

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25462019

研究課題名(和文) 消化器癌のがん微小環境を標的とした分子標的薬と抗癌剤併用療法の開発

研究課題名(英文) The development of tumor microenvironment-directed chemotherapy with molecular targeted agent for gastrointestinal cancer

研究代表者

鈴木 知志 (Suzuki, Satoshi)

神戸大学・医学研究科・准教授

研究者番号：30457080

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：癌細胞株を用いての網羅的な解析ではなく、臨床検体を用いて解析すべき癌関連遺伝子を検索した。

PD-1(Programmed cell death-1)/ PD-L1経路で、PD-L1はHIF-1の標的遺伝子であることに着目し、直腸癌で術前放射線療法(CRT)による(治療前)生検材料および手術標本を用いてHIF-1、PD-L1の発現の変動を解析した。CRTにより直腸癌組織中のHIF-1とともにPD-L1の発現増強がみられ、HIF-1によるPD-L1発現誘導が推測された。PD-L1発現は腫瘍細胞では全生存期間の不良因子であり、腫瘍周囲のリンパ球(免疫細胞)ではリンパ節転移を抑制する可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the change of expression level of HIF-1 and PD-L1 in rectal cancer tissue by chemoradiotherapy. As the expression level of HIF-1 and PD-L1 increased in some cases after chemoradiation, HIF-1 seemed to upregulate the expression of PD-L1. The expression of PD-L1 in tumor cells associated with unfavorable overall survival, and the expression of PD-L1 in lymphocytes around tumor was considered to suppress lymph node metastasis in rectal cancer.

研究分野：消化器外科学

キーワード：消化器癌 がん幹細胞 浸潤・転移 低酸素状態 血管新生

1. 研究開始当初の背景

日本における消化器癌、特に罹患率の高い胃癌、大腸癌の治療は早期診断とリンパ節郭清を含めた手術手技の向上、さらに近年の新規抗癌剤の開発により着実な成果を挙げているが、転移巣に対する治療は効果に乏しく、転移の機序の解明とそれを応用した治療法の開発が望まれている。高度進行・再発癌に対する治療の主体である化学療法に抵抗性を示す理由として、がん幹細胞の存在とがん組織癌微小環境が注目を集めている。造腫瘍能を有するがん幹細胞は自己複製能と多分化能を持ち合わせ、発癌のみならず、転移のメカニズムや治療方法の開発を考える上でもがん幹細胞の性格、特徴の解明は重要視されている。また、がん微小環境における間質細胞は腫瘍細胞と相互に作用しており、時に異常性を獲得するため、癌微小環境の解明は急務である。

2. 研究の目的

腫瘍の増殖速度に血管新生が追いつかない場合、または抗癌剤などの治療によるストレスが加わると低酸素状態に陥り、腫瘍細胞は低酸素応答性転写因子 Hypoxia Inducible Factor (HIF) を蓄積し、血管新生増殖因子の VEGF や PDGF が誘導され、血管新生が促される。近年、微小環境に存在する腫瘍血管に対する分子標的薬として抗 VEGF 抗体、抗 PDGF 抗体などが開発され、臨床応用されつつある。HIF-1 が見いだされて、低酸素応答系の分子機構の研究は急速に進展し、癌の初期段階から進展過程において HIF 活性が深くかかわっていることが示されつつある。本研究は、消化器癌、特に胃癌・大腸癌の脈管新生と浸潤・転移のメカニズムを、低酸素状態から誘導される血管新生の観点から、関連する遺伝子発現を分子生物学的に明らかにすることを目的とする。さらに、血管新生阻害剤の単剤および複数併用による血管新生抑制効果を検証した上で、胃癌・大腸癌の化学療法において key drug である 5-FU 系薬剤に加えて用いられる Irinotecan (CPT)、Platinum (CDDP, L-OHP)、Taxanes (Docetaxel, Paclitaxel) の各々の薬剤について血管新生阻害剤との併用効果を検証して、新しい治療法を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 低酸素環境下での血管新生を介する浸潤・転移能の発現の検証

低酸素下での血管新生増殖因子 (VEGF、PDGF) を介する浸潤・転移能 (uPA system) が誘導されることを検証する。*in vitro* では低酸素環境下でヒト胃癌・大腸癌細胞を培養し、血管新生因子 (VEGF、PDGF) の発現を通して浸潤・転移因子 (uPA system; uPA, uPAR, PAI-1) の発現の実態を調べる。*in vivo* のヌードマ

ウス同所性移植転移モデルでは生体での原発腫瘍の増殖と血管新生因子発現の時期、肝リンパ節・腹膜播種転移巣での血管新生と転移巣形成の過程を解明する。さらに臨床検体での HIF-1 と血管新生因子、浸潤・転移因子の発現の実態を調べ、その臨床的意義を明らかにする。

(2) 血管新生阻害剤の作用発現時期の検証 低酸素環境下での各血管新生阻害剤

(Bevacizumab, Sunitinib, Sorafenib) による HIF 活性の抑制、血管新生増殖因子の抑制効果と併用効果を検証する。血管新生阻害作用として、VEGF 阻害剤 (Bevacizumab) と PDGF 阻害 (Sunitinib) はその作用時期が違ふとされるため相乗効果をもたらす可能性が考えられる。Sorafenib は、マルチキナーゼを阻害し、血管新生因子に対抗している。低酸素環境下での各血管新生阻害剤による血管新生増殖因子と HIF-1 の抑制効果について解析する。

(3) CPT、白金製剤と血管新生阻害剤の併用効果の検証

CPT あるいは白金製剤と血管新生阻害剤との併用効果を *in vivo* で明らかにし、効果的な併用療法の確立と個別化治療への展開を図る。低酸素抵抗性の胃癌、大腸癌の株種を CPT および白金製剤と血管新生阻害剤との併用で治療を行い、無治療群と以下の比較検討を行う。

