HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	癌関連線維芽細胞を標的とした膵癌に対する近赤外光線免疫療法に関する研究
Author(s)	米村, 洋輝
Description	配架番号：2964
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16654号
Issue Date	2025-09-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16654
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/98264
Type	doctoral thesis
File Information	YONEMURA_Hiroki_abstract.pdf, 論文内容の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（医　学）　氏 名　米村　洋輝

学 位 論 文 題 名

癌関連線維芽細胞を標的とした膵癌に対する近赤外光線免疫療法に関する研究
(Study on near-infrared photoimmunotherapy for pancreatic cancer targeting cancer associated fibroblasts)

【背景と目的】

膵管癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma : PDAC) は最も予後不良な癌種として知られ，その 5 年生存率は依然として非常に低く，日本では 10%未満と報告されている．また，発見された段階ではすでに進行癌であることが多く，全身化学療法を行うことが多いが，その治療反応性は乏しい．PDAC の特徴はその豊富な腫瘍間質であり，間質が物理的な障壁となることで，癌細胞へ薬剤が十分に送達されないことが全身化学療法が奏功しない原因の一つとして挙げられる．

腫瘍間質は主に癌関連線維芽細胞 (cancer associated fibroblasts : CAFs) がその形成に関与している．CAFs は間質の構成成分を分泌するだけでなく，腫瘍細胞の増殖や転移を促進したり，がんに対する免疫反応を抑制する因子を分泌したりすることで，腫瘍の進行に寄与する．そのため CAFs は，PDAC 患者の治療標的となり得ると考えられている．しかしながら，有望な前臨床試験の結果にもかかわらず，CAFs を標的とする戦略はいずれも確立された臨床治療にはつながっておらず, PDAC における CAFs を標的とする新たな治療アプローチが早急に必要とされている．

我々は近年登場した新しいがん治療法である近赤外光線免疫療法 (near-infrared photoimmunotherapy : NIR-PIT) に着目した．NIR-PIT はその高い抗腫瘍効果や正常細胞への影響が少ない点から，今後のがんに対する手術，放射線治療，化学療法に次ぐ新規治療として注目されている．NIR-PIT で CAFs を減少させることによって癌の増殖効果と癌間質量を低減し，抗腫瘍効果と抗癌剤浸透性の増加が得られるものと考えた．

本研究では，PDAC において，CAFs をターゲットにした NIR-PIT を抗癌剤治療に併用することによる抗腫瘍効果の増強を明らかにすることを目的とした．

【対象と方法】

ヒト PDAC 細胞株として Capan-1 を，膵癌領域においてヒト CAFs の前駆細胞とされている膵星細胞 (pancreatic stellate cells : PSCs) である hPSC-5 を使用した．また，CAFs 表面に発現しているとされている線維芽細胞活性化タンパク質 (fibroblast activation protein : FAP) に対する抗ヒト FAP 抗体と光感受性物質の IRDye®700DX (IR700) との複合体 (anti-human FAP antibody - IR700 : αFAP-IR700) を作製し，*in vitro* において NIR-PIT 効果の確認を行った．

まず，蛍光顕微鏡とフローサイトメトリーを用いて hPSC-5 に αFAP-IR700 が結合することの確認を行った．ついで hPSC-5 と αFAP-IR700 を用いて *in vitro* での NIR-PIT を行い，治療効果について蛍光顕微鏡観察とフローサイトメトリーにて評価を行った．蛍光顕微鏡下ではエチジウムホモダイマー1 を用いて死細胞の蛍光観察を行い，フローサイトメトリーではヨウ化プロピジウム染色で死細胞数を計測した．

次に，hPSC-5 が Capan-1 の増殖能に寄与することを確認するために，両細胞を共培養した場合の Capan-1 細胞数と Capan-1 単独培養の細胞数との比較を行った．また，共培養細胞に αFAP-IR700 による NIR-PIT を施行し，Capan-1 の増殖能への影響を Capan-1 細胞数にて確認した．

加えて，hPSC-5 に対する NIR-PIT 施行時に免疫原性細胞死 (immunogenic cell death : ICD) が誘導されているか否かを，各アッセイキットを使用して確認した．

In vivo での検討として，BALB/c Slc-*nu/nu* に Capan-1 と hPSC-5 を混合して移植し，抗癌剤のゲムシタビン (gemcitabine : GEM) と αFAP-IR700 による NIR-PIT の併用による治療効果の評価を行った．

【結果】

hPSC-5 に対する抗ヒト FAP 抗体の結合率は高く，hPSC-5 には FAP 発現があることが確認できた．hPSC-5 に対する αFAP-IR700 を用いた NIR-PIT では，近赤外線 (NIR) 照射後から細胞の膨化が始まり，1 時間後には細胞死が確認できた．フローサイトメトリーによる定量評価においても，コントロール群に比較して 50 J/cm^2 での NIR-PIT 群では有意に死細胞の割合が高かった ($p < 0.01$) ．

Capan-1 単独培養細胞と比較すると，Capan-1 と hPSC-5 の共培養では Capan-1 細胞数が有意に増加した ($p < 0.01$) ．αFAP-IR700 による NIR-PIT を共培養細胞に対して行ったところ，Capan-1 の増殖能は Capan-1 単独培養細胞と同程度まで低下した ($p < 0.01$) ．

ICD 関連アッセイは，アデノシン三リン酸はコントロール群に比較して 50 J/cm^2 での NIR-PIT 群で有意に放出量が多かった ($p < 0.01$) ．カルレティキュリンはコントロール群に比較して 25, 50 J/cm^2 での NIR-PIT 群では有意に膜表面への移行を認めた ($p < 0.01$) ．高移動度グループボックス 1 の放出に関してはコントロール群と NIR-PIT 群の間で有意差は見られなかった ($p = 0.70$) .

In vivo では，GEM 単剤群と比較して，GEM 併用 NIR-PIT 群では腫瘍のサイズが有意に減少した (28 日目 : 79 vs. 382 mm^3, $p < 0.01$) ．NIR-PIT 単独群では，コントロール群と比較して腫瘍縮小効果は認められなかった (28 日目 : 605 vs. 766 mm^3 , $p = 0.78$) ．

【考察】

本研究では，PDAC の癌間質構造の主体をなす CAFs を標的にした NIR-PIT は，癌間質の物理的障壁を減弱し，GEM による化学療法の効果を高める可能性を示すことができた．

NIR-PIT の最大の利点は，特異抗体と照射領域の制御による，治療標的への高い選択性が挙げられる．膵臓は後腹膜臓器であり，周囲には胃や十二指腸，大血管などに近接しているため，放射線や重粒子線による局所治療では他臓器への障害が問題となることが多いが，NIR-PIT は，その標的選択性の高さから，より安全で有用な治療法となりうる．しかしながら膵臓内病変への選択的 NIR 照射は一つの課題としてあげられ，内視鏡的経鼻膵管ドレナージチューブを応用した専用照射デバイスの開発も同時に進行中である．

これまで，膵癌関連の CAFs は 3 つのサブタイプに分類でき，それぞれが癌促進作用や逆に癌抑制作用を含む様々な機能を有しているということが分かっている．我々の研究では，CAFs としての PSCs を標的とし，すべての CAFs が NIR-PIT によって破壊されている．今後各タイプの CAFs に特異的なマーカーが同定されれば，癌促進作用をもつ CAFs のみをターゲットにすることができ，より効果的な NIR-PIT が実現されると考えられる．

【結論】

CAFs に対する NIR-PIT と抗癌剤治療との併用療法は，より効果的で選択的な PDAC に対する抗癌治療を可能とする．