

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10185

研究課題名(和文) 膵癌の転移・播種における間質細胞(線維芽細胞・膵星細胞)との関わり

研究課題名(英文) Relationship between stromal cells and pancreatic cancer cells in metastasis and dissemination

研究代表者

森山 大樹(MORIYAMA, Taiki)

九州大学・大学病院・准教授

研究者番号：70586859

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌の浸潤・転移に関して、膵星細胞はマトリックス成分をリモデリングし、Endo180の機能を介して膵臓癌の浸潤を導くことを見出した。腹膜中皮細胞が癌間質相互作用や微小環境変化により、膵癌の腹膜播種形成を促進する可能性を示した。さらに、膵星細胞の活性化にオートファジーが関与することを明らかにした。マウスモデルにおいて膵星細胞のオートファジーを抑制することで腫瘍進展・転移を抑制した。これらの結果から間質を標的とした新たな治療法の可能性を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Pancreatic stellate cells reorganize matrix components and lead pancreatic cancer invasion via the function of Endo180. Cancer-associated peritoneal mesothelial cells lead the formation of pancreatic cancer peritoneal dissemination by cancer interstitial interaction and microenvironment alteration. Furthermore, we identified autophagy was involved in the activation of pancreatic stellate cells. In the mouse model, suppression of autophagy of pancreatic stellate cells reduced tumor development and metastasis. From these results, we clarified the possibility of a new treatment targeting stroma.

研究分野：医歯薬学

キーワード：膵癌 間質細胞 膵星細胞 腹膜中皮細胞 浸潤・転移 腹膜播種 リモデリング

1. 研究開始当初の背景

膵癌は癌による死亡の第 5 位でありながら、他の消化器癌とは対照的に 30 年以上も予後改善がみられていない。膵癌の生存率に改善がみられない原因としては、発見時に多くが進行した状態であることや、有効な補助療法がほとんどなく進行が極めて速い点などが考えられる。近年の癌研究の知見では、癌細胞だけでなく周囲の微小環境や癌間質相互作用の重要性が注目されており、特に膵癌は豊富な間質構造を有しているため、その重要性は高い。しかし、膵癌の播種・転移について間質細胞の観点から検討した報告はない。

以上をふまえ、膵癌の転移・播種と間質細胞との関わりを明らかにし、そのメカニズムを解明する。さらに、膵癌の進展を促進し薬剤耐性にも関わる幹細胞としての働きを有する間質細胞集団や責任分子を同定し、その細胞集団・分子を制御することが、膵癌の進行を抑制する新たな治療法の開発につながると考え、今回、これらを研究課題とするに至った。

2. 研究の目的

膵癌は早期診断・治療が困難で、発見時にすでに高度浸潤、遠隔転移、腹膜播種を伴うことが多い。さらに、有効な薬剤が少ない上に早期に薬剤耐性となることが多い。一方、近年の癌研究の知見では、癌細胞だけでなく周囲の微小環境(ニッチ)や癌間質相互作用の重要性が注目されており、特に膵癌はとりわけ豊富な間質構造を有しているため、その重要性は高い。そこで、本研究では、膵癌自然発生マウスを用いた膵癌の転移・播種と間質細胞との関わりを明らかにし、そのメカニズムを解明する。さらに、膵癌の進展を促進し、薬剤耐性にも関わる幹細胞としての間質細胞集団や責任分子を同定し、その細胞集団・分子を制御することにより膵癌の進行を抑制するという、これまでにない画期的な治療法の開発につなげる。

