

平成 30 年 4 月 24 日

## 悪性中皮腫の新たな治療法に期待 ～Connective tissue growth factor (CTGF) を分子標的 とした中皮腫治療～

名古屋大学大学院医学系研究科（研究科長：門松 健治）生体反応病理学の豊國 伸哉（とよくに しんや）教授、大原 悠紀（おおはら ゆうき）大学院生による研究チームは、connective tissue growth factor (CTGF)<sup>\*1</sup>という分泌タンパク質に結合する CTGF 特異抗体（FG-3019: pamrevlumab）<sup>\*2</sup>が、悪性中皮腫<sup>\*3</sup>の発育を抑制する可能性があることを、動物モデルにより証明しました。

悪性中皮腫（以下中皮腫）は、そのほとんどがアスベスト曝露を原因として発症すると考えられている悪性度の高い腫瘍です。潜伏期が長いことより、日本における中皮腫患者数は 2025 年にピークをむかえると予測されています。中皮腫は早期診断が難しいため、多くの場合、進行した状態で発見されます。中皮腫発症後の生存期間（生存中央値）は 10 ヶ月未満であり、非常に短いものです。化学療法には、シスプラチンやペメトレキセドといった抗がん剤が使用されますが、これらの治療薬は平均余命を数ヶ月しか延長できません。そのため、新たな治療薬の開発が課題となっています。

2014 年に本研究室は CTGF というタンパク質が、中皮腫のがんとしての性質の維持機構に関わっていることを報告しました。これまでに膵臓癌、メラノーマ<sup>\*4</sup>、卵巣癌、肺線維症、糖尿病性腎症などで CTGF が高発現することも報告されており、多彩なヒトの疾患の進行に関わっていることがわかっています。膵臓癌と肺線維症では既に CTGF に対する抗体である FG-3019 (pamrevlumab) による治療が臨床試験の第 2 段階まで進んでいます。そこで私達は、FG-3019 の中皮腫に対する効果を検証する実験を、前臨床試験として細胞培養レベル、動物レベルで実施しました。その結果、特に動物レベルで、FG-3019 は顕著に中皮腫の発育を抑制しました。顕微鏡で観察すると、FG-3019 によって中皮腫細胞やその周囲の細胞（間質細胞）の増殖抑制ならびに細胞死（アポトーシス）誘導が起こっていました。この結果より、FG-3019 は中皮腫の新たな治療薬となる可能性があると考えられました。

本研究結果は、がん科学誌である「Oncotarget」（2018 年 4 月 6 日付の電子版）に掲載されました。

## 悪性中皮腫の新たな治療法に期待

### ～Connective tissue growth factor (CTGF)を分子標的とした中皮腫治療～

#### ポイント

- 悪性中皮腫と診断された場合、その平均余命は 10 ヶ月未満と非常に短く、新たな治療薬の開発が課題となっている。
- 分泌タンパク質である connective tissue growth factor (CTGF)は、悪性中皮腫、膵臓癌、メラノーマ、卵巣癌、肺線維症、糖尿病性腎症など種々の疾患の進行に関わっている。
- CTGF 特異抗体である FG-3019 (pamrevlumab) は、動物を使用した前臨床試験で悪性中皮腫の発育を顕著に抑制した。

#### 1. 背景

悪性中皮腫（以下中皮腫）は、そのほとんどがアスベスト曝露が原因で発症すると考えられている悪性度の高い腫瘍です。中皮腫は早期診断が難しいため、多くの場合進行した状態で発見されず。中皮腫発症後の生存期間（生存中央値）は 10 ヶ月未満であり、非常に短いものです。そのため、新たな治療薬の開発が課題となっています。

本研究室は 2014 年に CTGF というタンパク質が、中皮腫のがんとしての性質の維持機構に関わっていることを報告しました。膵臓癌、メラノーマ、卵巣癌、肺線維症、糖尿病性腎症などの疾患でも CTGF の発現が高いことが報告されており、ヒトの多彩な疾患の進行に関わっています。膵臓癌と肺線維症では、既に CTGF に対する抗体である FG-3019 (pamrevlumab) によるヒト介入試験が治験第 2 段階まで進んでいます。そこで私達は、FG-3019 の中皮腫に対する効果を調べるため、前臨床試験として細胞培養レベルと動物レベルで実験を行いました。

