

国産既存薬リポジショニングによる腹膜環境正常化を目的とした難治性卵巣癌に対する新規治療戦略の開発

名古屋大学医学部附属病院

産婦人科 病院助教 吉原雅人

名古屋大学大学院医学系研究科

腫瘍病理学 教授 榎本 篤

名古屋大学大学院医学系研究科

産婦人科学 教授 梶山 広明

岐阜大学大学院医学系研究科

腫瘍病理学 准教授 富田 弘之

1. 研究の背景・目的

卵巣癌は婦人科悪性腫瘍の中でも最も予後不良な癌種の一つであり、多くの患者において腹膜播種という特徴的な転移様式を伴う進行期で診断される。私たちはこれまで、卵巣癌細胞が放出するサイトカインなどの液性因子により炎症を来たした腹膜において、間葉転換を引き起こした腹膜中皮細胞である癌関連腹膜中皮細胞が、間質浸潤により癌関連線維芽細胞を構成することを解明し¹、治療標的とすることで卵巣癌の腹膜進展を抑制する可能性を報告した²。本研究課題では、卵巣癌腹膜播種において AM80 が癌促進性癌関連腹膜中皮細胞から抑制性正常腹膜中皮細胞への形質転換を促す可能性を考え、腹膜環境を標的とした治療戦略を構築することを目的とした。

2. 研究の対象ならびに方法

ヒト卵巣漿液性癌を模倣する腹膜播種動物モデルを樹立するため、まず初めに一般的に卵巣癌研究に使用されているマウス卵管上皮不死化細胞株である ID8 を用いて、中皮細胞が特異的に標識される WT1^{CreERT2/+}; ROSA26^{fltdTomato} マウス同種同所性腹腔内移植を行った。さらにヒト卵巣癌の表現型により近い遺伝子改変マウス (Brca2^{-/-}; Trp53^{-/-}; Pten^{-/-}) 由来癌細

胞株 (HSG)³ を用いて、同様に同種同所性腹腔内移植により卵巣癌腹膜播種を本モデルにおいても再現できるかを確認した。続いて、腫瘍部腹膜および非腫瘍部腹膜をそれぞれ採取して一細胞レベルまで分離を行い、抽出した細胞を、セルソーターを用いて WT-1 陽性細胞 (tdTomato 陽性) のみをソーティングし、腹膜中皮細胞のみを選択的に抽出する。本細胞が scRNAseq の解析に耐えうるかを検証するために、体外培養を行いその形質を確認した。本研究は、名古屋大学医学部生命倫理審査委員会 (ヒトゲノム・遺伝子解析研究) の承認を得て実施した。

3. 研究結果

上述の播種腫瘍組織を蛍光免疫組織染色にて観察し、WT-1 にて標識された腹膜中皮細胞がどのような局在や形態、組織学的性質や構造を示すのかを同時に評価観察した。その結果、腫瘍間質を構成する線維芽細胞の一部に、WT-1 で標識された中皮細胞が存在することが判明した。この結果は、ID8 および HGS 双方の細胞株においても同様の所見が認められたことから再現性があり、卵巣癌に共通する進展機構であることが示唆された。また、マウス腹膜より中皮細胞を分離し、セルソーターを用いて WT-1 陽性細胞のみをソーティングして分離培養したところ、tdTomato 陽性を発現する中皮細胞の培養が確認できた。以上の結果は、WT-1 陽性の中皮細胞が腫瘍内に存在することで卵巣癌の腹膜進展に関与することを示している。また生体から中皮細胞を特異的かつ直接的に生細胞として抽出できることを裏付けるものであり、scRNAseq を用いることで卵巣癌腹膜播種における卵巣癌細胞と腹膜中皮細胞との関係性を詳細に評価できる可能性が示された。一方で、AM80 の治療効果を検証するための陽性対照として、本モデルへ Calcitriol を投与したところ、WT-1 陽性の中皮細胞の間葉転換を抑制することを、腫瘍増生を減少させる効果があること確認した。本結果より、腹膜中皮細胞の間葉転換が卵巣癌進展を亢進する一方で、本機構を抑制することで病勢制御が期待できることが示された。

4. 考察

腹膜中皮細胞は卵巣癌の作用により生体においても実際の間葉転換を引き起こし、腫瘍間質内に浸潤することを突き止めた。これは癌関連腹膜中皮細胞が存在することを証明する成果であると考えられる。今後 AM80 を本動物モデルに投与することで、腹膜中皮細胞の間葉転換に与える影響を、中皮細胞を特異的に抽出する本技術を用いることで、scRNAseq により詳細に評価することが可能となる。さらに AM80 以外の既存薬や新規化合物の治療効果の評価にも使用することで、難治性進行卵巣癌の新規治療戦略の開発に繋げていきたい。

5. 文献

1. Masato Yoshihara, Hiroaki Kajiyama, Akira Yokoi, Mai Sugiyama, Yoshihiro Koya, Yoshihiko Yamakita, Wenting Liu, Kae Nakamura, Yoshinori Moriyama, Hiroaki Yasui, Shiro Suzuki, Yusuke Yamamoto, Carmela Ricciardelli, Akihiro Nawa, Kiyosumi Shibata, Fumitaka Kikkawa. Ovarian cancer-associated mesothelial cells induce acquired platinum-resistance in peritoneal metastasis via the FN1/Akt signaling pathway. *International Journal of Cancer*. 2020.146:2268-2280.
2. Kazuhisa Kitami, Masato Yoshihara, Satoshi Tamauchi, Mai Sugiyama, Yoshihiro Koya, Yoshihiko Yamakita, Hiroki Fujimoto, Shohei Iyoshi, Kaname Uno, Kazumasa Mogi, Yoshiki Ikeda, Akira Yokoi, Nobuhisa Yoshikawa, Kimihiro Nishino, Kaoru Niimi, Akihiro Nawa, Atsushi Enomoto, Hiroaki Kajiyama. Peritoneal restoration by repurposing vitamin D inhibits ovarian cancer dissemination via blockade of the TGF- β 1/thrombospondin-1 axis. *Matrix Biology*. 2022.109:70-90.
3. Eleni Maniati, Chiara Berlato, Ganga Gopinathan, Owen Heath, Panoraia Kotantaki, Anissa Lakhani, Jacqueline McDermott, Colin Pegrum, Robin M Delaine-Smith, Oliver M T Pearce, Priyanka Hirani, Joash D Joy, Ludmila Szabova, Ruth Perets, Owen J Sansom, Ronny Drapkin, Peter Bailey, Frances R Balkwill. Mouse Ovarian Cancer Models Recapitulate the Human Tumor Microenvironment and Patient Response to Treatment. *Cell Rep*. 2020 Jan 14;30:525-540.e7.

6. 論文発表

- Mogi K, Yoshihara M. Lineage tracing and functional analysis of ovarian cancer-associated mesothelial cells. 第 81 回日本癌学会学術総会・横浜 2022 年 9 月
- Mogi K, Yoshihara M. Single-cell analysis reveals the diversity of cancer-associated mesothelial cells in the peritoneal dissemination. 第 75 回日本産科婦人科学会学術講演会・東京 2023 年 5 月 (発表予定)