

対象研究テーマ：ケモカインを分子標的とした治療法の開発

研究期間：2012年4月1日～2013年3月31日

研究題目：抗がん剤において産生誘導されるケモカインの同定と病態生理学的役割の解析

研究代表者：福井大学医学部 教授 中本安成

研究成果の概要：

複数の抗がん剤を担がんマウスに投与すると、がん組織への白血球浸潤・免疫反応の増強が認められることが報告されている。しかし、その分子・細胞レベルでの機構については未だ不明な点が多い。一方で、多くの抗がん剤が、腫瘍細胞によるケモカイン産生を *vitro* では誘導することも報告されている。しかしながら、腫瘍細胞によって産生されるケモカインが生体内での腫瘍への免疫反応の成立に果たしている役割を解明することを目的とした。抗がん剤によって特異的腫瘍免疫反応が誘導される条件を検討し、オキサリプラチンによって特異的腫瘍免疫反応が誘導される可能性を示す結果を得られた。今後抗がん剤による特異的腫瘍免疫反応が誘導される条件の最適化を図るとともに、特異的腫瘍免疫反応の成立に関与しているケモカインの同定と機能解析を行う予定である。

研究分野： がんの微小環境

キーワード：オキサリプラチン、腫瘍免疫、白血球浸潤、ケモカイン

1. 研究開始当初の背景

研究代表者の中本と担当教員の向田とは従来から共同研究を行い、自殺遺伝子治療法やラジオ波照射療法にて、壊死に陥った腫瘍細胞がケモカイン CCL3 を産生することによって、腫瘍特異的免疫反応が生じる可能性を示す結果を論文報告している。

複数の抗がん剤を担がんマウスに投与すると、がん組織への白血球浸潤・免疫反応の増強が認められることが報告されている。しかし、その分子・細胞レベルでの機構については未だ不明な点が多い。

一方で、多くの抗がん剤が、腫瘍細胞によるケモカイン産生を *vitro* では誘導することも報告されている。しかしながら、このように腫瘍細胞によって産生されるケモカインが、生体内での腫瘍への白血球浸潤・免疫反応の成立に果たしている役割についてはほとんど解明されていない。本研究計画ではこの点の解明を目指す。

2. 研究の目的

種々の抗がん剤にて処置した腫瘍細胞を正常マウスに投与し、**Rechallenge** した際に拒絶される条件を同定する。拒絶が生じる条件下で産生が誘導されるケモカインの機能解析を行うことによって、抗がん剤による免疫賦活過程に重要な役割を果たしているケモカインを標的とした抗がん治療法の開発

を最終的に目指す。

3. 研究の方法

1)卵白アルブミン抗原(OVA)と EGFP を発現するレトロウイルスベクター(pLEGFP-N1)をエコトロピックパッケージング細胞(Phoenix)にトランスフェクトし、得られたウイルス粒子を Polybrene 存在下にマウス肝がん細胞株(BNL 1ME A.7.R.1、以下 BNL)に感染させ、安定的に OVA を発現する BNL 細胞株(BNL-OVA)を作成する。

2)セリン/スレオニン・キナーゼ活性を保有する原がん遺伝子 Pim-3 の発現を BNL 細胞株で確認し、Pim-3 を阻害する置換フェナントレン化合物 T-26 で処置した際の細胞死の状態と免疫原性を評価する。

3)抗がん化学物質であるオキサリプラチン(OXA)、シクロホスファミド(CTX)および T-26 で処置した BNL 細胞を Balb/c マウス側腹部の皮下に接種し、7 日後に対側の腹部に BNL 細胞を皮下注射することで、抗がん剤治療によるがん細胞の免疫原性を確認する。

4. 研究成果

1)安定的に OVA を発現する BNL-OVA 細胞株を作成し、蛍光顕微鏡下および RT-PCR で EGFP、OVA の発現を確認した。今後、当細胞株を抗がん剤投与時の抗原特異的な免疫応答の判定に利用する予定である。

2)BNL 細胞株において RT-PCR で Pim-3 の発現を確認した。BNL 細胞に対し in vitro で 50~100 μ M の T-26 で処置した際に、顕著なアポトーシスを認めた。しかしながら T-26 で処置した BNL 細胞の皮下接種を行った Balb/c マウスでは、再度の BNL 細胞接種においてワクチン効果を認めなかった。

3)OXA で処置した BNL 細胞の接種において、弱いワクチン効果を確認した。強力なアポトーシスを誘導する T-26 の併用下で、ワクチン効果の増強が見られるか確認中である。また、担がんマウスに対する CTX 投与時の免疫誘導効果も確認中であり、ともに効果が見られれば、種々のケモカインとの関連を明らかにする予定である。

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 4 件)

1. 内藤 達志、根本 朋幸、森瀬 涼子、里見 聡子、大谷 昌弘、須藤 弘之、山崎 幸直、中本 安成。当院におけるB型肝炎再活性化の現状とガイドラインの運用に関する検討 第48回日本肝臓病学会総会 (金沢) 2012年6月7日

2. 内藤達志、根本朋幸、松田秀岳、大谷昌弘、須藤弘之、中本安成。 当院における治療法によるB型肝炎再活性化の検討 第16回日本肝臓病学会大会 (神戸) 2012年10月11日

3. Tatsushi Naito, Tomoyuki Nemoto, Hidetaka Matsuda, Masahiro Ohtani, Hiroyuki Suto, Yasunari Nakamoto. High incidence of HBV Reactivation after R-CHOP and CHOP Regimens among Patients Treated with Six Immunosuppressive Chemotherapies 第63回米国肝臓病学会議(The 63rd annual meeting of AASLD) (ボストン) 2012年11月10日

4. 内藤達志、根本朋幸、松田秀岳、大谷昌弘、須藤弘之、中本安成。 当院における治療法別のB型肝炎再活性化の現状 第99回消化器病学会総会 (鹿児島) 2013年3月23日

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

福井大学医学部・教授 中本安成

(2)研究分担者

福井大学医学研究科・大学院生 内藤達志

(3)本研究所担当者

分子生体応答・教授 向田直史