

（様式4）

学位論文の内容の要旨

山中 崇弘 印

（学位論文のタイトル）

Nintedanib inhibits intrahepatic cholangiocarcinoma aggressiveness via suppression of cytokines extracted from activated cancer-associated fibroblasts

（ニンテダニブは、癌関連線維芽細胞が分泌するサイトカインの産生を抑制し、肝内胆管癌の進展を阻害する）

（学位論文の要旨）

1) 背景

近年、肝内胆管癌において、癌関連線維芽細胞（cancer-associated fibroblasts、CAF）が、癌の促進に関与していると報告されている。マルチキナーゼ（PDGFR、FGFR、VEGFR）阻害剤のnintedanibは、肺線維症の治療薬として臨床応用され、肝星細胞の活性化を抑制し、マウスの肝線維化を抑制したと報告された(Ozturk Akcora B, et al. Sci Rep. 7: 44545, 2017)。本研究の目的は、nintedanibを用い、CAFを標的とした肝内胆管癌の新たな治療を開発することである。

2) 方法

肝内胆管癌切除標本よりCAFを樹立した（IRB承認番号:2016-118）。樹立したCAFを用いて、肝内胆管癌細胞株（HuCCT1、RBE）の増殖や浸潤への影響を検討した。nintedanibのCAF、肝内胆管癌細胞株への効果を検討した。肝内胆管癌細胞株とCAFを用いたマウス皮下腫瘍モデルを作成し、nintedanibとgemcitabineの治療効果を検討した（動物実験承認番号:18-024）。

3) 結果

肝内胆管癌由来のCAFの培養上清（CAF-CM）にて、肝内胆管癌細胞株の増殖、浸潤が有意に促進された（ $P < 0.01$ ）。nintedanib（ $1\mu\text{M}$ ）は、CAFの αSMA の発現および増殖を抑制した（ $P < 0.01$ ）。nintedanib（ $1\mu\text{M}$ ）を投与したCAFの培養上清（nintedanib-treated CAF-CM）では、CAF-CMと比較し、肝内胆管癌細胞株の増殖・浸潤促進効果が有意に抑制された（ $P < 0.01$ ）。サイトカインアレイを用いて、CAF-CMとnintedanib-treated CAF-CMの比較を行うと、nintedanibによりIL-6、IL-8、VEGF、VCAM1、osteopontinの産生が抑制されていた。IL-6、IL-8は、ELISAも検証し、nintedanib-treated CAF-CMにおいて抑制されていた（ $P < 0.01$ ）。CAF-CMとnintedanib-treated CAF-CMによる、肝内胆管癌細胞株のSTAT3リン酸化を比較したところ、CAF-CMにおいてSTAT3のリン酸化が促進されたが、nintedanib-treated CAF-CMにおいてはリン酸化が抑制された。マウス皮下腫瘍モデルでは、nintedanib投与群では、無治療群と比較し、腫瘍増大の抑制と腫瘍内の αSMA の発現の抑制を認めたが、gemcitabineとnintedanib併用治療群では

治療開始前と比較し、腫瘍の縮小を認め、腫瘍内の α SMAの発現および癌細胞のKi67の発現を共に抑制した ($P < 0.05$)。

4) 考察

我々は、以前に肝星細胞と肝線維化に対して抑制効果を示すconophyllineが、肝癌CAFの癌細胞促進効果を抑制することを報告した (Ishii N, et al. Cancer Sci. 110(1): 334-344, 2019)。本研究では、nintedanibが肝星細胞を肝線維化の抑制効果を示すことに着目し、肝内胆管癌CAFによる癌促進効果を、nintedanibが抑制することを示した。これらより、抗線維化作用を示す薬剤が、CAFによる癌促進効果を抑制できる可能性が考えられた。

PDGF/PDGFRシグナルやFGF/FGFRシグナルは、線維芽細胞の増殖や活性化を促進すると報告されている。本研究において、PDGFR、FGFR、VEGFRのマルチキナーゼ阻害剤であるnintedanibは、CAFの増殖、 α SMAの発現を抑制しており、PDGF/PDGFRシグナルやFGF/FGFRシグナルの抑制を介していると考えられた。

本研究においてnintedanibが抑制したCAFのサイトカイン、IL-6、IL-8、VEGF、VCAM1、osteopontinは、STAT3のリン酸化の促進 (IL-6、IL-8) などを介し、それぞれ癌を促進させると報告されている。nintedanibによる、CAFの癌促進効果を抑制するメカニズムは、これらのサイトカインを抑制したためと考えられた。

本研究では、nintedanib単独の癌細胞に対する直接の抑制効果は弱かった。癌細胞に影響のない低濃度のnintedanibにおいて、CAFの増殖・ α SMAの発現・サイトカインが抑制された。In vivoの実験で示されたように、gemcitabineなどの細胞障害性の抗腫瘍薬とnintedanibを併用することで、癌細胞とCAFをそれぞれ抑制し、治療効果が上がると考えられた。

5) 結語

nintedanibは、CAFのサイトカインの産生を抑制し、CAFの癌促進効果を抑制した。In vivoにおいて、nintedanibとgemcitabineの併用治療は、CAFと癌細胞をそれぞれ抑制し、腫瘍を縮小させた。nintedanibは、CAFを標的とした肝内胆管癌の有効な治療となる可能性が示された。