

肺癌に対する WT1 ペプチド免疫療法の開発

研究分担者 奥村 明之進 大阪大学 教授

研究要旨

癌を取り巻く間質や細胞は、腫瘍の微小環境に寄与し、腫瘍の進展に深く影響している。我々は、癌細胞とその微小環境との関わりを標的とした癌治療の開発を目的とした研究を進めてきた。中でも癌周囲の炎症に注目し、さまざまな炎症性サイトカインが肺癌腫瘍悪性度におよぼす影響を解析した。今後も引き続き、微小環境の制御とペプチドワクチンについての関連を解析していきたい。

A. 研究目的

上皮間葉移行 EMT シグナルを制御することで肺癌を dormant な状態に維持することができれば、外科治療や放射線治療といった局所制御、全身治療である抗癌剤に加える有用な癌治療法になると考えられる。本研究の目的は、癌微小環境を調節する EMT の関連シグナル分子を明らかにし、癌細胞の EMT を制御することであり、新たな癌治療の開発につながると考えている。とくに癌周囲の炎症性サイトカインを注意とした微小環境の変化が癌悪性に関連していると考えられる。

B. 研究方法

肺癌周囲の間質 tumor stroma を形成する微小環境に注目し、癌細胞と周囲の間質細胞や細胞外基質のクロストークを解析する。中でも、癌細胞の EMT 誘導・癌幹細胞様形質転換における線維芽細胞(Cancer associated fibroblast: CAF)と炎症細胞(Tumor associated macrophage: TAM や Lymphocyte)の役割を明らかにし、そのシグナル伝達経路を制御することで癌細胞の悪性化を抑制できるか検討する。

(倫理面への配慮) 術前に Informed Consent を得られた症例の肺癌切除標本から肺癌細胞、間質細胞を採取し、実験材料を得る。間質細胞を不死化して研究に用いることを院内で承認されており(当院臨床研究委員会へ「呼吸器外科手術で得られた新鮮切除標本を用いた不死化細胞株樹立」)、実際に蓄積しつつある。さらに市販の肺由来正常線維芽細胞を購入し、実験に用いた。

C. 研究結果

肺癌細胞は、肺癌関連線維芽細胞株 CAF や肺由来正常線維芽細胞との共培養によって、上皮様形態から Spindle な細胞に変化し、

E-cadherin などの上皮系マーカーは減少し N-cadherin や Vimentin などの間葉系マーカーが上昇した。浸潤・転移能は上昇し、さらに抗癌剤や分子標的薬への耐性を獲得した。また足場非依存的培養により、sphere 形成能が高くなっていることがわかった。以上より、線維芽細胞から分泌された液性因子によって癌細胞で EMT が誘導されることが明らかになった。

手術標本から腫瘍周囲の癌関連線維芽細胞 CAF を初代培養し、癌細胞株と共培養したところ、と同様に EMT が誘導された。この現象は、同時期に初代培養で得られた正常肺線維芽細胞 NF の共培養よりも EMT 誘導が迅速であり、CAF から分泌される液性因子の方が、NF に比して EMT 誘導効果が強いことが示された。

炎症性サイトカインの中和抗体を用いて、炎症を抑制することで、にに関連した EMT 誘導効果が阻害され、腫瘍悪性度が低下した。

D. 考察

最近、EMT は免疫寛容に関係するといった報告が最近報告されている。我々の研究結果をふまえると、WT1 ペプチドなどの癌ワクチンに対して EMT がその効果に関与する可能性があり、EMT メカニズムを追求・制御することで、癌ワクチンの効果を高めることが期待できる。

E. 結論

従来の癌治療によって癌幹細胞様形質を維持または誘導する niche が誘導され、治療抵抗性を示す癌幹細胞が残存する可能性が示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shintani Y, Funaki S, Nakagiri T,

Inoue M, Sawabata N, Minami M, Kadota Y, Okumura M., Experience with thoroscopic resection for mediastinal mature teratoma: a retrospective analysis of 15 patients. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 16:441-444, 2013

2. Shintani Y, Abulaiti A, Kimura T, Funaki S, Nakagiri T, Inoue M, Sawabata N, Minami M, Morii E, Okumura M. Pulmonary fibroblasts induce epithelial mesenchymal transition and some characteristics of stem cells in non-small cell lung cancer., *Ann Thorac Surg.*, 96:425-433, 2013

3. Funaki S, Sawabata N, Abulaiti A, Nakagiri T, Shintani Y, Inoue M, Minami M, Okumura M., Significance of tumour vessel invasion in determining the morphology of isolated tumour cells in the pulmonary vein in non-small-cell lung cancer., *Eur J Cardiothorac Surg.*, 43:1126-1130, 2013

2. 学会発表

1. Okumura M, Discussion on lung cancer – multi focal adenocarcinoma, European Society for Thoracic Surgeons (ESTS) Postgraduate course, Birmingham, 2013/5/26

2. Okumura M, Current status and outcome of surgical treatment for lung cancer and thymic epithelial tumors in Japan, 日露医学交流国際シンポジウム, Osaka, 2013/10/31-2013/11/1

3. Shintani Y, Abulaiti A, Kimura T, Funaki S, Nakagiri T, Inoue M, Sawabata N, Minami M, Morii E, Okumura M., Pulmonary fibroblasts increase EMT signaling and decrease sensitivity to chemotherapy in non-small cell lung cancer cells via TGF-beta and IL-6 signaling, The 15th World Conference on Lung Cancer, Sydney, 2013/10/27-2013/10/31

4. Funaki S, Sawabata N, Abulaiti A, Kawamura T, Nakagiri T, Shintani Y,

M. Inoue, M. Minami, M. Okumura, In the new adenocarcinoma classification, histo-pathological finding-invasion reflects the presence of isolated tumor cells, 27th European Association for Cardio-Thoracic Surgery, Vienna, 2013/10/5-2013/10/9

5. 新谷康, 木村亨, Abulimiti Abulaiti, 中桐伴行, 井上匡美, 澤端章好, 南正人, 奥村明之進, 癌幹細胞の微小環境 (niche) を標的とした肺癌治療の開発, 第 113 回日本外科学会総会, 福岡, 2013/4/11-2013/4/13

6. Shintani Y, Abulaiti A, Kimura T, Funaki S, Nakagiri T, Inoue M, Sawabata N, Minami M, Morii E, Okumura M. IL-6 enhances EMT signaling and decreases sensitivity to chemotherapy in non-small cell lung cancer cells, 第 72 回日本癌学会, 横浜, 2013/10/3-2013/10/5

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他