

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09826

研究課題名(和文) 腫瘍随伴マクロファージの免疫学的動態の制御による卵巣癌に対する新規治療戦略の開発

研究課題名(英文) Development of novel therapeutic strategies for ovarian cancer by regulating the immunological dynamics of tumor-associated macrophages

研究代表者

本原 剛志 (Motohara, Takeshi)

熊本大学・病院・講師

研究者番号：10457591

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：今回われわれは、卵巣癌細胞とTAMとの細胞間相互作用、そしてそれらTAMの機能を制御するCSF-1RならびにそのリガンドであるCSF-1の分子生物学的な役割を明らかにするため、網羅的な基礎解析を行なった。

その結果、卵巣癌細胞においてCSF-1の発現が認められる一方で、TAMにおいてはCSF-1Rの発現がみられることが明らかにされた。また、CSF-1R阻害剤を用いた治療実験では、TAMの機能を抑制することで、抗腫瘍効果を発揮することが実験的に証明された。以上の結果から、これらCSF-1/CSF-1Rシグナル経路の抑制が、卵巣癌に対する有望な新規治療戦略となり得る可能性が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

われわれの研究グループがこれまでに継続して行ってきたマクロファージの生物学的機能ならびに卵巣癌細胞の抗腫瘍抵抗性に関する研究をさらに進展させ、特に腫瘍微小環境におけるTAMの機能的役割を明らかにすることは、卵巣癌の治療抵抗性の分子メカニズムの包括的な理解、そして卵巣癌患者の治療成績の向上に繋がることが期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we performed a comprehensive basic analysis to elucidate the cell-cell interaction between ovarian cancer cells and TAMs and the molecular biological roles of CSF-1R and its ligand, CSF-1, in regulating TAM function.

We found that CSF-1 is expressed in ovarian cancer cells, while CSF-1R is expressed in TAMs. In addition, therapeutic experiments using CSF-1R inhibitors experimentally demonstrated that suppression of TAM function exerts an antitumor effect. These results suggest that suppression of these CSF-1/CSF-1R signaling pathways may be a promising new therapeutic strategy for ovarian cancer.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：卵巣癌 癌幹細胞 癌幹細胞ニッチ

1. 研究開始当初の背景

近年、癌細胞の増殖、浸潤や転移の過程において、癌細胞を取り巻く腫瘍微小環境が極めて重要な役割を担っていることが明らかにされている。すなわち、種々の癌細胞と腫瘍微小環境との相互作用が、様々な癌腫における治療抵抗性や患者の予後に密接に関わっていることが指摘されている(図1)。したがって、将来的な癌の根絶を目指す上では、それぞれの癌細胞の特性だけでなく腫瘍微小環境を含めた腫瘍組織全体を包括的に理解することの重要性が今後ますます高まっていくことが予想される。

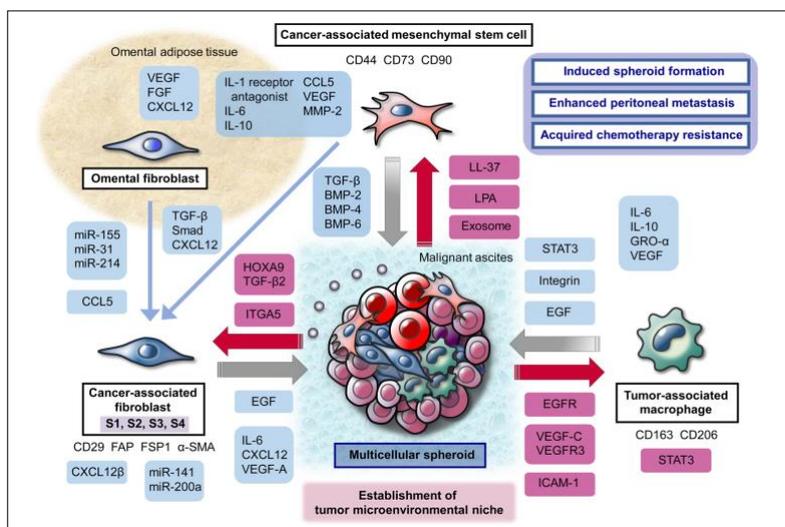
腫瘍組織に浸潤して癌の悪性化に関与するマクロファージは、腫瘍随伴マクロファージ (Tumor-associated macrophage: TAM) と呼ばれており、線維芽細胞、間葉系幹細胞、脂肪細胞や血管内皮細胞などと共に腫瘍微小環境を形成し、癌細胞の増殖や進展を促進する機能を有している。これまでの過去の報告ならびにわれわれが行った解析の結果、様々な腫瘍組織においてマクロファージの浸潤密度が高い症例ほど、その予後が不良であることが明らかにされている。マクロファージはその活性化の様式から抗腫瘍効果を示す M1 型と抗炎症作用を示す M2 型に分類されるが、多くの TAM は M2 型への活性化を受けていることが示されている。そして、これらの M2 型の TAM は、IL-10、TGF-β、Prostaglandin E2 などの抗炎症生因子の産生や制御性 T 細胞の浸潤を促進することで、抗腫瘍免疫を抑制し、癌細胞の進展にとって有利な腫瘍微小環境の形成に密接に関わっている(図2)。

