

論文の内容の要旨

1 目的

近年、抗癌治療における化学療法や放射線療法への治療抵抗性獲得の要因として、癌幹細胞の存在が注目されている。癌幹細胞は腫瘍のごく一部であるが、腫瘍形成能、多分化能、自己複製能、薬剤耐性の性質を持つため、癌幹細胞を標的とした治療法は非常に合理的である。

これまで癌幹細胞の表面マーカーとして ALDH1, CD133, CD44, CD47 などが報告されているが、胃癌における癌幹細胞の特異的マーカーは不明である。腫瘍細胞に発現する CD47 は、貪食細胞上の Signal Regulatory Protein α (SIRP α) と結合し、その貪食を抑制することで、腫瘍免疫を回避する分子として注目されている。これまで CD47-SIRP α シグナルの阻害により、癌細胞の貪食を促進する治療の実験的検討がなされているが、胃癌での報告はない。本研究では胃癌における CD44 および CD47 発現細胞の特徴を検討するとともに、CD47 を標的とした治療の可能性について検討した。

2 対象並びに方法

(1) 根治的胃切除術症例の胃癌組織マイクロアレイを用い CD47 の免疫組織学的染色を行い、その発現と臨床病理学的背景・生存率を比較した。

(2) 胃癌細胞株(MKN7・MKN45・MKN74・NUGC3・KATOIII)を用いフローサイトメトリー解析により CD44, CD47 の発現を検討した。また, MKN45, MKN74 を用いて CD44, CD47 の発現により細胞をソーティングし, *in vitro* での増殖能, *in vivo* での腫瘍形成能を検討した。幹細胞培養法であるスフェロイド形成試験を行い, CD47 高発現, 低発現細胞のスフェロイド形成能を検討した。

(3) ヒトマクロファージおよびマウスマクロファージを, CD47 中和抗体である B6H12 抗体投与下に癌細胞と共培養し, 癌細胞の貪食に及ぼす影響をコントロール抗体 (HLA-ABC 抗体, Isotype 抗体) と比較した。また, B6H12 抗体が胃癌細胞増殖およびアポトーシスに及ぼす影響を検討した。

(4) MKN45 細胞をヌードマウス腹腔内に接種した腹膜播種モデルを用い, B6H12 抗体の治療効果をコントロール抗体と比較した。

3 成績

(1) 胃癌組織標本の免疫組織学的検討では, 115 症例中 57 症例で CD47 陽性であった。CD47 陽性例は占居部位が U 領域の症例が有意に多く, 他の臨床病理学的因子は陰性例との間で有意差を認めなかった。CD47 陽性例の 5 年生存率は陰性例に比べ有意に低率であった。単変量解析では, 占居部位, 腫瘍径, 深達度, リンパ節転移, CD47 陽性が有意な予後不良因子として選択され, さらに多変量解析では占居部位, 腫瘍径, リンパ節転移とともに, CD47 陽性が独立した予後不良因子であった。

(2) 検討した胃癌細胞株全てにおいて CD44, CD47 の発現が認められ, 中でも高発現で

あった MKN45, MKN74 細胞を以降の実験に用いた。CD47 高発現細胞は CD47 低発現細胞と比較し増殖能が有意に高く、また CD44 高発現かつ CD47 高発現細胞は、最も腫瘍形成能が高かった。CD47 高発現細胞は低発現細胞と比較しスフェロイド形成能も有意に高かった。

(3) B6H12 抗体はコントロール抗体と比較し、ヒトマクロファージによる胃癌細胞貪食を有意に促進した。一方、マウスマクロファージでは B6H12 抗体だけでなく HLA-ABC 抗体も癌細胞の貪食を促進した。B6H12 抗体は癌細胞増殖を抑制せず、アポトーシスの誘導も認めなかった。

(4) 腹膜播種モデルマウスにおいて B6H12 抗体はコントロール抗体と比較し、有意に生存期間を延長し、体重減少を抑制した。

4 考察

(1) 胃癌切除検体の免疫組織学的 CD47 陽性は、予後不良症例の選別に有用であると考えられた。

(2) CD44 高発現 CD47 高発現胃癌細胞は癌幹細胞の特徴を有していた。

(3) B6H12 抗体は CD47-SIRP α シグナルの阻害により、ヒトマクロファージの胃癌細胞貪食を促進した。

(4) B6H12 抗体は Fc 依存性癌細胞貪食に加え、CD47-SIRP α シグナル阻害による貪食促進により、腹膜播種モデルマウスの生存期間を延長した可能性が考えられた。

5 結論

CD47 を標的とした胃癌治療は、癌幹細胞モデルに基づき、貪食細胞の癌細胞貪食を促進させる可能性があり、これまでの抗癌剤、分子標的薬とは機序の異なる新しい治療戦略となる可能性が考えられた。