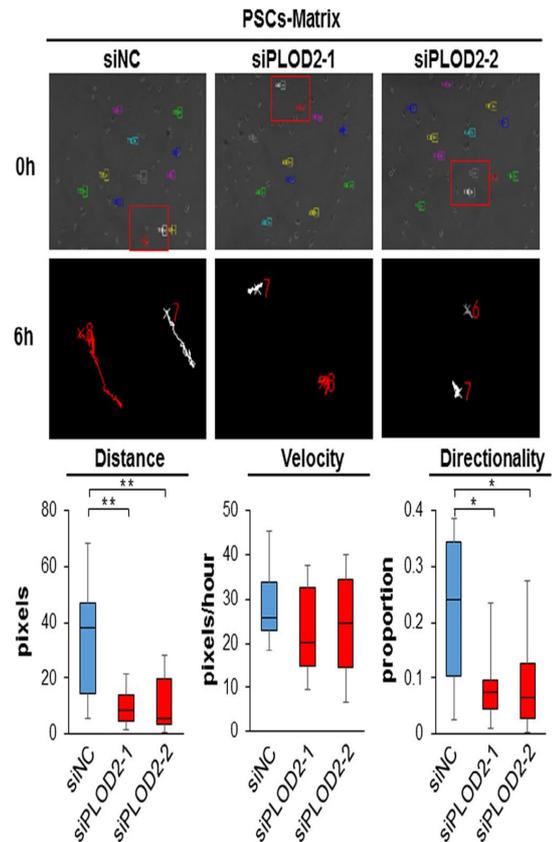
3. 研究の方法

ヒト膵癌の播種・転移巣を免疫染色し、間質の増生や活性の程度などを原発巣と比較する。さらに、膵癌自然発生マウスでも同様の検討を行い、腹膜線維芽細胞(PFs)や膵星細胞(PSCs)を樹立する。これらに加えてヒト膵癌播種巣から樹立した腹膜線維芽細胞(hPFs)も用いて、*in vitro*、*in vivo*(マウス)で膵癌細胞株との共培養、共移植による癌間質相互作用を確認する。さらに、*in vivo*で蛍光色素(GFP)をhPFsに標識させ、GFP発現分布や頻度などを詳細に検証する。また、hPFsに特徴的表面マーカー等を検討し、間葉系幹細胞(MSCs)の関与の有無も確認する。これらの結果より、hPFs・MSCsに特徴的な分子、マーカーを標的とした治療法を開発する。

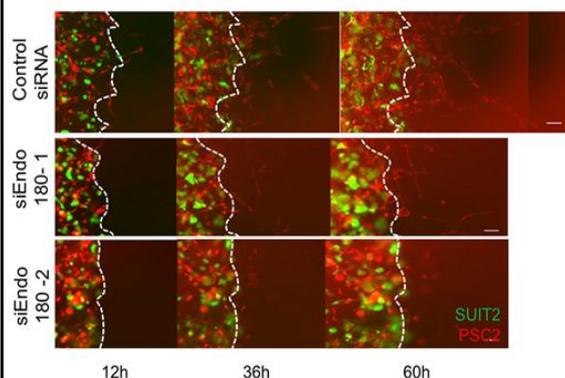
4. 研究成果

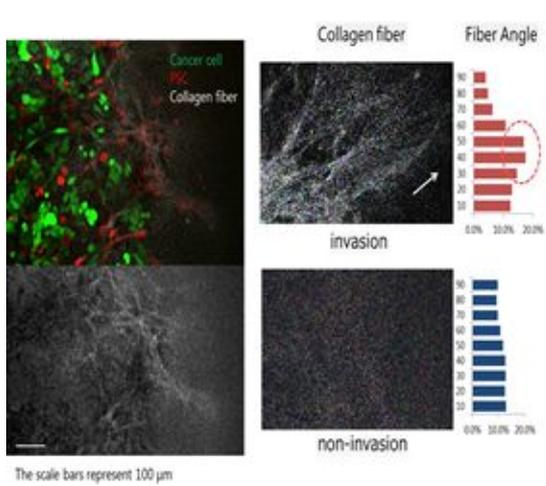
(1) 低酸素環境下における膵星細胞によって細胞外基質のリモデリングが制御される。

低酸素下で膵星細胞が作成した細胞外マトリックス上では、正常酸素下と比較して癌細胞の運動距離が増加していた。また、低酸素下において癌細胞の浸潤を導く特定の細胞集団、いわゆる leading cell として、PLOD2 発現のある膵星細胞が細胞外基質のリモデリングにより癌間質の配列を調整し、癌細胞の浸潤を誘導することを示し原著論文として発表した。

