

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：86301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16304

研究課題名(和文) 消化器癌に対する抗IL-6製剤のドラッグ・リポジショニングの探索的研究

研究課題名(英文) Overcoming cancer-associated fibroblasts induced immunosuppression by blocking IL-6 -Exploring for Drug Repositioning-

研究代表者

西脇 紀之(Nishiwaki, Noriyuki)

独立行政法人国立病院機構四国がんセンター(臨床研究センター)・その他部局等・医師

研究者番号：90766114

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：がんの浸潤、増殖、転移にはがん微小環境が大きな役割を果たしており、がん関連線維芽細胞は特に重要な働きをしております。本研究では食道癌患者の臨床検体において、がん関連線維芽細胞がインターロイキン6を介して腫瘍免疫を抑制的に誘導していることを明らかにしました。また、動物実験モデルにおいて、抗インターロイキン6受容体抗体製剤による治療にて腫瘍免疫は活性化し、腫瘍増殖が抑制されることを明らかとしました。抗インターロイキン6受容体抗体製剤は、既にリウマチなどの治療に用いられている薬剤ですが、がん治療へ応用できる可能性が示唆されました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんの浸潤、増殖、転移には、がん微小環境が大きな役割を果たしていることが明らかになっています。我々は、特にがん関連線維芽細胞に注目し、その産生するインターロイキン6ががん微小環境を免疫抑制状態に誘導し、がん患者の予後を不良にしていることを明らかとしました。さらに、すでにリウマチなどの治療に用いられているインターロイキン6受容体抗体製剤をがん治療に応用する可能性についても検証し、動物実験モデルにおいてがん微小環境内の免疫賦活化と腫瘍増殖抑制効果を認めました。

研究成果の概要(英文)：The tumor microenvironment have significant influences on tumor outcomes, and cancer-associated fibroblasts (CAFs) are critical components of the tumor microenvironment and play a central role in tumor progression. Here, we demonstrated that Interleukin-6 (IL-6) expression was significantly correlated with cancer associated fibroblasts, and high IL-6 cases showed tumor immunosuppression with worse survival in esophageal cancer. Anti-IL-6 receptor antibody overcame CAFs-induced immunosuppression and suppressed tumor progression in immunocompetent murine cancer models. Thus, anti-IL-6 receptor antibody could be applied to cancer treatment, which would overcome tumor immunosuppression and improve patient survival.

研究分野：消化器癌

キーワード：インターロイキン6 がん微小環境 がん関連線維芽細胞 ドラッグリポジショニング

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。

1. 研究開始当初の背景

近年の分子標的治療の発展と腫瘍免疫学の進歩により開発された免疫チェックポイント阻害薬の革新的な効果が報告され、腫瘍内免疫制御による制癌治療への可能性が広がった。

我々は、以前よりがん微小環境を治療の標的とし、その中心的役割を担う Cancer-associated fibroblasts (CAFs)の機能解析や治療法開発を行ってきた^(参1)。特に最近、CAFsは腫瘍内 tumor infiltrating lymphocytes (TILs)を制御し腫瘍を免疫抑制状態 (Cold tumor)へ誘導することで、予後にも強く関与し、それにはCAFs由来 Interleukin-6 (IL-6)が強く関与していることを発見した。また、抗 IL-6 中和抗体により IL-6 を制御した場合に、腫瘍増殖が抑制され、同時に免疫が賦活化されていることを実験モデルで発見した^(参2)。

“Drug-repositioning”とは、既存のある疾患に有効な治療薬から、別の疾患に有効な薬効を見つけ出すことである。いくつかの試験を免除することができ、開発期間の短縮や研究開発コストを低減できるとされる。抗 IL-6 製剤は、抗 IL-6 受容体抗体製剤として既に Tocilizumab (アクトテムラ)が関節リウマチに対し臨床利用されており、もし IL-6 が上述の“がん微小環境”において TILs を制御する鍵となる分子であれば、Drug-repositioning として Tocilizumab をがん微小環境の免疫賦活化に利用できる可能性がある。

2. 研究の目的

本研究においては、腫瘍免疫を再賦活化すると予測される Tocilizumab の悪性腫瘍に対する抗腫瘍効果、Drug-repositioning の可能性について検討することを目的とした。

3. 研究の方法

まず消化器癌における IL-6 の機能を、岡山大学病院消化管外科にて切除された食道癌検体を用いて臨床病理学的に解析し、抗 IL-6 製剤による治療の可能性を探索した。また、IL-6 が癌細胞・線維芽細胞にどのような作用があるのか、ヒトおよびマウス由来癌細胞・線維芽細胞を用いて *in vitro*にて検証をおこなった。さらに、抗 IL-6 受容体抗体が腫瘍内免疫にどのような作用があるのか、マウス由来癌細胞・線維芽細胞を用いて *in vivo*の実験モデルにて検証を行った。

4. 研究成果

(1) 食道癌における IL-6 の発現と腫瘍内免疫の臨床病理学的検討

2008年から2011年までに岡山大学病院消化管外科にて切除された食道癌および食道接合部癌、185例の切除標本を用いて、CAFsとIL-6、および免疫担当細胞を免疫組織染色にて評価した。

