

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08623

研究課題名(和文) 膵癌における補体C5a受容体を介した癌と間質の相互作用に関する研究

研究課題名(英文) Analysis of the interaction between pancreatic stromal cells and adenocarcinoma via complement component 5a receptor

研究代表者

高森 啓史 (TAKAMORI, Hiroshi)

熊本大学・病院・非常勤診療医師

研究者番号：90363514

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は膵星細胞(PSC;膵間質細胞の1種)と膵癌におけるC5a-C5aR機構(補体-補体受容体)を介した転移・浸潤メカニズムを解析し、これらをターゲットとした新たな膵癌治療の効果について検討すること。

ヒト膵癌組織において共焦点顕微鏡にて SMAとC5aRが発現しているPSCsの一致性を確認した。臨床病理学的にもC5aR陽性かつ SMA陽性細胞を高率に発現する膵癌症例は低率に発現する症例にくらべ予後不良であった。in vitroにおいてPSCsにC5aを加えた際、SMAの発現の増加を認めたことからC5aR陽性PSCsにおいてC5aと反応することでactivateされることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究結果により、PSCsはC5aR(補体の受容体の1つ)を発現しておりかつC5a(補体の1つ)に反応することで SMAを発現させることから、PSCsは補体系カスケードにより活性化させることが分かった。補体により活性化したPSCsが膵癌細胞の浸潤転移を促進させる結果およびメカニズムまでは今回の研究においては見いだせなかった。しかし今回補体系をブロックすることでPSCの活性化を抑制し、膵癌の進展を抑える可能性があることが見いだされたため、今後、膵癌に対する新たな分子標的治療法の開発につながる可能性が示唆される結果となった。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to analyze pancreatic cancer - tumor stromal cells interaction via C5a- C5a receptor axis and establish a targeted therapy using this mechanism. In fact, tumor stromal cells of the pancreas expressed both C5a receptor and alpha-SMA in human pancreatic cancer tissues. The overall survival rate of the patients who highly expressed both C5aR and alpha-SMA were significantly worse than that of the patients who less expressed. In vitro, C5a enhanced alpha-SMA expression in pancreatic stromal cells, which was suggested that pancreatic stromal cells could be activated via C5a-C5a receptor axis.

研究分野：消化器外科、膵癌治療、癌のベーシックサイエンス

キーワード：補体C5a C5a受容体 癌間質細胞 膵星細胞 癌浸潤 癌転移

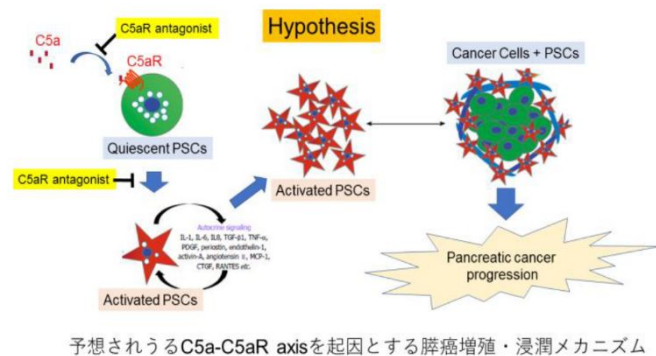
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

補体C5aは最も強力なchemoattractantであり体内での炎症反応を誘導する因子として非常に重要である。近年、C5aおよびその受容体であるC5areceptor(C5aR)は細菌感染以外にも関節リウマチ、敗血症、肺炎、動脈硬化、白血病を増悪させる因子として注目されている。われわれは世界で初めてC5aRがヒトの固形癌にも発現することを明らかにした。さらにC5aRは胆管癌・胃癌・子宮癌等の固形癌の浸潤・転移を促進させる。また膵星細胞 (Pancreatic stellate cells;PSCs) は活性化すると膵線維化や膵癌の浸潤・転移を誘導する重要な細胞であるが、近年PSCsはC5aRを発現しており、C5a刺激によりPSCsが活性化することが明らかとなった。以上よりPSCsにおけるC5aRはC5aと反応することにより癌細胞の浸潤・転移に重要な働きを有している可能性がある。本研究ではPSCsにおけるC5aRを介した癌の進展について検討し、C5aRを標的とした膵癌治療法を確立することが更なる癌治療の成績向上に役立つかを検討する。

