

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861077

研究課題名(和文) 治療抵抗性消化器癌に対する癌関連線維芽細胞を標的とした新規治療法の開発

研究課題名(英文) Novel targeting therapy to cancer-associated fibroblasts for treatment-resistant carcinomas

研究代表者

野間 和広 (Noma, Kazuhiro)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：10534761

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：食道癌による線維芽細胞のCAF化と、CAFによる癌細胞の悪性化について検証した。線維芽細胞は癌細胞との相互作用でCAF化し、CAFの刺激により癌細胞は悪性度を増強した。またCAFにより刺激され癌細胞は化学療法や放射線治療に対する治療抵抗性を獲得していた。動物実験においては癌細胞をCAFと共接種した群において5-FUの抗腫瘍効果の減弱を認め、in vitroと同様に治療抵抗性を示した。以上のことよりCAFを制御することが、癌の増殖や治療抵抗性の獲得を抑制し得ることが予測された。続いて、我々はCAFを標的とするPhotoimmunotherapy治療法を開発し選択的に殺傷することに成功した。

研究成果の概要(英文)：CAF of fibroblast cells by esophageal cancer and the promoted malignancy of cancer cells by the CAF were verified. Fibroblasts turned into CAF in the interaction of the cancer cells, the cancer cells by stimulation of the CAF enhanced the malignancy. In addition, cancer cells which are stimulated by CAF had acquired a treatment-resistant phenotype to chemotherapy and radiation therapy. In animal studies it was observed a decreased anti-tumor effect of 5-FU in the group inoculated with CAF, showing treatment-resistant as well as in vitro. It has been predicted that controlling the CAF can suppress the acquisition of growth and therapy-resistant cancers. Subsequently, we have succeeded in developing selectively Photoimmunotherapy that target the CAF.

研究分野：癌微小環境

キーワード：癌微小環境 Photoimmunotherapy 癌関連線維芽細胞 CAF 治療抵抗性

1. 研究開始当初の背景

近年癌腫における癌細胞の heterogeneity は治療抵抗性の原因の一つとされ、癌幹細胞の存在や EMT (上皮間質転換)細胞などが特に治療抵抗や悪性を示すと言われている。一方で“がん微小環境”において中心的な役割を担う癌関連線維芽細胞 (Cancer-associated fibroblast: 以下 CAF 細胞) は癌幹細胞を育む癌幹細胞ニッチを形成したり、また癌細胞の EMT (上皮間葉転換) を促したり密接に関係しているとされる。我々は以前より癌進展におけるがん微小環境、特に CAF 細胞に注目し治療標的としての可能性を探索してきた。癌細胞由来の TGF β により線維芽細胞が活性化し、VEGF の過剰産生から癌微小血管新生が引き起こされることを 3 次元モデルを用いて証明した (Noma K et al. Gastroenterology 2008)。また食道癌においても CAF 細胞の臨床病理学的検討を行い、CAF 細胞は進行した癌に高発現し特に腫瘍の先進部や増殖傾向の強い辺縁部に存在することを確認した。in vitro、vivo においても癌細胞との共培養の方が癌細胞単独よりも増殖促進や腫瘍増大傾向にあることが解った。そこで我々は、その総合的な支援作用の中心的な役割を担う CAF 細胞自体を制御することに着目し CAF 細胞を特異的に制御する方法の開発を行った。方法は光線免疫療法 (PIT: Photoimmunotherapy) に注目した (Kobayashi et al. Nat Med 2011) PIT は、抗 HER2 抗体である Trastuzumab に発光色素 IR700 を抱合し (Tra-IR700) 癌細胞表面と抗原抗体反応させた後に近赤外線光を照射し HER2 陽性細胞のみ殺傷することが出来る。そこで CAF 細胞を特異的に殺傷する方法を共同研究にて抗 FAP 抗体-IR700 を開発し PIT による CAF 細胞の制御による抗腫瘍効果を立証した。

以上より我々は治療抵抗性癌においても CAF 細胞自体を制御することで抗がん剤治療や放射線治療に根治性を上乘せする効果

が得られるのではないかと仮説を立てた。また胃癌においても注目されている HER2 を標的とした治療法を食道癌 (バレット食道癌も含む) へ応用し Tra-IR700 を投与することで一度の PIT で CAF 細胞と癌細胞の同時に殺傷することが可能ではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究においては、まず CAF 細胞が癌幹細胞や EMT へどのように影響を与えているかを解析する。続いて我々が共同研究にて開発した近赤外線光を利用し特異的に細胞を殺傷する光線免疫抗体療法を用いて、治療抵抗性癌細胞と CAF 細胞の同時標的治療を行い今まで困難であった治療抵抗性癌における根治的な新規治療法を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

