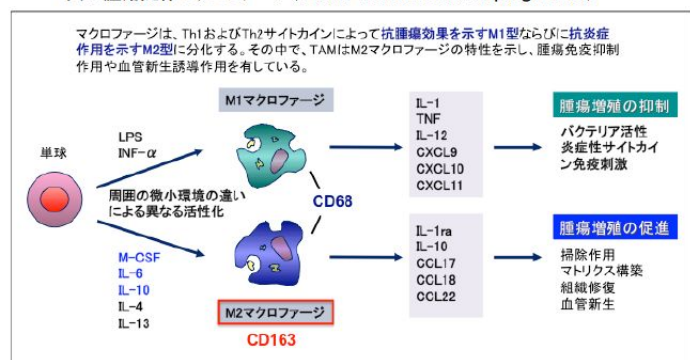


卵巣癌研究においては、卵巣癌に特異的な分子生物学的病態を検証し、新たな分子標的を探索するための有効な実験モデルが存在しないことが、卵巣癌に対する新規治療戦略の開発の妨げとなってきた。われわれは過去30年にわたる卵巣癌研究の中で、卵巣癌の母細胞のひとつと長く考えられてきたヒト卵巣表層上皮 ovarian surface epithelium(OSE)細胞を用いて染色体安定性の不死化細胞株(HOSE)の樹立に成功した。これらの不死化OSE細胞を用いて癌関連遺伝子を導入した後に、マウスの腹腔内に移植することで、ヒト卵巣癌に酷似した腹腔内播種モデルを作成した。しかし、*in vivo*で形成されたこの腫瘍の組織型は未分化癌であり、これは正常細胞から不死化の過程を経由したことがその一因となっている可能性が考えられた。そこで、われわれは卵巣における組織幹細胞の同定を試みるために、マウス卵巣を用いることで網羅的に組織幹細胞の候補マーカーを検証した。その結果、マウス卵巣において組織幹細胞として機能するEpCAM陽性細胞が存在することを見出した。そして、それらの細胞集団に対して、不死化の過程を経ずに癌関連遺伝子を導入し発癌を誘導した結果、癌幹細胞を頂点とした階層性を有する卵巣癌幹細胞マウスモデルを樹立することに世界で初めて成功した。今後われわれは、これまで得られた知見および研究成果をさらに展開させることで、癌幹細胞ならびに癌幹細胞ニッチを標的とした卵巣癌の治療戦略を開発し、臨床応用することを目的とした。

2. 研究の目的

癌の発生や浸潤・転移の過程においては、癌細胞と周囲の微小環境との細胞間相互作用が重要な役割を担っている。卵巣癌の克服のためには、播種病巣における卵巣癌幹細胞および癌幹細胞ニッチの病態解明が必要不可欠であると考えられるが、それらの分子メカニズムについては不明な点が多い。これまでにわれわれが行った解析の結果から、骨盤腹膜の播種病巣に存在する腫瘍随伴マクロファージ (tumor-associated macrophage: TAM) がM2マクロファージとしての特性を示し、癌幹細胞ニッチとして機能する可能性が示されている(図2)。

図2. 腫瘍随伴マクロファージ(Tumor-associated macrophage: TAM)



今回われわれは、卵巣癌における癌幹細胞ニッチを特定し、それらの分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。さらに、卵巣癌幹細胞とニッチとの細胞間相互作用について解析を行い、最終的には卵巣癌幹細胞および癌幹細胞ニッチを治療標的とした卵巣癌に対する新たな治療戦略を開発することを目指す。特に、TAM が癌幹細胞ニッチとして機能していることが証明された場合、TAM を標的とした治療が新たな治療戦略として有望であることを証明する。