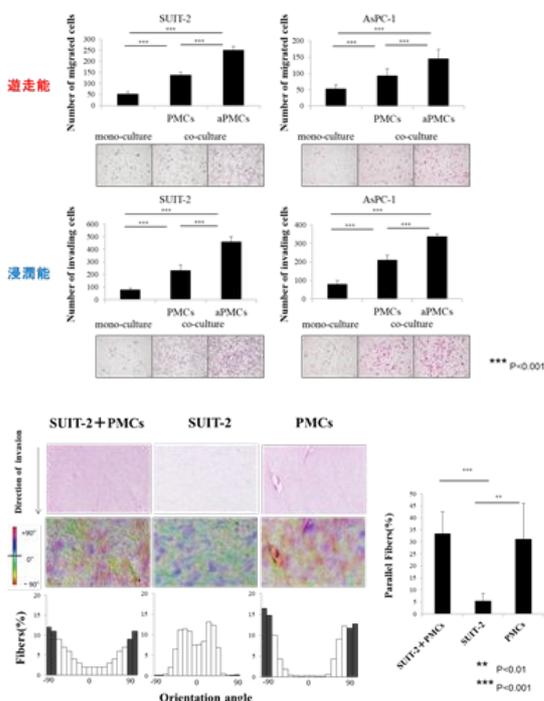


(2) 膵星細胞は細胞外基質を再構築し、Endo180 の機能を介して膵癌浸潤を誘導する。三次元培養モデルで膵癌細胞の浸潤を誘導する膵星細胞の存在をタイムラプスイメージングで明らかにした。マウスモデルにおいては、膵星細胞に発現し、そのコラーゲン取り込みに関与する Endo180 をノックダウンすることで、浸潤方向のコラーゲン線維配列が抑えられ、腫瘍進展が抑制されることを示し原著論文として発表した。

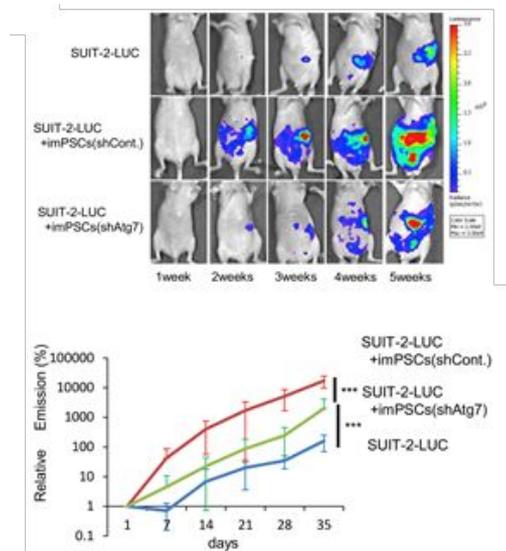




(3) 腹膜播種形成に関して、膵癌細胞 (pancreatic cancer cell; PCC) と腹膜中皮細胞 (peritoneal mesothelial cell; PMC) との相互作用を、in vitro、in vivo において検討した。In vitro では、PCC と PMC との腫瘍間質相互作用により、PCC と PMC の相互の遊走能や浸潤能が有意に促進され、また、PCC の増殖能やアノキス抵抗性も有意に促進された。3 次元培養腹膜播種モデルにおいて、PCC と PMC との共培養群では PCC 単独群と比較して有意にコラーゲンゲル内へ浸潤する細胞の増加を認めた。PMC はコラーゲンゲル内では癌細胞を先導するように浸潤し、コラーゲン線維をリモデリングすることにより、浸潤した細胞に沿って平行な線維方向を増加させた。In vivo において、PCC と PMC との腹腔内への共移植群において、PCC 単独移植群と比較して腹膜播種形成は有意に促進された。PMC が腫瘍間質相互作用に関連する増殖因子以外にも、平行線維の配向を増加させることによって PCC の方向依存性の浸潤を促進する可能性が示唆された。



(4) 膵星細胞の活性化にはオートファジーが重要であり、膵癌進展に参与する。ヒト膵癌切除組織において、膵星細胞のオートファジーは全生存期間の短縮と関連していた。In vitro において、オートファジー抑制剤であるクロロキン投与によって活性化膵星細胞は静止化へと変化し、増殖・浸潤能の低下を認めた。マウスモデルにおいては、膵星細胞のオートファジーを抑制することで腫瘍体積・肝転移数・腹膜播種数の軽減を認め、画期的な知見を見出し原著論文として発表した。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)