#### 2. 研究成果

実験群として対照群 (IgG ; 効果のないことがわかっているコントロール抗体)、FG-3019 を投与した FG-3019 単独群と、IgG と抗がん剤ペメトレキセド (PEM) を併用した IgG+PEM、そして FG-3019 と PEM を併用した FG-3019+PEM の 4 群で実験を行いました。細胞培養レベルでは、まず、11 種類の異なるヒト中皮腫細胞の CTGF の発現を、正常な中皮細胞 (MeT-5A) と比較しました (図 1A、1B)。その中で CTGF を特に高く発現していた中皮腫の細胞を使用して、細胞増殖・遊走・浸潤<sup>※5</sup>、接着、アポトーシスなどの項目を解析しました。IgG 対照群と比較して FG-3019 投与群では中皮腫細胞の遊走や接着がわずかでしたが抑制されました (図 1C、1D)。

動物実験では、左胸腔内に中皮腫細胞を移植したマウスを使用しました。IgG または FG-3019 は週 2 回、PEM は週 1 回投与として、8 週間後に評価を行いました。すると、FG-3019 の投与によって腫瘍の重量の有意な減少が観察され、この効果は PEM 投与によって増強されました (図 2A、2B)。顕微鏡で観察すると、FG-3019 投与により、中皮腫細胞だけでなくその周囲の間質細胞の増殖も抑制され (図 2C、2D)、アポトーシスも誘導 (図 2E、2F) も誘導されていました。FG-3019 は中皮腫細胞の微小環境形成をも阻害することで、中皮腫の発育を抑制すると考察しました (図 3)。

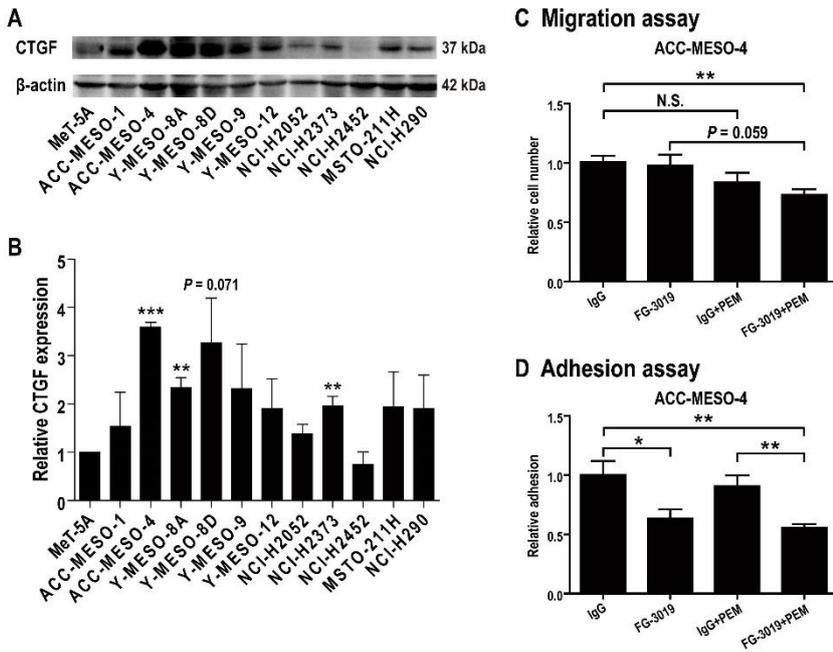


図 1. 培養細胞レベルでの実験

(A, B) ウェスタンブロットとその定量化。CTGF の発現を 11 種類のヒト中皮腫細胞で解析したところ、正常の中皮細胞 (MeT-5A) と比較して、中皮腫細胞 ACC-MESO-4 で特に高値であった。(C) 遊走実験。FG-3019 + PEM 投与群で ACC-MESO-4 の細胞遊走が抑制された。(D) 接着実験。FG-3019 は ACC-MESO-4 の細胞接着を抑制した。