われわれの教室では、過去四半世紀以上にわたり、産婦人科領域に関わる様々な臓器、あるいは疾患におけるマクロファージの機能解析を継続して行ってきた経緯がある。特に、われわれが過去に行った卵巣癌細胞とマクロファージの共培養の実験において、腫瘍組織中の TAM が抗癌剤治療抵抗性ならびに卵巣癌細胞の幹細胞性の制御に深く関与している可能性が示されている

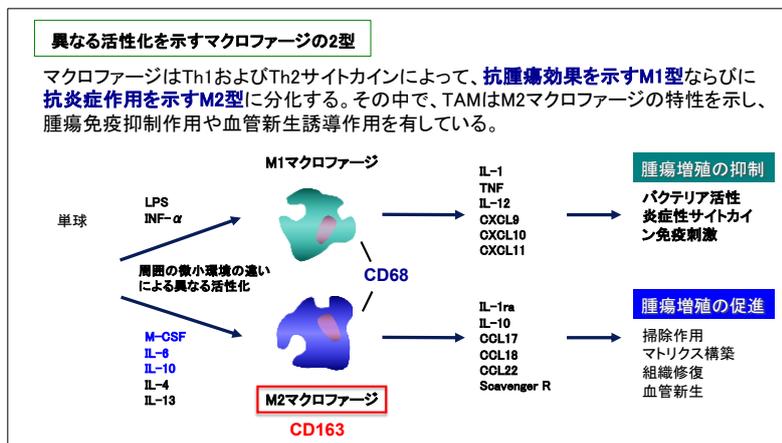
(図3)。すなわち、腹腔内の腫瘍微小環境において卵巣癌細胞とそれを取り巻く周囲の TAM が相互協調性に機能することで、腹腔内の転移部位における抗癌剤抵抗性を惹起している可能性が考えられる。しかしながら、卵巣癌の抗癌剤治療抵抗性における TAM の役割やその分子機構については未だ十分には解明されておらず、今後のさらなる検証が必要である。

マクロファージコロニー刺激因子 1 受容体 (Macrophage colony-stimulating factor 1 receptor: CSF-1R) は、クラス III 受容体型チロシンキナーゼ (Receptor tyrosine kinase: RTK) に属し、様々な悪性腫瘍でその活性化が認められている。CSF-1R は主にマクロファージや骨髄細胞系細胞の細胞表面に発現しており、癌細胞などから産生されるそのリガンドである CSF-1 と結合し二量体を形成することで活性化され、種々の細胞内シグナル伝達系を通じて、増殖や分化など様々な細胞機能を制御する。近年では、いくつかの RTK 阻害剤の臨床的成功によって、様々な RTK を標的とする新規分子標的治療薬の開発が積極的に推し進められている。