4. 研究成果

申請後、2013 年に HIF-1 α の発現が胃癌および大腸癌肝転移の予後を規定すると報告され、同時に HIF-1 α と VEGF の発現との相関も指摘された。また、癌免疫治療では、免疫チェックポイント PD-1 (Programmed cell death-1) / PD-L1 経路とその阻害剤が注目され、PD-L1 は HIF-1 の標的遺伝子であることが明らかにされつつある。

胃癌・大腸癌細胞株数種を用いての血管新生遺伝子 (VEGF、PDGF) や浸潤・転移関連因子 (uPA system) などの発現の解析を計画していたが、時間的・金銭的な効率と節約を考慮して、網羅的な解析を進めるのではなく、胃癌、大腸癌の臨床検体を用いた免疫染色などで各遺伝子の発現の相関および予後との関連の探索を先行させ、検索すべき遺伝子を絞り込むことに予定 (順序) を変更することにした。直腸癌手術症例で術前放射線療法を施行した症例の治療前の生検材料および手術摘出標本を用いて、HIF-1、PD-L1 の発現の変動を免疫染色にて検索した。

その結果、術前化学放射線療法により直腸癌組織中のHIF-1とともにPD-L1の発現が増強した症例があり、HIF-1の活性増強によるPD-L1発現誘導の可能性が推測された。また、PD-L1の発現は腫瘍細胞だけではなく、腫瘍周囲のリンパ球（免疫細胞）にも見られ、化学放射線療法によりその発現は有意に増加した。臨床病理学的因子との相関の解析では、腫瘍細胞のPD-L1発現は術後の全生存期間の不良因子である一方で、PD-L1発現免疫細胞の浸潤はリンパ節転移を抑制する可能性が示された。

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 0 件）

〔学会発表〕（計 8 件）

- ① 山下 公大、中川 暁雄、角 泰雄、金光 聖哲、向山 順子、田中 智子、山本 将士、金治 新悟、押切 太郎、中村 哲、掛地 吉弘、直腸癌の術前化学放射線療法と今後の展開、第 49 回制癌剤適応研究会、2016. 3. 25、会津東山温泉 御宿東鳳（福島県）
- ② 田中 智子、山下 公大、山本 将士、金治 新悟、金光 聖哲、押切 太郎、角 泰雄、中村 哲、鈴木 知志、掛地 吉弘、末梢血骨髓由来抑制細胞（MDSC）による再発予測、第 71 回日本消化器外科学会総会、2016. 7. 14-16、あわぎんホール、アスティ徳島（徳島県）
- ③ 田中 智子、山下 公大、有本 聡、西 将康、長谷川 寛、山本 将士、金治 新悟、松田 佳子、押切 太郎、松田 武、角 泰雄、中村 哲、鈴木 知志、掛地 吉弘、担癌状態における骨髓由来抑制細胞（MDSC）の治療による変化とその治療成績への影響、第 27 回日本消化器癌発生学会総会、2016. 9. 15-16、城山観光ホテル（鹿児島県）
- ④ 中川 暁雄、山下 公大、長谷川 寛、山本 将士、金治 新悟、松田 佳子、松田 武、押切 太郎、中村 哲、角 泰雄、鈴木 知志、掛地 吉弘、直腸癌の術前化学放射線療法施行例における免疫関連因子の検討、第 27 回日本消化器癌発生学会総会、2016. 9. 15-16、城山観光ホテル（鹿児島県）
- ⑤ 山下 公大、中川 暁雄、角 泰雄、長谷川 寛、松田 武、向山 順子、鈴木 知志、掛地 吉弘、直腸癌の術前化学放射線療法の免疫関連因子の検討、第 71 回日本大腸肛門病学会学術集会、2016. 11. 18-19、三重県営サンアリーナ（三重県）

- ⑥ 山下 公大、西 将康、田中 智子、山本 将士、金治 新悟、金光 聖哲、押切 太郎、角 泰雄、中村 哲、鈴木 知志、掛地 吉弘、腫瘍誘導性骨髓由来抑制細胞（MDSC）に対する早期治療は肺転移を抑制する、第 26 回日本消化器癌発生学会総会、2015. 11. 19-11. 20、米子全日空ホテル（鳥取県）
- ⑦ 山下 公大、西 将康、田中 智子、山本 将士、金治 新悟、金光 聖哲、角 泰雄、中村 哲、鈴木 知志、掛地 吉弘、NKT 細胞活性化の抗腫瘍効果におけるアロ樹状細胞の有用性、第 24 回日本がん転移学会学術集会・総会、2015. 7. 23-24、シティプラザ大阪（大阪府）
- ⑧ 山下 公大、角 泰雄、金光 聖哲、山本 将士、金治 新悟、今西 達也、中村 哲、鈴木 知志、田中 賢一、掛地 吉弘、局所進行癌に対する術前化学放射線療法を中心とした集学的治療、第 70 回日本消化器外科学会、2015. 7. 15-17、第 70 回日本消化器外科学会、アクトシティ浜松（静岡県）

〔図書〕（計 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 知志 (SUZUKI, Satoshi)
神戸大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：30457080

(2)研究分担者

中村 哲 (NAKAMURA, Tetsu)

神戸大学医学部附属病院・講師

研究者番号：10403247

掛地 吉弘 (KAKEJI, Yoshihiro)

神戸大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：80284488

山下 公大 (YAMASHITA, Kimihiro)

神戸大学医学部附属病院・助教

研究者番号：80535427

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()