3. 研究の方法

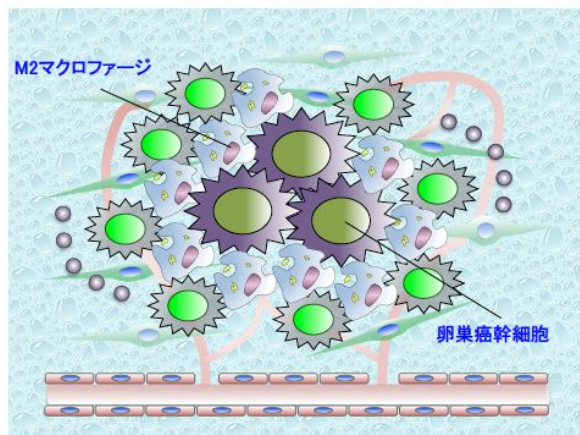
これまでにわれわれが行った研究から、骨盤腹膜の播種病巣に存在する TAM が癌幹細胞ニッチとして機能する可能性が示されている。そこで、癌幹細胞として機能する CD44 variant 陽性の腫瘍細胞と TAM との関連性について解析を行う。臨床検体を用いた卵巣癌の播種病巣の免疫組織化学染色を行い、CD44 variant 陽性細胞が TAM の集積や M2 マクロファージへの分化を誘導することで、微小環境ニッチの形成に関与していることを示す。また、腫瘍細胞とマクロファージとの共培養による実験系にて、癌幹細胞と癌幹細胞ニッチとの細胞間相互作用についても検証する。さらに、ニッチ形成に関わる TAM が重要な治療標的であることが示された場合、TAM に対する治療薬を用いた *in vivo* での実験を行い、特に抗癌剤との併用療法による治療効果を検討する。

4. 研究成果

ヒト卵巣癌組織を用いた免疫組織化学検査の結果、CD44 variant 陽性細胞の周囲には、M2 としての機能を有する TAM が集積して存在することが見出された。そこで、*in vitro* での卵巣癌細胞とマクロファージとの共培養実験を行った結果、腫瘍細胞をマクロファージと共培養することで、CD44 variant 陽性の癌細胞の割合が増加することが明らかにされたことから、マクロファージが癌幹細胞ニッチとして機能している可能性が示された。さらに、*in vitro* での抗癌剤感受性について解析した結果、腫瘍細胞をマクロファージと共培養することで、腫瘍細胞の抗癌剤に対する抵抗性が増強される結果が見出された。これらの解析をさらにすすめることで、CD44 variant 陽性細胞とマクロファージとの細胞間相互作用が、癌幹細胞に最適な微小環境の形成に関与し、抗癌剤治療抵抗性に関わっていることを証明する。

一連の解析結果から、腹腔内の腫瘍微小環境において、腹腔マクロファージは卵巣癌幹細胞との細胞間相互作用を通じて、卵巣癌の増殖、浸潤、転移を経て播種形成に関与している可能性が考えられる(図3)。今後われわれは、腹腔マクロファージならびに腹腔内の播種病巣における TAM の2種類の、マクロファージと卵巣癌幹細胞とのそれぞれの細胞間相互作用、そしてそれに関わる分子シグナル伝達機構について網羅的な解析を行うことで、最終的には進行卵巣癌の腹腔内播種に至るプロセスから理論的に導かれた卵巣癌幹細胞ならびに癌幹細胞ニッチの両者を標的とした治療戦略である“Dual-targeted therapy”の開発を目指す。

図3. マクロファージ(腹腔・腫瘍随伴)と卵巣癌幹細胞の相互作用



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7 件)

1. Ebina Y, Mikami M, Nagase S, Tabata T, Kaneuchi M, Tashiro H, Mandai M, Enomoto T, Kobayashi Y, Katabuchi H, Yaegashi N, Udagawa Y, Aoki D. Japan Society of Gynecologic Oncology guidelines 2017 for the treatment of uterine cervical cancer. **Int J Clin Oncol**. 24:1-19, 2019 査読あり
2. Imamura Y, Tashiro H, Tsend-Ayush G, Haruta M, Dashdemberel N, Komohara Y, Tsuboki J, Takaishi K, Ohba T, Nishimura Y, Katabuchi H, Senju S. Novel therapeutic strategies for advanced ovarian cancer by using induced pluripotent stem cell-derived myelomonocytic cells producing interferon beta. **Cancer Sci**. 109:3403-3410, 2018 査