【図1】 卵巣癌における腫瘍微小環境ニッチの役割



【図2】 腫瘍随伴マクロファージ Tumor-associated macrophage: TAM



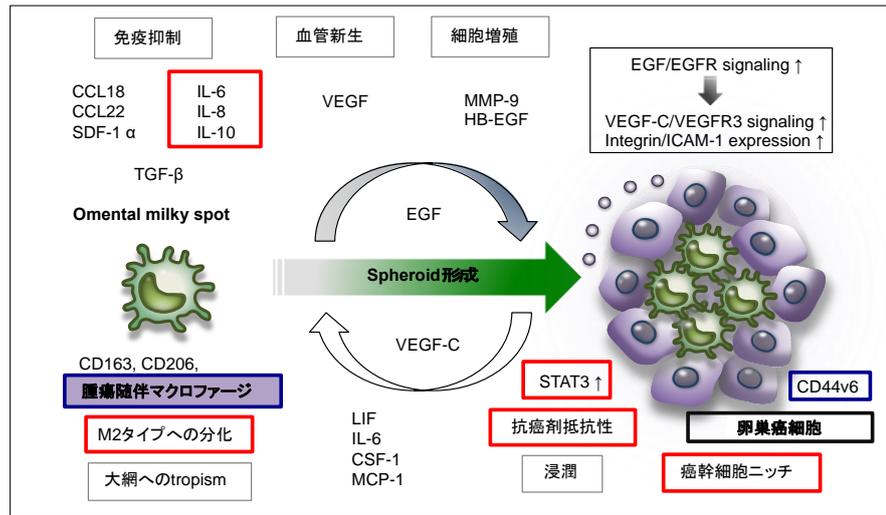
異なる活性化を示すマクロファージの2型

マクロファージはTh1およびTh2サイトカインによって、抗腫瘍効果を示すM1型ならびに抗炎症作用を示すM2型に分化する。その中で、TAMはM2マクロファージの特性を示し、腫瘍免疫抑制作用や血管新生誘導作用を有している。

【図3】 卵巣癌とマクロファージとの細胞間相互作用

2. 研究の目的

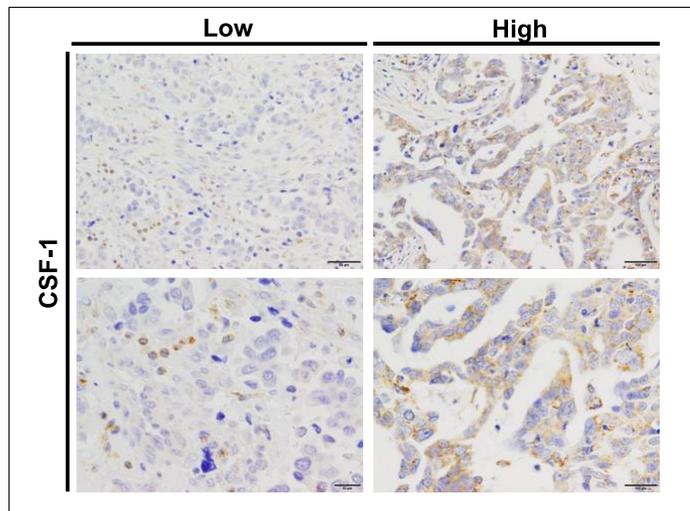
今回われわれは、卵巣癌の腫瘍微小環境の形成に中心的に関与している腫瘍随伴マクロファージの機能的役割について、特に卵巣癌細胞との細胞間相互作用ならびに抗癌剤治療抵抗性に関わる分子機構を明らかにすることを目的とした。特に、TAMの機能を制御するCSF-1RならびにそのリガンドであるCSF-1の分子生物学的な役割を明らかにするために、網羅的な基礎解析を計画した。



【図4】 卵巣癌細胞におけるCSF-1の発現

3. 研究の方法

今回われわれは、卵巣癌の腫瘍組織内における癌細胞とTAMとの細胞間相互作用、そしてそれらTAMの機能を制御するCSF-1RならびにそのリガンドであるCSF-1の分子生物学的な役割を明らかにするために、臨床検体を用いた臨床病理学的な検討に加え、*in vitro*ならびに*in vivo*での実験による網羅的な研究を行った。また、CSF-1RあるいはCSF-1に対する阻害剤による卵巣癌に対する抗腫瘍効果やマクロファージを中心とした微小環境形成に及ぼす影響、さらには既存の抗癌化学療法との併用効果を検証した。