Koikawa K, Ohuchida K, Takesue S, Ando Y, Kibe S, Nakayama H, Endo S, Abe T, Okumura T, Horioka K, Sada M, Iwamoto C, Moriyama T, Nakata K, Miyasaka Y, Ohuchida R, Manabe T, Ohtsuka T, Nagai E, Mizumoto K, Hashizume M, Nakamura M. Pancreatic stellate cells reorganize matrix components and lead pancreatic cancer invasion via the function of Endo180. *Cancer Letters*, 14(3):3141-3147, 2018, 査読有, doi: 10.1016/j.canlet.2017.10.010

Endo S, Nakata K, Sagara A, Koikawa K, Ando Y, Kibe S, Takesue S, Nakayama H, Abe T, Okumura T, Moriyama T, Miyasaka Y, Ohuchida K, Ohtsuka T, Mizumoto K, Nakamura M. Autophagy Is Required for Activation of Pancreatic Stellate Cells, Associated With Pancreatic Cancer Progression and Promotes Growth of Pancreatic Tumors in Mice, *Gastroenterology*, 152(6):1492-1506, 2017, 査読有, doi: 10.1053/j.gastro.2017.01.010

Sada M, Ohuchida K, Horioka K, Okumura T, Moriyama T, Miyasaka Y, Ohtsuka T, Mizumoto K, Oda Y, Nakamura M, Hypoxic stellate cells of pancreatic cancer stroma regulate extracellular matrix fiber organization and cancer cell motility, *Cancer Letters*, 372(2):210-218,2016, 査読有, doi: 10.1016/j.canlet.2016.01.016
Abe T, Ohuchida K, Koikawa K, Endo S, Okumura T, Sada M, Horioka K, Zheng B, Moriyama T, Nakata K, Miyasaka Y, Manabe T, Ohtsuka T, Nagai E, Mizumoto K, Hashizume M, Nakamura M, Cancer-associated peritoneal mesothelial cells lead the formation of pancreatic cancer peritoneal dissemination, *Int J Oncol*, 50(2):457-467,2017, 査読有, doi: 10.3892/ijo.2016.3829

〔学会発表〕(計 13 件)

肥川和寛、大内田研宙、森山大樹、仲田興平、宮坂義浩、真鍋達也、大塚隆生、永井英司、水元一博、中村雅史、膵星細胞が誘導する新たな膵癌局所微小浸潤機序の解明、第 25 回日本消化器関連学会週間 第 15 回日本消化器外科学会大会、2017

肥川和寛、大内田研宙、安藤陽平、岐部晋、中山宏道、武居晋、阿部俊也、遠藤翔、奥村隆志、森山大樹、仲田興平、宮坂義浩、真鍋達也、大塚隆生、永井英司、水元一博、中村雅史、膵星細胞における Endo180 発現の意義および治療標的因子としての検討、第 48 回日本膵臓学会大会、2017

肥川和寛、大内田研宙、安藤陽平、岐部晋、中山宏道、武居晋、森山大樹、仲田興平、宮坂義浩、真鍋達也、大塚隆生、永井英司、水元一博、中村雅史、膵癌局所浸潤を先導する leading cell - 膵星細胞がつくる膵癌局所微少環境の機序解明 -、第 38 回癌免疫外科研究会、2017

Endo S, Nakata K, Ohuchida K, Ando Y, Kibe S, Takesue S, Nakayama H, Abe T, Koikawa K, Okumura T, Mizuuchi Y, Moriyama T, Miyasaka Y, Manabe T, Ohtsuka T, Nagai E, Mizumoto K, Oda Y, Nakamura M, Autophagy Drives Pancreatic Stellate Cells Activation and Promotes Pancreatic Cancer, 47th Annual Meeting of the American Pancreatic Association, 2016