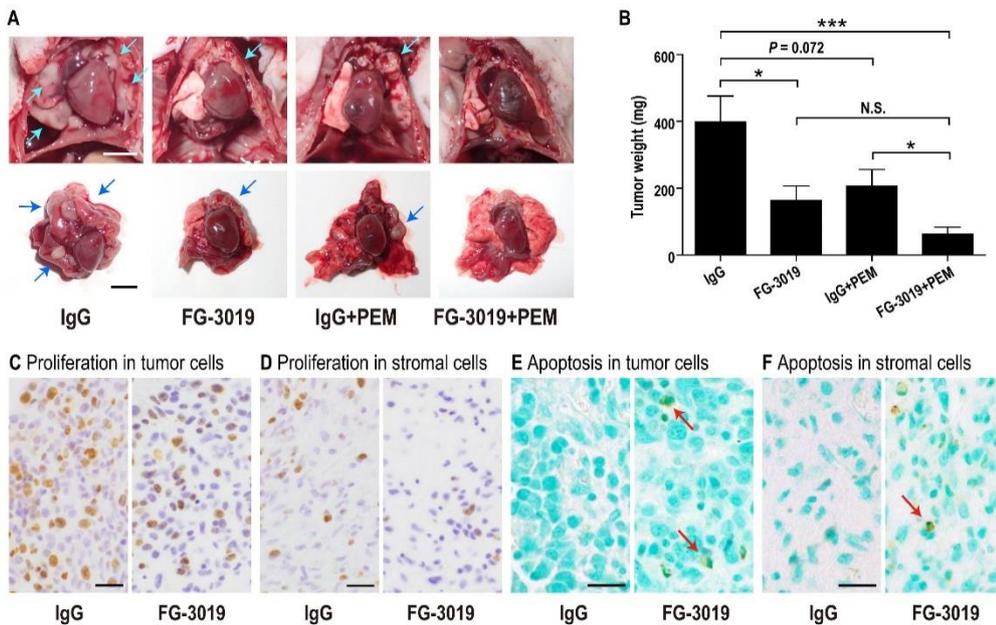


図 2. 動物レベルでの実験

(A, B) 解剖時肉眼所見と腫瘍重量の測定。FG-3019 の投与群では有意に腫瘍重量の減少がみられ、この効果は PEM 投与によって増強された。矢印は中皮腫を示す。(C, D) 組織学的増殖評価 (Ki-

67免疫染色)。増殖期にある細胞を茶色に染める Ki-67 免疫染色では、FG-3019 によって中皮腫細胞の増殖抑制 (C) だけでなく、その周囲の間質細胞<sup>※6</sup>の増殖抑制 (D) も観察された。(E、F) 組織上でのアポトーシス評価 (TUNEL 法)。TUNEL 法によってアポトーシス細胞を染色したところ、FG-3019 を投与した場合には中皮腫細胞 (E) だけでなく間質細胞のアポトーシス誘導 (F) も観察された。矢印はアポトーシスを起こした細胞を示す。

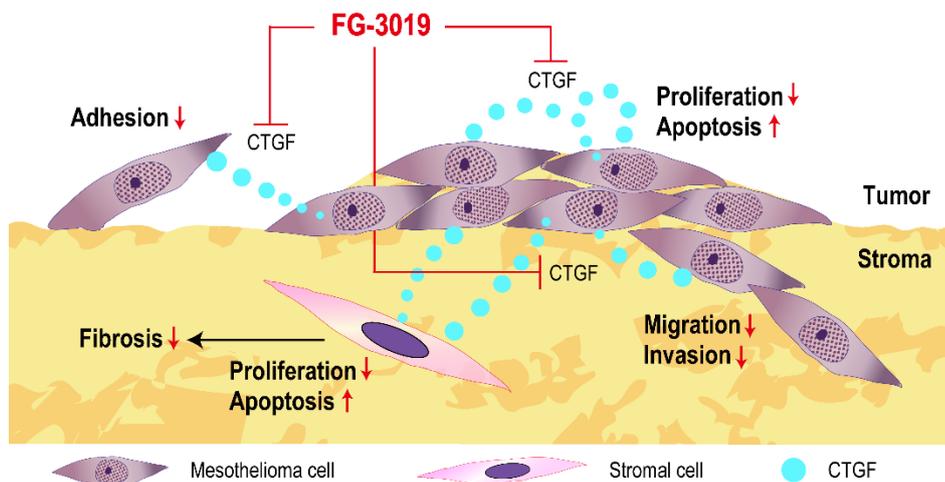


図 3. FG-3019 による中皮腫発育抑制効果のまとめ

FG-3019 は中皮腫細胞と間質細胞の両方に働きかけて、増殖抑制ならびにアポトーシス誘導の効果を示した。CTGF は中皮腫細胞だけでなく間質細胞からも分泌されており、FG-3019 はその両方の CTGF を標的としていることが示唆された。