CAF 細胞の食道癌細胞における治療抵抗性獲得の機構を癌幹細胞や EMT を中心に解明し、CAF 細胞の FAP 蛋白を標的とした PIT を用いて抵抗性癌細胞に対する治療効果を検証する。初年度は in vitro の実験を中心に行い、食道癌細胞と CAF 細胞の相互作用における癌幹細胞化や EMT、そして治療抵抗性の定量を行う。平成 27 年度は、in vivo モデルを用いて癌細胞と CAF 細胞の共培養系にて検討する。CAF 細胞に対しては抗 FAP-IR700、また癌細胞に対しては抗 HER2 抗体である Tras-IR700 を用いて検証する。当科特許同所性モデルを用いて予後定量も解析する。また放射線治療や他の代表的な抗癌剤での PIT 併用療法の相乗効果も検討する。

(1) CAF 細胞刺激により癌細胞の癌幹細胞化や EMT の検討

(2) CAF 細胞刺激による癌細胞の治療抵抗性の解析 (in vitro)

(3) 食道癌における HER2 抗原発現の解析、CAF 細胞刺激による抗原変化の解析 (in

vitro)

(4) 光線免疫療法(PIT)による CAF 細胞、癌細胞への細胞制御効果の検討 (in vitro)

(5) CAF 細胞刺激による癌細胞の治療抵抗性の解析、PIT による食道癌根治性改善の検討 (in vivo)

4. 研究成果

初年度である平成 26 年度は CAF と癌細胞の癌幹細胞化や EMT への影響を解析し、実際の CAF の治療抵抗性への影響を検討した。in vitro にて migration や invasion assay など行い、何れも CAF 刺激により癌細胞の悪性化を認めた。またピメンチンの高発現や E-cad の減少など EMT との関与も示唆された。さらに CD133 の増強を認め CAF 刺激による癌幹細胞化も示唆された。最も重要である治療抵抗性も CAF による刺激により 5FU や Docetaxel、RT への感受性低下など治療抵抗性を示した。in vivo では同様に CAF による移植腫瘍の 5FU 治療抵抗性獲得を確認した。続いて PIT を用いた CAF を標的とした治療を行った。まず in vitro にて FAP 発現する CAF 特異的に近赤外光にて殺傷可能であることを実証し in vivo の実験においても 5FU に治療抵抗性を示していた腫瘍に PIT を用いて CAF を制御すると治療効果を得ることが確認された。以上より奏功率の低い従来の抗癌剤に加えて癌微小環境の中心的な役割を担う CAF 細胞を標的とすることで奏功率の向上や患者の生存率の向上につながり得ると考えられた。

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 1 件)

野間和広、賀島肇、二宮卓之、宿主正常細

胞である癌関連線維芽細胞を標的とした新たな食道癌治療法の開発、癌と化学療法、査読有、42巻、2015、1228 - 1230

[学会発表](計 8 件)

野間和広、がん関連線維芽細胞を標的とした新規治療法の開発、日本外科学会学術集会、京都、平成 26 年 4 月 3 日

野間和広、Therapeutic potential of photoimmunotherapy for cancer-associated fibroblast、日本がん転移学会、金沢、平成 26 年 7 月 10 日
勝部亮一、食道癌の悪性化に対する CAF 標的光線免疫療法の開発、日本癌学会、横浜、平成 26 年 9 月 27 日

Ryoichi Katsube, A novel photoimmunotherapy targeting cancer-associated fibroblasts (CAFs) overcomes therapeutic resistance in human esophageal cancer, AACR, 19 April 2015, Philadelphia, USA

野間和広、Therapeutic potential of photoimmunotherapy for cancer-associated fibroblast、癌免疫外科研究会、奄美(鹿児島)、平成 27 年 5 月 15 日

勝部亮一、A novel strategy of targeting cancer-associated fibroblasts (CAFs) to overcome therapeutic resistant esophageal cancer、日本癌学会、横浜、平成 27 年 10 月 8 日

勝部亮一、癌関連線維芽細胞を標的とした新たな食道癌治療法、関西胸部外科学会、岡山、平成 27 年 6 月 12 日

勝部亮一、癌関連線維芽細胞を標的とした新たな食道癌治療法の開発、日本消化器癌発生学会、米子、平成 27 年 11 月 20 日

[図書](計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計0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0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

<http://www.ges-okayama-u.com/research.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野間 和広 (NOMA, Kazuhiro)

岡山大学・大学病院消化器外科・助教

研究者番号：10534761

(2) 研究協力者

勝部 亮一 (KATSUBE, Ryoichi)

岡山大学・大学病院消化器外科・大学院生

研究者番号：

(3) 研究協力者

白川 靖博 (SHIRAKAWA, Yasuhiro)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科

消化器外科・准教授

研究者番号：60379774

(4) 研究協力者

大原 利章 (OHARA, Toshiaki)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科

免疫病理学・助教

研究者番号：40623533

(5) 研究協力者

藤原 俊義 (FUJIWARA, Toshiyoshi)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科

消化器外科・教授

研究者番号：00304303

(5) 研究協力者

田澤 大 (TAZAWA, Hiroshi)

岡山大学・大学病院消化器外科・助教

研究者番号：90415513