Koikawa K, Ohuchida K, Sada M, Abe T, Endo S, Okumura T, Moriyama T, Nakata K, Miyasaka Y, Manabe T, Ohtsuka T, Nagai E, Mizumoto K, Nakamura M, Establishment of Pancreatic Organoid from human and murine pancreas tissue,

第 20 回国際膵臓学会、第 6 回アジアオセアニア膵臓学会、第 47 回日本膵臓学会大会、2016

Abe T, Ohuchida K, Endo S, Koikawa K, Okumura T, Sada M, Moriyama T, Nakata K, Miyasaka Y, Manabe T, Ohtsuka T, Nagai E, Mizumoto K, Nakamura M, Talin1 promotes tumor invasion in pancreatic cancer, 第 47 回日本膵臓学会大会・第 20 回国際膵臓学会、2016

肥川和寛、大内田研宙、佐田政史、真鍋達也、大塚隆生、大内田理一、植木隆、永井英司、水元一博、中村雅史、膵癌浸潤を先導する leading cell 膵星細胞の基質リモデリング機能と浸潤機序の解明、第 71 回日本消化器外科学会総会、2016

遠藤翔、仲田興平、大内田研宙、水内祐介、大塚隆生、植木隆、永井英司、水元一博、小田義直、中村雅史、膵星細胞におけるオートファジーは、膵癌の成長と転移を促進する、第 71 回日本消化器外科学会総会、2016

阿部俊也、大内田研宙、遠藤翔、肥川和寛、千々岩芳朗、吉田真樹、奥村隆志、堀岡宏平、佐田政史、大塚隆生、植木隆、永井英司、水元一博、中村雅史、膵癌腹膜播種形成を導く腹膜中皮細胞の新たな役割 - 防御から促進へ -、第 116 回日本外科学会定期学術集会、2016

遠藤翔、仲田興平、大内田研宙、阿部俊也、肥川和寛、奥村隆志、佐田政史、堀岡宏平、水内祐介、大塚隆生、植木隆、永井英司、水元一博、小田義直、中村雅史、膵癌の癌関連線維芽細胞におけるオートファジーの役割、第 116 回日本外科学会定期学術集会、2016

肥川和寛、大内田研宙、佐田政史、阿部俊也、遠藤翔、奥村隆志、吉田真樹、千々岩芳朗、堀岡宏平、森山大樹、宮坂義浩、真鍋達也、大塚隆生、大内田理一、植木隆、永井英司、水元一博、中村雅史、膵星細胞は基質リモデリングにより、leading cell として膵癌浸潤を先導する、第 116 回日本外科学会定期学術集会、2016

佐田政史、大内田研宙、阿部俊也、遠藤翔、肥川和寛、奥村隆志、千々岩芳朗、吉田真樹、堀岡宏平、森山大樹、宮坂義浩、大塚隆生、植木隆、永井英司、水元一博、小田義直、中村雅史、低酸素下膵星細胞による癌間質マトリックス・リモデリングは膵癌浸潤能を増強する、第 116 回日本外科学会定期学術集会、2016

佐田政史、大内田研宙、阿部俊也、遠藤翔、肥川和寛、奥村隆志、千々岩芳朗、吉田真樹、堀岡宏平、水内祐介、宮坂義浩、真鍋達也、大塚隆生、高畑俊一、植木隆、永井英司、水元一博、小田義直、中村雅史、田中雅夫、低酸素誘導性 LOX

による癌間質リモデリングが膵癌膵癌浸
潤能に与える影響の検討、JDDW2015 第
23 回消化器関連学会週間、2015

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森山 大樹 (MORIYAMA, Taiki)
九州大学・大学病院・准教授
研究者番号：70586859

(2) 研究分担者

藤田 逸人 (FUJITA, Hayato)
九州大学・医学研究院・助教
研究者番号：40611281

水元 一博 (MIZUMOTO, Kazuhiro)
九州大学・大学病院・准教授
研究者番号：90253418

坂井 寛 (SAKAI, Hiroshi)
九州大学・医学研究院・共同研究員
研究者番号：80611665

大内田 研宙 (OHUCHIDA, Kenoki)
九州大学・大学病院・講師
研究者番号：20452708
(2017 年度)

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()