

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591666

研究課題名（和文） HIF-1 を標的とした癌分子標的治療法の開発に関する基礎研究

研究課題名（英文） The basic research on HIF-1-targeted cancer therapy

研究代表者

寺本 晃治 (TERAMOTO KOJI)

滋賀医科大学・医学部・助教

研究者番号：10452244

研究成果の概要（和文）：腫瘍組織における慢性的な低酸素状態と担癌宿主の抗腫瘍免疫応答の低下との関連について、特に低酸素状態において発現誘導される転写因子Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) と抗腫瘍免疫応答の抑制するサイトカインTransforming growth factor-beta (TGF-beta) との関連について担癌マウスモデルで検討した。腫瘍組織でのHIF-1阻害によりTGF-betaの発現が低下し腫瘍組織および腫瘍所属リンパ節での抑制性免疫細胞が減少し、全身性の抗腫瘍免疫応答が増強して、腫瘍増殖は抑制された。

研究成果の概要（英文）：In this study, we examined the possibility that hypoxia in tumor tissues might be implicated in the immunosuppression in tumor-bearing host. Based on the data that hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) regulates expressions of many genes associated with tumor progression, we hypothesized that inhibition of HIF-1 in tumor tissues would augment anti-tumor immune responses. Tumor-bearing mice were administered HIF-1 inhibitor into the established tumor, and then, anti-tumor immune responses elicited in the mice were examined. As results, HIF-1 inhibition attenuated the level of TGF-beta in tumor tissues. In tumor-draining lymph nodes and spleen, the numbers of regulatory cells were decreased. In spleen, antigen-specific effector cells were increased.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：腫瘍免疫学 腫瘍微小環境

1. 研究開始当初の背景

我々は、腫瘍免疫学の基礎研究において免疫抑制性サイトカインである TGF-beta に焦点を当て研究を進めてきた。その結果、担癌個体における TGF-beta の主たる分泌部位である腫瘍組織での腫瘍細胞や腫瘍間質細胞からの TGF-beta の分泌を抑制できれば疲弊した抗腫瘍免疫応答が回復する可能性に着目した。その腫瘍微小環境の一つの特徴として腫瘍組織は恒常的に低酸素状態に置かれている事が知られ・Hockel M. J. Natl. Cancer Inst. 2001)、低酸素は腫瘍組織と正常組織を区別する重要な点と考えられている。また低酸素応答において転写因子 HIF-1 が鍵分子であることが報告(Semenza GL. Nat. Rev. cancer, 2003)されて以来、VEGF などの多くの低酸素誘導遺伝子が HIF-1 に制御されていることが判ってきた。HIF-1 は TGF-beta の発現も調節している可能性があり、HIF-1 阻害によって TGF-beta の発現が抑制され、これを介して全身性の抗腫瘍免疫応答が増強される可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では HIF-1 を標的にした癌治療の開発のために、HIF-1 阻害により影響を受ける抗腫瘍免疫応答について担癌マウスモデルで解析を行う。

つまり腫瘍細胞の HIF-1 を阻害することで腫瘍細胞の TGF-beta mRNA 発現 或いは TGF-beta 蛋白発現がどの程度、抑制されるか、変化した腫瘍細胞の TGF-beta 発現は腫瘍間質細胞による TGF-beta 分泌にも影響を及ぼすかどうか、腫瘍組織内での TGF-beta 蛋白量の変化は腫瘍浸潤リンパ球・細胞傷害性 T 細胞、抗原特異的ヘルパー T 細胞、制御性 T 細胞の機能にどのような影響を及ぼすのか、腫瘍組織における HIF-1 を介した TGF-beta の抑制は全身性にどのような影響を及ぼすのか、これらの結果、担癌個体における腫瘍