臨床病理学的検討にて、IL-6発現はCAFsの指標である smooth muscle actin (SMA)と正の相関を示し ($P < 0.001$)、高 IL-6 は多変量解析において独立予後予測因子であった (Hazard ratio 1.76, $p = 0.028$)。また、腫瘍内の免疫担当細胞である TILs と Tumor associated macrophages (TAMs)は高 IL-6 症例にて、免疫抑制状態を示していた。食道癌において、CAFsはIL-6を介して腫瘍免疫を抑制状態へと誘導し、予後を不良にしている可能性が示唆された。

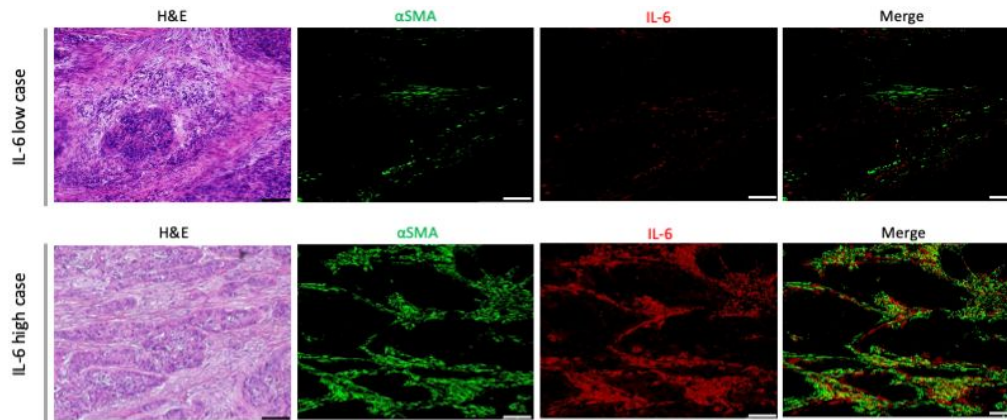


図 1. 臨床検体における IL-6 と SMA 発現の関連

(2) IL-6 による癌細胞および CAFs への影響の解析 (in vitro)

IL-6 による癌細胞、CAFs の増殖能の変化について、マウス由来癌細胞 (Colon26、SCCVII、Pan02)・マウス由来線維芽細胞 (NIH/3T3、MEF) およびヒト由来癌細胞 (TE4、OE19)・ヒト由来線維芽細胞 (FEF3、WI38) を対象に、XTT assay および western blotting にて評価した。

ほぼ全ての細胞株において IL-6 の投与により細胞増殖が有意に亢進した。また、マウスおよびヒト由来線維芽細胞では IL-6 投与により SMA 発現が亢進しており、線維芽細胞は IL-6 により CAFs へ誘導されている可能性が示唆された。

(3) 抗 IL-6 製剤による CAFs 共培養腫瘍増殖抑制効果の検討 (in vivo)

マウス腫瘍モデルを用いて CAFs 共接種による腫瘍増殖促進効果や腫瘍免疫に及ぼす影響について検討した。続いて、マウス抗 IL-6 受容体抗体製剤 (MR16-1) による治療を行い、腫瘍増殖抑制効果および腫瘍免疫賦活効果について評価した。

CAFs 共接種群では腫瘍単独接種群に比較して腫瘍増殖は有意に促進され、採取した腫瘍の免疫染色にて腫瘍内の免疫細胞は抑制状態へと誘導されていた。また、MR16-1 による治療にて、CAFs の共接種により促進されていた腫瘍増殖は抑制され、腫瘍免疫も賦活化されていた。さらに、循環血液を回収してサイトカインを解析したところ、血中 IL-6 濃度が腫瘍内の CAFs の量と正の相関を示し、MR16-1 治療により低下することがわかった。血中 IL-6 濃度は、抗 IL-6 受容体抗体製剤の治療効果を予測するバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

まとめ

臨床検体、マウス実験モデルいずれにおいても CAFs は IL-6 を介して腫瘍免疫を抑制状態へと誘導し、腫瘍増殖を促進していることがわかった。また、実験モデルにおいて抗 IL-6 受容体抗体製剤は、CAFs による免疫抑制状態を改善し、腫瘍増殖抑制効果を示すことがわかった。Tocilizumab は CAFs の産生する IL-6 を制御することで、Drug-repositioning としてがん微小環境の免疫賦活化に利用できる可能性が示唆された。

参考文献

1. Noma K, Herlyn M et al.: The essential role of fibroblast in esophageal squamous cell carcinoma-induced angiogenesis. *Gastroenterology*. 134(7): 1981-93 2008
2. Kato T, Noma K, et al.: CAFs Affect Intratumoral CD8+ and FoxP3+ T Cells Via IL6 in the Tumor Microenvironment. *Clin Cancer Res*. 201

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Noriyuki Nishiwaki, Kazuhiro Noma, Toshiaki Ohara, Kento Kawasaki, Masaaoki Akai, Teruki Kobayashi, Takuya Kato Naoaki Maeda, Satoru Kikuchi, Shunsuke Tanabe, Hiroshi Tazawa, Yasuhiro Shirakawa, Toshiyoshi Fujiwara
2. 発表標題 Overcoming cancer-associated fibroblasts induced immunosuppression by blocking IL-6 -Exploring for Drug Repositioning-
3. 学会等名 第31回消化器癌発生学会
4. 発表年 2020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
研究協力者	野間 和広 (Noma Kazuhiro)		
研究協力者	大原 利章 (Ohara Toshiaki)		
研究協力者	藤原 俊義 (Fujiwara Toshiyoshi)		

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