

# 骨肉腫における休眠がん細胞の同定及び当該細胞を標的とした新規抗体医薬品の開発

申請者

国立大学法人東海国立大学機構

名古屋大学大学院医学系研究科

腫瘍病理学 特任助教

江崎寛季

共同研究者

国立大学法人東海国立大学機構

名古屋大学大学院医学系研究科

腫瘍病理学 教授

榎本篤

## 1. 研究の背景・目的

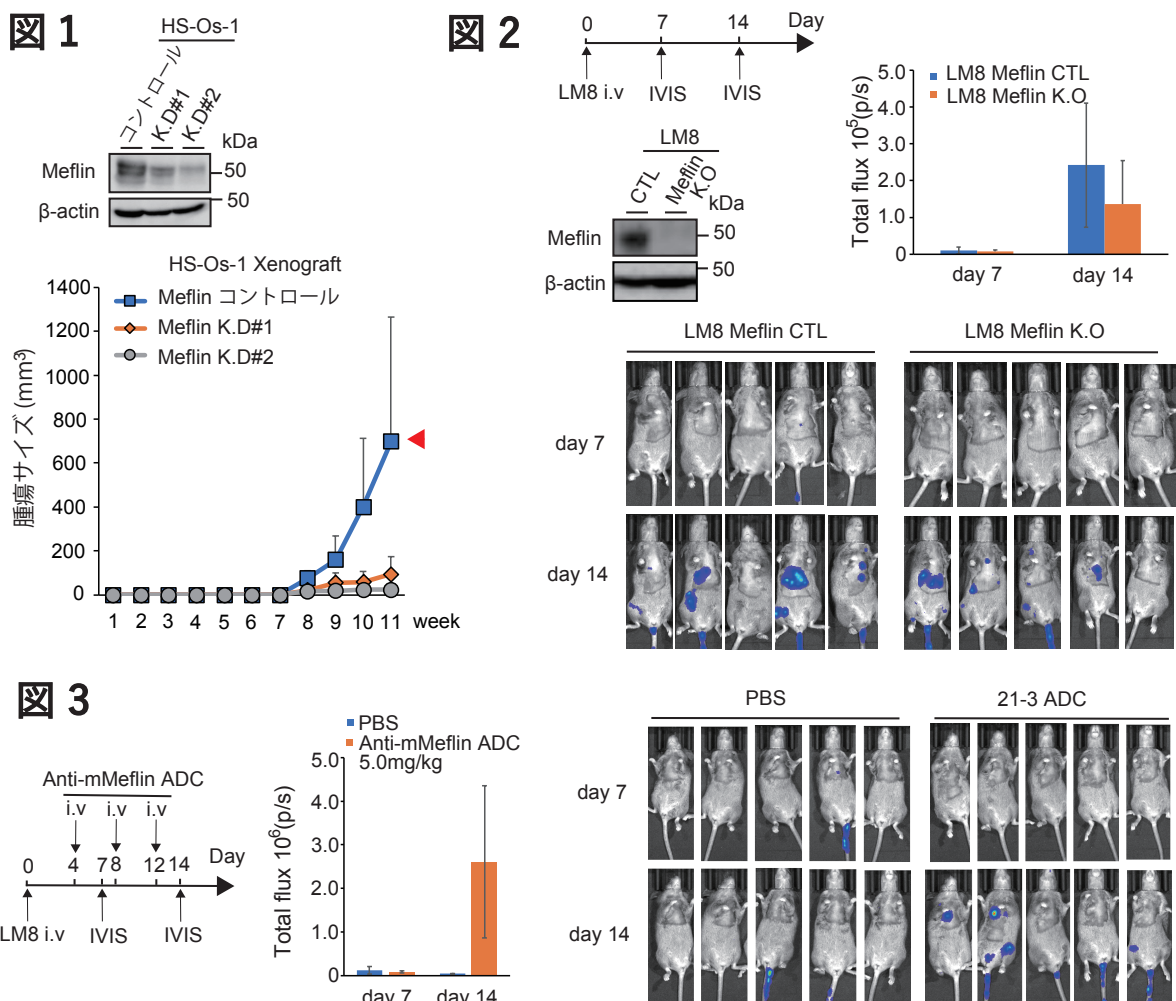
骨肉腫は、罹患者の半数が 20 歳未満と、若年者を中心に発症する悪性骨腫瘍である。原発骨肉腫に対する 1 次治療(化学療法と外科手術の組み合わせ)は確立されているものの、再発後は高頻度に治療抵抗性となることが知られている。再発骨肉腫に対する有効な 2 次治療は存在せず、再発骨肉腫患者の予後成績はこの 20 年間で改善されていない(再発骨肉腫患者 5 年生存率: 約 18%、Gelderblom et al., *Eur J Cancer*, 2011)。骨肉腫の治療抵抗性の原因の一つは、休眠がん細胞の存在であり、当細胞は再発や進行症例で大多数の腫瘍細胞を占めると考えられている。私たちは、原発骨肉腫症例で限られた腫瘍細胞亜群で、一方、再発骨肉腫症例では大多数の腫瘍細胞で GPI 型膜分子の Meflin が発現していることを確認した。これらの予備的解析により、骨肉腫における休眠がん細胞が Meflin 陽性細胞ではないかという仮説を提唱した。本研究の目的は、骨肉腫における休眠がん細胞が Meflin 陽性細胞であることを証明すること、加えて、Meflin を標的とした抗体薬物複合体 (antibody-drug conjugate、; ADC) (以下; 抗 Meflin-ADC) が、再発及び進行性骨肉腫に対して有効であることを示すことの 2 点である。

