

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K08695

研究課題名(和文) 膵癌克服をめざした細胞間質制御による膵星細胞不活化法の確立

研究課題名(英文) Establishment of Pancreatic Stellate Cell Inactivation by Cell Stromal Regulation to Conquer Pancreatic Cancer

研究代表者

石戸 圭之輔 (Ishido, Keinosuke)

弘前大学・医学研究科・准教授

研究者番号：00436023

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、膵癌細胞間質制御による膵癌治療モデルの確立を目的としていました。これまで以下の4点の実験を行いました。膵癌化学療法剤であるgemcitabineとnab-paclitaxel (GnP)の抗腫瘍効果に関する実験、GnPが与える膵癌間質の癌関連線維芽細胞(CAF)への影響に関する実験、GnP投与期間とCAF抑制率との相関実験、膵癌間質のリンパ球分布に与えるGnPの影響に関する実験。以上より、GnPは膵癌間質のCAFを制御し間質を疎にすることで、間質への細胞障害性リンパ球を効率的に誘導し、さらに制御性リンパ球による腫瘍細胞障害が抑制されるという仮説を支持する成果を得ました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵癌の5年生存率は5%程度とされ、難治性癌の一つとされています。膵癌が難治性である理由の一つに、膵癌細胞間質の厚い線維性組織であるdesmoplasiaがあげられます。Desmoplasiaは、膵癌の悪性度を担っているとされ、膵癌の新たな治療ターゲットとして注目されています。今回の成果は、この間質desmoplasiaを攻略する糸口を明らかにしたこと、および膵癌に対する新たな治療開発のきっかけとなり得る点において、学術的意義を持つと思われます。また、難治性膵癌の克服を一刻も早く達成しなくてはならない現代社会において、この成果は大きな社会的意義を持つとも思われました。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to establish a model for the treatment of pancreatic cancer through the regulation of pancreatic cancer cell stroma. The following four experiments have been conducted so far. (1) Experiments on the antitumor effects of gemcitabine and nab-paclitaxel (GnP), pancreatic cancer chemotherapeutic agents; (2) Experiments on the effects of GnP on cancer-associated fibroblasts (CAF) in the pancreatic cancer stroma; (3) Correlation between the duration of GnP administration and CAF suppression rate; (4) Experiments on the effects of GnP on the lymphocyte distribution in the pancreatic cancer stroma. (4) Experiments on the effect of GnP on lymphocyte distribution in the pancreatic cancer stroma. These results support the hypothesis that GnP efficiently induces cytotoxic lymphocytes into the stroma by regulating CAFs in the pancreatic cancer stroma and making the stroma sparse, and that tumor cell damage by regulatory lymphocytes is further suppressed.

研究分野：消化器外科学

キーワード：膵癌 間質制御

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

難治性癌の一つである膵癌は一刻も早く克服されるべき癌種である。膵癌の5年生存率は5%程度とされ、これまで膵臓癌に対してさまざまな研究がなされ、研究成果から新規抗癌薬や分子標的治療薬が開発・応用されてきた。しかし同療法の生存期間延長効果は決して満足できるものではなく膵癌増殖機序の解明は急務と考えられる。

膵癌が難治性である理由の一つに、膵癌細胞間質の厚い線維性組織である desmoplasia があげられる。Desmoplasia は、膵癌の悪性度を担っているとされ、膵癌細胞の浸潤や転移をきたすための有益な環境としての間質を作り出している可能性が示唆されている。また、この厚い間質は免疫細胞や抗腫瘍薬の膵癌細胞への浸透をさまたげるバリアの役割も担っており、膵癌治療の第一歩目として克服しなくてはならない壁である。

### 2. 研究の目的

本研究では、desmoplasia の構成要素の重要な成分である膵星細胞が産生する癌関連維芽細胞 (CAF) に着目し、膵癌 desmoplasia が悪性度を担うメカニズムを明らかにし、膵癌細胞間質制御による膵癌治療モデルの確立を目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究は、以下の4つの方法で行った。

病理標本を用いて、膵癌の間質制御効果を持つと報告されている化学療法剤である gemcitabine + nab-paclitaxel (GnP) を投与された後に切除に至った群と、これまで膵癌治療に多く使用されている化学療法剤である gemcitabine + S-1 (GS) を投与された後に切除に至った群とで、臨床腫瘍学的な比較を行う。

