

# 論 文 内 容 要 旨

mTOR and PDGF pathway blockade inhibits liver metastasis of colorectal cancer by modulating the tumor microenvironment

(mTOR 及び PDGF 経路の阻害による大腸癌浸潤、肝転移の抑制)

American Journal of Pathology, 185: 399-408, 2015.

応用生命科学部門 消化器・代謝内科学

主指導教員：茶山一彰教授

病院 内視鏡医学

副指導教員：田中信治教授

病院 総合診療医学

副指導教員：田妻進教授

弓削 亮

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

癌の増殖、浸潤、及び転移は癌細胞だけではなく、それらの周囲に存在する腫瘍間質によっても影響を受けることが知られている。腫瘍間質は癌関連線維芽細胞 (CAF: cancer-associated fibroblast)、macrophage をはじめとする免疫細胞、血管やリンパ管内皮細胞、さらには細胞外基質などによって構成されている。なかでも CAF は腫瘍間質を構成する主要な細胞であり、増殖因子やサイトカインの産生、組織構築、血管新生などを介し、癌の進展を多方面から促進させることが示されている。著者らはこれまで CAF が高発現している PDGF-R (platelet derived growth factor receptor) を標的として、ニロチニブによる腫瘍間質抑制療法が大腸癌や胃癌の転移を抑制することを報告してきた。一方、大腸癌細胞において PI3K/Akt/mTOR (mammalian target of rapamycin) 経路は最も重要なシグナル経路のひとつであり、エベロリムスは同経路を阻害する分子標的薬として注目されている。これまでに、癌細胞増殖阻害のほか血管新生阻害作用も報告されているが、単剤投与では期待される程の臨床効果は得られていない。本研究では、標的分子が異なる二種類の分子標的薬を併用することにより癌細胞と腫瘍間質を同時に抑制し、浸潤や転移に対する治療効果を分子生物学的に検討した。

はじめに、大腸癌組織においてエベロリムスの標的である mTOR 経路の活性化を確認するために、ヒト大腸癌切除標本 27 症例 (深達度 M : 10 例 SM : 10 例 MP : 7 例) を用いて mTOR 経路の下流蛋白であるリン酸化 S6 蛋白の発現レベルを免疫染色にて検討した。ヒト大腸癌切除標本において正常大腸粘膜では S6 蛋白のリン酸化は認められなかったが、深達度にかかわらず癌細胞では S6 蛋白のリン酸化を均一に認めた。

次に、ヒト大腸癌細胞株を用いて、*in vitro* における標的分子の発現やリン酸化の変化を western blot 法にて確認した。ヒト大腸癌細胞株では PDGF-R の発現を認められなかった。mTOR 及び S6 蛋白はすべての細胞において発現しており、エベロリムス投与によりこれらの蛋白のリン酸化は著明に抑制された。

最後に、ヒト大腸癌細胞株 KM12SM 細胞を用いて同所 (盲腸壁) 移植モデル及び実験的肝転移モデルを作成し、無治療群、ニロチニブ (PDGF-R 阻害剤) 単剤投与群、エベロリムス (mTOR 阻害剤) 単剤投与群、両薬剤併用群の 4 群 (同所移植モデルは各群 10 匹、転移モデルは各群 5 匹) に分け、28 日間経口投与を行った後、腫瘍重量、体積、リンパ節転移、肝転移等を評価した。また腫瘍の切除標本を用いて免疫組織学的検討を行った。腫瘍重量及び体積は、同所移植モデル、実験的肝転移モデルともに併用群において最も減少していた。また、腫瘍の組織学的な検討では、両モデルにおいて無治療群は間質反応が強い浸潤性の腫瘍を形成していたのに対して、ニロチニブ単剤投与群では間質反応が有意に抑制され腫瘍辺縁が膨張性の発育に変化していた。エベロリムス単剤投与群では血管新生が有意に抑制されていたが腫瘍は浸潤性の発育を維持していた。一方、併用群では両モデルにおいて、腫瘍における間質反応の抑制、浸潤形態の変化、血管新生の抑制がいずれも見られ、細胞増殖能やアポトーシスの評価においても最も有効な治療効果が得られた。

これらの併用治療において相乗効果が得られた機序としては、間質量の減少に伴う癌間

質相互作用の減少、間質圧の低下に伴う併用薬剤の治療効果増強などを推測している。現在、大腸癌の標準的化学療法では間質を標的とする薬剤は臨床応用されていないが、本研究の結果から癌細胞のみならず間質細胞を標的とすることで、効果的に大腸癌の発育、進展を制御できる可能性が示された。