2. 研究の目的

本研究の目的は、PSCに着目してこれら間質細胞と膵癌におけるC5a-C5aR機構を介した転移・浸潤メカニズムを解析し、tumor-stromal interactionにおけるC5aRの役割について解析する。さらに臨床応用を目指しこれらをターゲットとした新たな膵癌治療の効果について検討する。



3. 研究の方法

(1) ヒト膵癌組織においてPSCsがC5aRを発現しているか？

ヒト膵癌組織を用いてC5aR抗体および SMA抗体を用いて蛍光二重免疫染色を行いPSCsのC5aR発現を確認する。同時に共焦点顕微鏡にて SMAとC5aRが発現しているPSCsの一致性を確認する。さらにPSCsにおけるC5aR発現が腫瘍径、分化度、ステージ、腫瘍マーカーなどの臨床病理学的因子および予後とどのような関連性を持つか検討する。

(2) C5aRを介したPSC活性化が膵癌細胞に与える影響

次に、in vitroにおけるPSCsのC5aR発現を確認し、膵癌細胞に与える影響を検討する。具体的にはPSCsのC5aR発現をWestern Blotting、Flow cytometryを用いて解析する。それらPSCsにC5aを加えた際の SMA発現や細胞形態変化などのphenotypeの変化を評価する。さらにC5aRの発現のない膵癌細胞の増殖や浸潤にどのように影響するかをC5aで刺激したPSCsと共培養し膵癌細胞をgrowth assay、invasion assayを用いて評価する。またヒトC5aR antagonistであるPMX53は関節リウマチの新しい標的薬として臨床試験に用いられている。間質細胞のC5aRをターゲットとした新しい癌治療効果の有用性を示すため、PMX-53によるC5aRを介した間質 - 癌細胞の相互作用の抑制効果が増殖・浸潤抑制効果に寄与するか否かも検討する。さらに間質 - 癌細胞の相互作用のメカニズムを解析するため、cytokine arrayを用いてC5aR発現のある間質細胞にC5aで刺激した際のcytokineの発現を解析する。

(3) In vivoによる検証

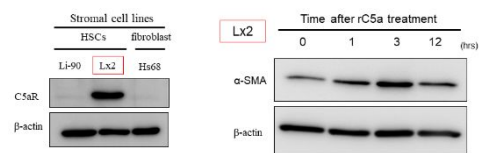
最後に膵癌発癌モデルマウス (LSLKras G12D/+; LSL-Trp53R172H/+; Pdx-1-Cre; KPCマウス) を用いたin vivoの解析を行う。KPCマウスをPMX-53投与群、非投与群に振り分け、腫瘍径を3D超音波にて計測する。さらに膵外転移の有無、生存を観察する。またジェムザールに対する上乗せ効果についても検討する。

4. 研究成果

(1) ヒト膵癌組織を用いてC5aR抗体および SMA抗体を用いて蛍光二重染色を用いた結果、PSCsがC5aRを発現していることが確認できた。かつ共焦点顕微鏡においても SMA陽性PSCsがC5aRを発現していることが確認できた。また臨床病理学的にもC5aR陽性かつ SMA陽性細胞を高率に発現する膵癌症例は低率に発現する症例にくらべ癌の進行度が高く、予後不良であることがわかった

(2) in vitroにおいてPSCs細胞株を用いてRT-PCRおよびWestern blottingを行いC5aRの発現を確認できた。PSCsにC5aを加えた際、SMAの発現の増加を認めたことからC5aR陽性PSCsにおいてC5aと反応することでactivateされることが示唆された。

Change of α SMA-expression after rC5a treatment



(3) C5aで刺激したPSCsと膵癌細胞株を共培養し各assayを行ったが、その癌細胞の浸潤・増殖を促進させる結果にまでは至らなかった。現在、さまざまな条件下 (IL-1、IL-6、TGF- など種々のサイトカイン刺激によりPSCsがC5aRをより発現しやすい状態) でのC5aの癌細胞増殖促進、浸潤促進効果について解析を行っている。