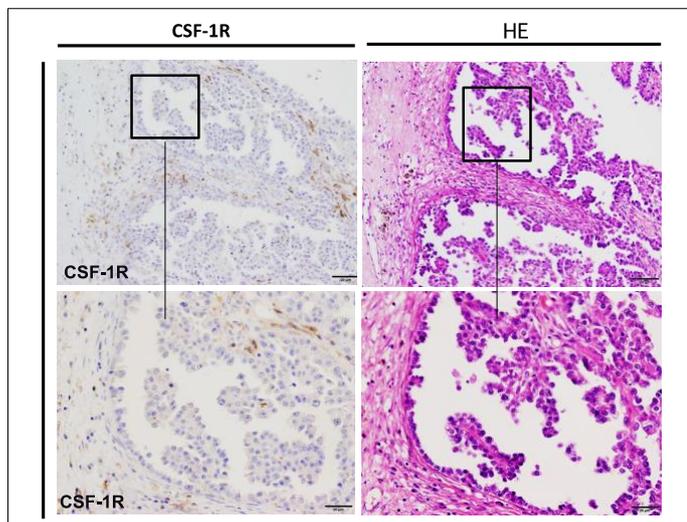
4. 研究成果

今回行った一連の解析の結果、卵巣癌細胞においてCSF-1の発現が認められる一方で (図4)、

CSF-1Rの発現は認められず (図5)、TAMにおいてはCSF-1Rの発現がみられることが、各種の*in vitro*の解析で明らかにされた。そして、CSF-1R阻害剤を用いた治療実験では、TAMの機能を抑制することで、抗腫瘍効果を発揮することが実験的に証明された (図6)。さらに、Kaplan-Meier法にて解析を行った結果からは、CSF-1高発現の症例においては、その予後が不良である傾向が示された。

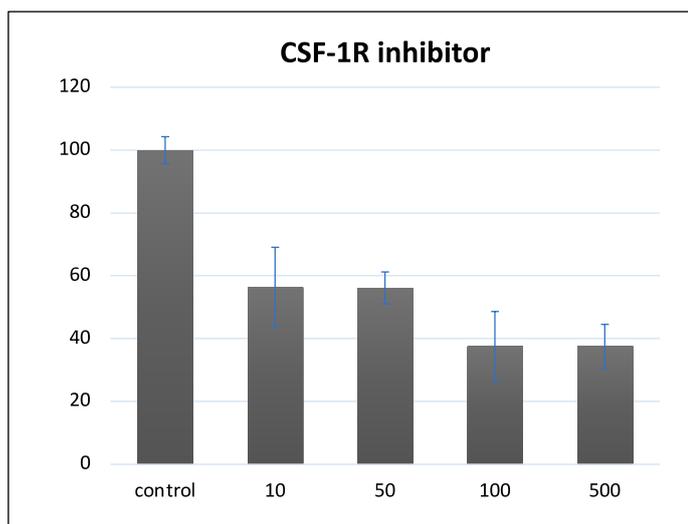
以上の結果、これらCSF-1/CSF-1Rシグナル経路の抑制が、卵巣癌に対する有望な新規治療戦略となり得る可能性が期待される。このように、われわれの研究グループがこれまでに継続して行ってきたマクロ

【図5】 卵巣癌細胞におけるCSF-1Rの発現



ファージの生物学的機能ならびに卵巣癌細胞の抗癌剤抵抗性に関する研究をさらに進展させ、特に腫瘍微小環境における TAM の機能的役割を明らかにすることは、卵巣癌の治療抵抗性の分子メカニズムの包括的な理解、そして卵巣癌患者の治療成績の向上に繋がることが期待される。