読あり

3. Motohara T, Masuda K, Morotti M, Zheng Y, El-Sahhar S, Chong KY, Wietek N, Alsaadi A, Karaminejadranjbar M, Hu Z, Artibani M, Gonzalez LS, Katabuchi H, Saya H, Ahmed AA. An evolving story of the metastatic voyage of ovarian cancer cells: cellular and molecular orchestration of the adipose-rich metastatic microenvironment. **Oncogene**. 38:2885-2898, 2018 査読あり
4. Motooka Y, Motohara T, Honda R, Tashiro H, Mikami Y, Katabuchi H. Radical resection of an endometrioid carcinoma arising from endometriosis in the round ligament within the right canal of Nuck: a case report and literature review. **Gynecol Oncol Rep**. 24:61-64,2018 査読あり
5. Erdenebaatar C, Yamaguchi M, Monsur M, Saito F, Honda R, Tashiro H, Ohba T, Iyama KI, Katabuchi H. Serum prolactin contributes to enhancing prolactin receptor and pJAK2 in type I endometrial cancer cells in young women without insulin resistance. **Int J Gynecol Pathol**. 2018 [Epub ahead of print] 査読あり
6. Tayama S, Motohara T, Fujimoto K, Narantuya D, Li C, Sakaguchi I, Tashiro H, Saya H, Nagano O, Katabuchi H. The impact of EpCAM expression on response to chemotherapy and clinical outcomes in patients with epithelial ovarian cancer. **Oncotarget**. 8:44312-44325,2017 査読あり
7. Motohara T, Fujimoto K, Tayama S, Narantuya D, Sakaguchi I, Tashiro H, Katabuchi H. CD44 variant 6 as a predictive biomarker for distant metastasis in patients with epithelial ovarian cancer. **Obstet Gynecol**. 127:1003-1011,2016 査読あり

〔学会発表〕(計 3 件)

1. The Shandong Gynecologic Oncology Forum 2018 (April 15, 2018. Shandong Hotel, Jinan, China) Special Lecture 「Treatment of epithelial ovarian cancer: Looking from the JSGO guideline version 2015 toward next-generation strategies」Hidetaka Katabuchi
2. 32nd Annual Meeting of the Korean Society of Gynecologic Oncology (March 30, 2017. Gyeongju, Korea) Session 1 「Updates in Gynecologic Cancer 「Novel therapeutic modality of epithelial ovarian cancer: Dual-targeted therapy」Hidetaka Katabuchi
3. The 2nd International Symposium on Gynecologic Oncology in conjunction with APAGE Regional Meeting (February 11, 2017. Asana Medical Center, Seoul, Korea) Session IV Ovarian Cancer 「Cancer stem cells and novel therapeutic strategies in epithelial ovarian cancer: Looking beyond prolonged survival toward complete cure」Hidetaka Katabuchi

〔図書〕(計 3 件)

1. Tashiro H, Imamura Y, Motohara T, Sakaguchi I, Katabuchi H. Morphological and molecular pathogenesis of epithelial ovarian tumors. *Comprehensive Gynecology and Obstetrics. Frontiers in ovarian cancer science*. pp.37-56. 2017 (Springer) (全 314 ページ)
2. Motohara T, Katabuchi H. Genomics in Gynecological Cancer: Future Perspective. *Comprehensive Gynecology and Obstetrics. Precision Medicine in Gynecology and Obstetrics*. pp.9-21. 2017 (Springer) (全 250 ページ).
3. Motohara T, Katabuchi H. Emerging role of CD44 variant 6 in driving the metastatic journey of ovarian cancer stem cells. *Cell Biology of the Ovary*. pp.73-88. 2018 (Springer) (全 166 ページ)

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：田代浩徳

ローマ字氏名：Tashiro Hironori

研究所属機関名：熊本大学

部局名：大学院生命科学研究部（保）

職名：教授

研究者番号：70304996

研究分担者氏名：本原剛志
ローマ字氏名：Motohara Takeshi
研究所属機関名：熊本大学
部局名：医学部付属病院
職名：講師
研究者番号：10457591

研究分担者氏名：坂口 勲
ローマ字氏名：Sakaguchi Isao
研究所属機関名：熊本大学
部局名：医学部付属病院
職名：講師
研究者番号：40448527

(2)研究協力者

研究協力者氏名：齋藤文誉
ローマ字氏名：Saito Fumitaka
研究協力者氏名：坪木純子
ローマ字氏名：Tsuboki Junko

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、研究者個人に帰属されます。