## 2. 研究の対象ならびに方法

骨肉腫における休眠がん細胞の評価方法としては、生体内におけるストレス耐性能の解析を行った。具体的には、内因性 Meflin 陽性のヒト骨肉腫細胞株 HS-0s-1 及び Meflin ノックダウン HS-0s-1 を免疫不全マウス (NOD SCID) に皮下移植し、腫瘍形成の速度について評価した (図 1)。ストレス耐性能が高いほど、腫瘍形成速度が速いと考えられている。また、肺転移能の評価については、内因性 Meflin 陽性のマウス骨肉腫高肺転移株 LM8 に対して Luciferase 遺伝子を導入した亜株に対して、さらに、CRISPR-Cas9 システムによって Meflin が欠損した株を使用した。Meflin コントロール及び Meflin 欠損株を、C3H/He マウスに尾静脈投与し、*in vivo* イメージングでそれぞれの骨肉腫高肺転移株の肺転移能を評価した (図 2)。

また、抗マウス Meflin-ADC によって、骨肉腫高肺転移株 LM8 の肺転移が抑制できるか確認した (PBS 投与群を陰性対照群とした) (図 3)。

### 3. 研究結果



まず初めに、Meflin ノックダウン HS-0s-1 を樹立した。Meflin コントロール群と比較して、Meflin ノックダウン群で腫瘍形成能（ストレス耐性能）が低下した（図 1）。Meflin コントロール及び欠損 LM8 を C3H/He マウスにそれぞれ尾静脈投与し、投与後 7、14 日に *in vivo* イメージングによって肺転移能を評価した。その結果、Meflin の発現の有無と、肺転移能に関係がないことが示唆された（図 2）。Meflin コントロール LM8 を C3H マウスに尾静脈投与し、投与後 4、8、12 日に抗マウス Meflin ADC を尾静脈投与した。その結果、予想と反して抗マウス Meflin ADC 投与群で、肺転移が亢進する傾向となった（図 3）。

#### 4. 考察

Meflin が骨肉腫細胞株におけるストレス耐性能を調節することが示唆され（図 1）、肺転移については影響がないことが分かった（図 2）。また、驚くべきことに、抗 Meflin-ADC が肺転移能を抑制するどころか、亢進する傾向が明らかとなった（図 3）。以上、図 1 の結果から、Meflin 陽性骨肉腫細胞は休眠がん細胞である可能性は示唆された。また、図 3 の結果については、抗 Meflin-ADC が肺間質の炎症を惹起してしまい、その結果、肺転移能が亢進した可能性が考えられる（Meflin は肺間質の線維芽細胞細胞に弱陽性である）。

#### 5. 文献

- Esaki N, Enomoto A, Takagishi M. The Daple-CK1 $\epsilon$  complex regulates Dvl2 phosphorylation and canonical Wnt signaling. Cellular Signaling 2020. **Biochem Biophys Res Commun** 532(3), 406-413, 2020.
- Takagishi M, Esaki N, Takahashi K. Cytoplasmic Dynein Functions in Planar Polarization of Basal Bodies within ciliated Cells. **iScience** 23(6):101213, 2020.
- Miyai Y, Esaki N, Takahashi M. Cancer-associated Fibroblasts That Restrain Cancer Progression: Hypothesis and Perspectives. **Cancer Sci**, 114(4):1047-1054, 2020.
- Esaki N, Ohkawa Y, Hashimoto N. ASC amino acid transporter 2, defined by enzyme-mediated activation of radial sources, enhances malignancy of GD2-positive small-cell lung cancer. **Cancer Sci** 109(1):141-153, 2018.

#### 6. 論文発表

なし。