### 3. 今後の展開

本研究成果により、FG-3019 の中皮腫に対する有効性が前臨床試験で示されました。FG-3019 は膵臓癌、肺線維症における治療で治験第 2 段階まで進んでおり、重篤な有害事象は報告されていません。したがって、中皮腫の新たな治療薬として、将来的に臨床介入治験が実施されることが期待されます。

### 4. 用語説明

1. Connective tissue growth factor (CTGF) : 結合組織成長因子 ; 膵臓癌、メラノーマ、卵巣癌、中皮腫などで発現増加がみられる分泌タンパク質です。腫瘍細胞や間質細胞から分泌されて、腫瘍が発育しやすいような環境を形成すると考えられています。  
 ※腫瘍細胞、間質細胞 : がん (悪性腫瘍) は、腫瘍細胞とその周囲に存在する細胞 (間質細胞) から構成されています。これらの細胞が互いに協調し合いながら、腫瘍は発育します。腫瘍によって形成される環境を腫瘍微小環境といいます。
2. FG-3019 (pamrevlumab) : CTGF 特異抗体であり、膵臓癌、肺線維症の治療薬として、既に治験第 2 段階まで進んでいます。治験において、重篤な有害事象は報告されていません。また、この治験の報告論文において、血中 CTGF 値が低い膵臓癌の人ほど、生存期間が長いことが示されています。
3. 悪性中皮腫 (中皮腫) : そのほとんどがアスベスト (石綿) 曝露を原因として発症する、がんの

一種です。日本においてすべてのアスベストの使用は 2006 年に禁止されましたが、アスベスト関連疾患（中皮腫、肺がんなど）はアスベスト曝露後 30-40 年を経て発生するため、「静かな時限爆弾」として恐れられています。胸膜中皮腫の発症後の生存期間（生存中央値）は 4-18 ヶ月です。

4. メラノーマ：悪性黒色腫ともよばれる皮膚のがんです。転移をしやすく、予後が悪いことが知られています。
5. 遊走・浸潤：いずれも細胞の動きを意味する用語です。通常、皮膚や粘膜の表面を覆っている健常な細胞はお互いに強く接着しており、遠くに動いていくことはありません。がん細胞では、細胞相互の接着が弱くなり、細胞分裂を起こし広がっていくのが特徴であり、この能力を遊走能・浸潤能として試験管内で評価したものです。
6. 間質細胞：生体において、皮膚や粘膜の表面を覆っている細胞はそれだけで成り立っているのではなく、間質細胞とよばれる線維芽細胞や血管の支えや裏打ちが必要です。がん細胞はこれらのがんでない細胞にも指令をだして、自らに有利になるように味方につけることが知られています。

## 5. 発表雑誌

Yuuki Ohara<sup>1</sup>, Shan Hwu Chew<sup>1</sup>, Nobuaki Misawa<sup>1</sup>, Shenqi Wang<sup>1</sup>, Daiki Somiya<sup>1</sup>, Kae Nakamura<sup>2</sup>, Hiroaki Kajiyama<sup>2</sup>, Fumitaka Kikkawa<sup>2</sup>, Yuta Tsuyuki<sup>3</sup>, Li Jiang<sup>1</sup>, Kyoko Yamashita<sup>1</sup>, Yoshitaka Sekido<sup>4</sup>, Kenneth E. Lipson<sup>5</sup>, and Shinya Toyokuni<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathology and Biological Responses, Nagoya University Graduate School of Medicine

<sup>2</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Nagoya University Graduate School of Medicine

<sup>3</sup>Department of Pathology and Laboratory Medicine, Nagoya University Graduate School of Medicine

<sup>4</sup>Division of Molecular Oncology, Aichi Cancer Center Research Institute

<sup>5</sup>FibroGen, Inc.

<sup>6</sup>Sydney Medical School, The University of Sydney

" Connective tissue growth factor-specific monoclonal antibody inhibits growth of malignant mesothelioma in an orthotopic mouse model "

Oncotarget (2018 年 4 月 6 日付けの電子版に掲載)

DOI: 10.18632/oncotarget.24892

**English ver.**

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_E/research/pdf/Oncotarget\\_20180424en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Oncotarget_20180424en.pdf)