(4) (3) のin vitroの結果においてC5aがPSCsをactivateさせることで癌の浸潤増殖を促進させる効果を認めた場合、膵癌発癌モデルマウス (LSLKras G12D/+; LSL-Trp53R172H/+; Pdx-1-Cre; KPCマウス) を用いたin vivoの解析を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Hayashi Hiromitsu, Yamashita Yo-ichi, Okabe Hirohisa, Imai Katsunori, Higashi Takaaki, Yamamura Kensuke, Chikamoto Akira, Beppu Toru, Takamori Hiroshi, Baba Hideo	4. 巻 15
2. 論文標題 Varied application of intercostal trans-diaphragmatic ports for laparoscopic hepatectomy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0234919
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0234919	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ogawa Katsuhiko, Nitta Hidetoshi, Masuda Toshiro, Matsumoto Katsutaka, Okino Tetsuya, Miyamoto Yuji, Baba Hideo, Takamori Hiroshi	4. 巻 8
2. 論文標題 Efficacy of delayed primary closure with intrawound continuous negative pressure and irrigation treatment after surgery for colorectal perforation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acute Medicine & Surgery	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ams2.633	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Masuda Toshiro, Harada Kazuto, Shimizu Kenji, Karashima Ryuichi, Nitta Hidetoshi, Matsumoto Katsutaka, Okino Tetsuya, Kamio Takihiko, Baba Hideo, Takamori Hiroshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Rupture of a huge infectious abdominal chronic expanding hematoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12328-021-01366-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Okabe Hirohisa, Hayashi Hiromitsu, Higashi Takaaki, Nitta Hidetoshi, Ikuta Yoshiaki, Yusa Toshihiko, Takeyama Hideaki, Ogawa Katsuhiko, Ozaki Nobuyuki, Akahoshi Shinichi, Ogata Kenichi, Osaki Takayuki, Baba Hideo, Takamori Hiroshi	4. 巻 6
2. 論文標題 Frailty Predicts Severe Postoperative Complication after Elective Hepatic Resection	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Gastrointestinal Tumors	6. 最初と最後の頁 28 ~ 35
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000500086	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ozaki Kentaro, Hayashi Hiromitsu, Ikuta Yoshiaki, Masuda Toshiro, Akaboshi Shinichi, Ogata Kenichi, Matumoto Katsutaka, Ogawa Katsuhiko, Kamio Takihiro, Baba Hideo, Takamori Hiroshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Conversion surgery for initially unresectable pancreatic ductal adenocarcinoma with synchronous liver metastasis after treatment with FOLFIRINOX	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 603 ~ 608
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12328-019-00965-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koga Y, Iwatsuki M, Yamashita K, Kiyozumi Y, Kurashige J, Masuda T, Eto K, Iwagami S, Harada K, Ishimoto T, Baba Y, Yoshida N, Miyanari N, Takamori H, Ajani JA, Baba H	4. 巻 22(6)
2. 論文標題 The role of FBXW7, a cell-cycle regulator, as a predictive marker of recurrence of gastrointestinal stromal tumors.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Gastric Cancer	6. 最初と最後の頁 1100 ~ 1108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10120-019-00950-y	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okabe Hirohisa, Ohsaki Takayuki, Ogawa Katsuhiko, Ozaki Nobuyuki, Hayashi Hiromitsu, Akahoshi Shinichi, Ikuta Yoshiaki, Ogata Kenichi, Baba Hideo, Takamori Hiroshi	4. 巻 217
2. 論文標題 Frailty predicts severe postoperative complications after elective colorectal surgery	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The American Journal of Surgery	6. 最初と最後の頁 677 ~ 681
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.amjsurg.2018.07.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayashi Hiromitsu, Ozaki Nobuyuki, Ogawa Katsuhiko, Ikuta Yoshiaki, Tanaka Hideyuki, Ogata Kenichi, Doi Koichi, Takamori Hiroshi	4. 巻 48
2. 論文標題 Assessing the economic advantage of laparoscopic vs. open approaches for colorectal cancer by a propensity score matching analysis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 439 ~ 448
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-017-1606-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Shinjiro Tomiyasu, Akira Tsuji, Kunitaka Kuramoto, Hiroki Sugita, Hiroshi Takamori, Masahiko Hirota, Yukihiro Inomata, Hideo Baba