【図6】 CSF-1R阻害薬による治療効果



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Yamamoto M, Motohara T, Iwagoi Y, Tayama S, Tashiro H, Kondoh E, Katabuchi H.	4. 巻 48
2. 論文標題 Fertility-sparing surgery for early-stage cervical cancer: A case series study on the efficacy and feasibility of cervical conization followed by pelvic lymphadenectomy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Obstet Gynaecol Res .	6. 最初と最後の頁 1444-1450
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jog.15215.	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 Sagara A, Yamaguchi M, Mikami Y, Motohara T, Ohba T, Kondoh E.	4. 巻 48
2. 論文標題 Maternal thrombocytopenia precedes fetal death associated with COVID-19	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Obstet Gynaecol Res.	6. 最初と最後の頁 1475-1479
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jog.15223.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Onuki M, Yamamoto K, Yahata H, Kanao H, Horie K, Konnai K, Nio A, Takehara K, Kamiura S, Tsuda N, Takei Y, Shigeta S, Nakai H, Yoshida H, Motohara T, et al.	4. 巻 10
2. 論文標題 Changes in HPV16/18 Prevalence among Unvaccinated Women with Cervical Intraepithelial Neoplasia in Japan: Assessment of Herd Effects following the HPV Vaccination Program	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Vaccines (Basel).	6. 最初と最後の頁 188
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/vaccines10020188.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Onuki M, Yamamoto K, Yahata H, Kanao H, Yokota H, Kato H, Shimamoto K, Takehara K, Kamiura S, Tsuda N, Takei Y, Shigeta S, Matsumura N, Yoshida H, Motohara T, et al.	4. 巻 113
2. 論文標題 Human papillomavirus vaccine effectiveness by age at first vaccination among Japanese women	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 1428-1434.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.15270.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Takeshita Y, Motohara T, Kadomatsu T, Doi T, Obayashi K, Oike Y, Katabuchi H, Endo M.	4. 巻 561
2. 論文標題 Angiopoietin-like protein 2 decreases peritoneal metastasis of ovarian cancer cells by suppressing anoikis resistance	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 26-32.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.05.008.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Artibani M, Masuda K, Hu Z, Rauher PC, Mallett G, Wietek N, Morotti M, Chong K, KaramiNejadRanjbar M, Zois CE, Dhar S, El-Sahhar S, Campo L, Blagden SP, Damato S, Pathiraja PN, Nicum S, Gleeson F, Laios A, Alsaadi A, Santana Gonzalez L, Motohara T, et al.	4. 巻 6
2. 論文標題 Adipocyte-like signature in ovarian cancer minimal residual disease identifies metabolic vulnerabilities of tumor-initiating cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JCI Insight.	6. 最初と最後の頁 e147929.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.147929.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Motohara T, Yoshida GJ, Katabuchi H.	4. 巻 77
2. 論文標題 The hallmarks of ovarian cancer stem cells and niches: Exploring their harmonious interplay in therapy resistance	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Semin Cancer Biol.	6. 最初と最後の頁 182-193.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.semcancer.2021.03.038	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 Iwagoi Y, Motohara T, Hwang S, Fujimoto K, Ikeda T, Katabuchi H.	4. 巻 26
2. 論文標題 Omental metastasis as a predictive risk factor for unfavorable prognosis in patients with stage III-IV epithelial ovarian cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Clin Oncol.	6. 最初と最後の頁 995-1004.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-021-01866-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Motohara T, Yoshida GJ, Katabuchi H.	4. 巻 77
2. 論文標題 The hallmarks of ovarian cancer stem cells and niches: Exploring their harmonious interplay in therapy resistance	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Semin Cancer Biol	6. 最初と最後の頁 182-193
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.semcancer.2021.03.038.	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 Iwagoi Y, Motohara T, Hwang S, Fujimoto K, Ikeda T, Katabuchi H.	4. 巻 26
2. 論文標題 Omental metastasis as a predictive risk factor for unfavorable prognosis in patients with stage III-IV epithelial ovarian cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Clin Oncol	6. 最初と最後の頁 995-1004
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-021-01866-3.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Onuki M, Matsumoto K, Iwata T, Yamamoto K, Aoki Y, Maenohara S, Tsuda N, Kamiura S, Takehara K, Horie K, Tasaka N, Yahata H, Takei Y, Aoki Y, Kato H, Motohara T, Nakamura K, Ishikawa M, Kato T, Yoshida H, Matsumura N, Nakai H, Shigeta S, Takahashi F, Noda K, Yaegashi N, Yoshikawa H.	4. 巻 117
2. 論文標題 Human papillomavirus genotype contribution to cervical cancer and precancer: Implications for screening and vaccination in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Sci	6. 最初と最後の頁 2546-2557
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14445.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Motohara T, Katabuchi H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Ovarian cancer stemness: biological and clinical implications for metastasis and chemotherapy resistance	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 907
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers11070907	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1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 本原 剛志
2. 発表標題 卵巣癌の治療抵抗性ならびに転移における 癌幹細胞とニッチの役割
3. 学会等名 第53回 日本臨床分子形態学会総会・学術集会 シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021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
研究分担者	田代 浩徳 (TASHIRO HIRONORI) (70304996)	熊本大学・大学院生命科学研究部（保）・教授 (17401)	
研究分担者	片淵 秀隆 (KATABUCHI HIDETAKA) (90224451)	熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・名誉教授 (17401)	

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