増殖抑制効果は得られるか、などについて担癌マウスモデルで検討する。

3. 研究の方法

HIF-1 を標的とした癌分子標的治療法の開発のために担癌個体における腫瘍組織において HIF-1 を阻害することで影響を受ける抗腫瘍免疫応答をマウスモデルで解析する。C57BL/6 マウスに同系の非上皮系腫瘍細胞株 EG7(マウスリンパ腫細胞株)または上皮系細胞株 LLC1(マウス肺癌細胞株)を皮下移植した担癌マウスモデルを作製する。同マウスの腫瘍内に HIF-1 阻害剤である YC-1(3-(5'-hydroxymethyl-2'-furyl)-1-benzylindazole, Yeo EJ et al. J. Natl. Cancer Inst. 2003)を投与して腫瘍増殖抑制効果について検討した後、腫瘍組織を摘出する。腫瘍組織中の HIF-1 及び TGF-beta の蛋白発現、mRNA 発現を定量し相関関係について検討する。また摘出した腫瘍組織から腫瘍浸潤リンパ球を分離し腫瘍抗原特異的ヘルパー T 細胞(Th1 細胞)、細胞傷害性 T 細胞(CTL)、制御性 T 細胞(Treg)の機能解析を行う。また腫瘍局所における抗腫瘍免疫応答の変化が全身に及ぼす影響に関して同マウスの脾細胞を用いて腫瘍抗原特異的な細胞傷害性 或いは反応増殖性を検討する。

4. 研究成果

E. G7(マウスリンパ腫細胞株)または LLC1(マウス肺癌細胞株)を皮下移植した担癌マウスモデルにおいて、腫瘍組織内に HIF-1 阻害剤として YC-1 または HIF-1 siRNA を投与して変化する抗腫瘍免疫応答について検討した。その結果、YC-1 または HIF-1 siRNA の腫瘍内投与により腫瘍組織における HIF-1 と TGF-beta の蛋白レベルおよび mRNA レベルでの発現が低下した。また、腫瘍所属リンパ節内の制御性 T 細胞や Myeloid-derived suppress

or cell (MDSC)の数が減少した。さらに、腫瘍所属リンパ節や脾臓において腫瘍抗原特異的にIFN- γ を産生するCD4陽性細胞とCD8陽性細胞の割合が増加し、脾臓中のNatural Killer活性が上昇した。YC-1または HIF-1 siRNAの腫瘍内投与により腫瘍の増殖は著明に抑制された。腫瘍組織内のHIF-1の阻害によりTGF-betaの発現が低下し腫瘍組織および腫瘍所属リンパ節での抑制性の免疫細胞が減少したことで、全身性に抗腫瘍免疫応答が増強し腫瘍の増殖抑制につながったと考えられる。

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5件)

1. Koji Teramoto, You Kawaguchi, Testuo Hori, Yasuhiko Ohshio, Shoji Kitamura, Jun Hanaoka, Noriaki Tezuka, Keiichi Kontani. Inhibition of HIF-1 weakens TGF-beta-mediated immunosuppression. 第102回米国癌学会. 2010年4月2-7日. アメリカ合衆国, 2010, Orlando. FL.
2. 寺本晃治, 大塩恭彦, 花岡淳, 手塚則明. HIF-1阻害によるTGF-beta発現抑制を介した抗腫瘍免疫応答の増強。第69回日本癌学会学術総会。2010年9月22日～24日、大阪。
3. Koji Teramoto, You Kawaguchi, Testuo Hori, Shoji Kitamura, Jun Hanaoka, Noriaki Tezuka, Keiichi Kontani. Inhibition of hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) in the tumor can augment anti-tumor immune responses

through the elimination of transforming growth factor-beta (TGF-b)-mediated immunosuppression. 第101回米国癌学会. 2010年4月17-21日. アメリカ合衆国ワシントンDC

4. 寺本晃治, 山田英人, 藤田琢也, 花岡淳, 手塚則明, 紺谷桂一. HIF-1阻害によるTGF-beta発現抑制を介した抗腫瘍免疫応答の増強。第68回日本癌学会学術総会。2009年10月1日～3日、横浜。
5. Koji Teramoto, Tomoyuki Igarashi, Shoji Kitamura, Takuya Fujita, Jun Hanaoka, Noriaki Tezuka, Keiichi Kontani. Inhibition of hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) in the tumor can augment anti-tumor immune responses through the elimination of transforming growth factor-beta (TGF-b)-mediated immunosuppression. 第100回米国癌学会. 2009年4月18-22日. アメリカ合衆国デンバー.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

寺本 晃治 (TERAMOTO KOJI)
滋賀医科大学・医学部・助教
研究者番号：10452244