2. 発表標題 Necessity of postoperative adjuvant chemotherapy in ampullary cancer from prognostic and recurrence factors.
3. 学会等名 The 31th Meeting of Japanese Society of Hepato-Biliary Pancreatic Surgery
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hidetoshi Nitta, Kazuki Matsumura, Takaaki Higashi, Toshiro Masuda, Shinichi Akahoshi, Yoshiaki Ikuta, Hiroshi Takamori
2. 発表標題 Predictive model for pleural effusion required drainage after hepatic resection Predictive model for pleural effusion required drainage after hepatic resection.
3. 学会等名 The 31th Meeting of Japanese Society of Hepato-Biliary Pancreatic Surgery
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshiaki Ikuta, Takaaki Higashi, Nitta Hidetoshi, Shinichi Akahoshi, Toshiro Masuda, Hiroshi Takamori
2. 発表標題 Clinical impact of pancreaticoduodenectomy with previous history of upper abdominal surgery
3. 学会等名 The 31th Meeting of Japanese Society of Hepato-Biliary Pancreatic Surgery
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Toshiro Masuda, Kazuki Matsumura, Takaaki Higashi, Kenji Shimizu, Katsuhiro Ogawa, Hidetoshi Nitta, Shinichi Akahoshi, Katsutaka Matsumoto, Yoshiaki Ikuta, Tetsuya Okino, Hiroshi Takamori
2. 発表標題 Endoscopic Retrograde and Percutaneous Transhepatic Gall Bladder Drainage Followed by Cholecystectomy for Acute Cholecystitis
3. 学会等名 The 31th Meeting of Japanese Society of Hepato-Biliary Pancreatic Surgery
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 Takanobu Yamao, Yo-ichi Yamashita, Kiyoshi Kaziyama, Tomoharu Yoshizumi, Kengo Fukuzawa, Keishi Sugimachi, Yasuharu Ikeda, Hiroshi Takamori, Masahiko Hirota, Nobutomo Miyanari, Shinichi Aishima, Hideo Baba
2 . 発表標題 Clinical significance of caveolin-1 expression in cancer-associated fibroblasts in patients with intrahepatic cholangiocarcinoma following hepatectomy.
3 . 学会等名 The 31th Meeting of Japanese Society of Hepato-Biliary Pancreatic Surgery
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Toshiro Masuda, Kenichi Ogata, Taishi Yamane, Hideaki Takeyama, Katsuhiro Ogawa, Hiromitsu Hayashi, Shinichi Akahoshi, Katsutaka Matsumoto, Yoshiaki Ikuta, Hiroshi Takamori.
2 . 発表標題 Endoscopic Retrograde Gall Bladder Drainage followed by cholecystectomy for acute cholecystitis with more than 72 hours after its onset
3 . 学会等名 The 30th Meeting of Japanese Society of Hepato-Biliary Pancreatic Surgery.
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Kentaro Ozaki, Hiromitsu Hayashi, Yoshiaki Ikuta, Shinichi Akahoshi, Kenichi Ogata, Katsutaka Matsumoto, Toshiro Masuda, Katsuhiro Ogawa, Hideaki Takeyama, Taishi Yamane, Hiroshi Takamori.
2 . 発表標題 Conversion surgery after 21 courses of FOLFIRINOX in a patient with metastatic pancreatic cancer (UR-M): report of a case.
3 . 学会等名 The 30th Meeting of Japanese Society of Hepato-Biliary Pancreatic Surgery.
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Hiromitsu Hayashi, Yoshiaki Ikuta, Toshiro Masuda, Kenichi Ogata, Katsutaka Matsumoto, Shinichi Akaboshi, Katsuhiro Ogawa, Hideaki Takeyama, Taishi Yamane, Hiroshi Takamori.
2 . 発表標題 A benefit of laparoscopic approach in hepatic posterior sectionectomy.
3 . 学会等名 The 30th Meeting of Japanese Society of Hepato-Biliary Pancreatic Surgery.
4 . 発表年 2018年

1. 発表者名 Hidetoshi Nitta, Toshihiko Yusa, Yosuke Nakao, Rumi Itoyama, Yuki Kitano, Shigeki Nakagawa, Hirohisa Okabe, Katsunori Imai, Yo-ichi Yamashita, Akira Chikamoto, Hideo Baba.
2. 発表標題 Assessment and validation of functional liver resection rate considering venous occlusive area after extended hepatectomy.
3. 学会等名 The 30th Meeting of Japanese Society of Hepato-Biliary Pancreatic Surgery.
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	今井 克憲 (IMAI Katsunori) (60555746)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・助教 (17401)	
研究分担者	岡部 弘尚 (OKABE Hirohisa) (40573621)	熊本大学・病院・非常勤診療医師 (17401)	
研究分担者	橋本 大輔 (HASHIMOTO Daisuke) (80508507)	熊本大学・病院・非常勤診療医師 (17401)	
研究分担者	新田 英利 (NITTA Hidetoshi) (90555749)	熊本大学・病院・非常勤診療医師 (17401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------