膵癌間質変化の検討で、CAF に対するマーカーである  $\alpha$ SMA を用いた免疫組織染色を行い、GnP 群と GS 群との CAF 発現レベルの比較を行う。

膵癌間質における GnP の CAF への影響および効果を調べるため、GnP 投与期間と  $\alpha$ SMA 抑制率との相関を統計学的に検討する。

膵癌間質に存在するリンパ球分布を CD4 抗体、CD8 抗体、CD163 抗体、FoxP3 抗体、および PD-L1 抗体を用いて免疫組織染色を行う。さらに、GnP 群と GS 群に分けて、リンパ球分布の比較を行い、両群での免疫学的環境の差異について検討する。

### 4. 研究成果

本研究で得られた成果は下記のとおりである。

膵癌の間質制御効果を持つと報告されている化学療法剤である gemcitabine と nab-paclitaxel (GnP 療法) をこれまで多く使用されている gemcitabine 及び S-1 (GS 療法) を用いた化学療法と比較した。その結果、GnP を用いて切除に至った膵癌症例は GS 療法群に比べて、有意に腫瘍縮小効果及び腫瘍マーカー (CA19-9) の減少効果を認め、GnP の明らかな腫瘍縮小効果を認めた。

膵癌間質変化の検討で、GnP 群はその他の群に比べて間質の CAF が有意に減少していた。さらに、GnP 療法群は活性化膵星細胞のマーカーである  $\alpha$ SMA を用いた免疫染色を行い、化学

療法を行っていない症例及び GS 療法を行った後に切除に至った症例に比べて、有意に CAF が減少していることが確かめられた。

膵癌間質における GnP の CAF への影響を調べるため、GnP 投与期間と SMA 抑制率との相関を調べた。その結果、GnP の投与期間が長いほど CAF が抑制されている結果が得られ、GnP 投与期間と SMA 抑制率の間には相関があることが明らかになった ( $R^2 = 0.3095$ )

膵癌間質に存在するリンパ球分布の検討において、GnP 群 では、細胞障害性リンパ球のマーカである CD8 が有意に増加しているのに対し、制御性リンパ球のマーカである CD163 および FoxP3 が有意に低下していた。

これらの結果より、膵癌間質の CAF を制御し間質を疎にすることで、間質への細胞障害性リンパ球を効率的に誘導し、さらに制御性リンパ球による腫瘍細胞障害が抑制されるという結論が得られた。今回の成果は、膵星細胞が産生する CAF をコントロールして間質制御を得るといふ膵癌治療モデルの確立に向けた大きな一歩となると思われた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Keinosuke Ishido 1, Kenichi Hakamada, Norihisa Kimura, Takuya Miura, Taiichi Wakiya	4. 巻 5
2. 論文標題 Essential updates 2018/2019: Current topics in the surgical treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ann Gastroenterol Surg	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/ags3.12379	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 Keinosuke Ishido, Norihisa Kimura, Taiichi Wakiya, Hayato Nagase, Yutaro Hara, Taishu Kanda, Hiroaki Fujita, Kenichi Hakamada	4. 巻 29
2. 論文標題 Development of a Biomarker-Based Scoring System Predicting Early Recurrence of Resectable Pancreatic Duct Adenocarcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ann Surg Oncol	6. 最初と最後の頁 1281-1293
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1245/s10434-021-10866-6	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Keinosuke Ishido
2. 発表標題 Effect of preoperative nab-paclitaxel and gemcitabine on pancreatic cancer stroma
3. 学会等名 50th American Pancreatic Association（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Keinosuke Ishido
2. 発表標題 Impact of chemotherapy with gemcitabine and nab-paclitaxel in conversion surgery for UR-LA pancreatic cancer
3. 学会等名 第31回肝胆膵外科学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石戸圭之輔、工藤大輔、木村憲央、脇屋太一、櫻庭真悟、内田知顕、袴田健一
2. 発表標題 HISTOPATHOLOGICAL IMPACT IN PANCREATIC CANCER STROMA INDUCED BY NAB-PACLITAXEL
3. 学会等名 13th IHPBA World Congress (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石戸圭之輔、工藤大輔、木村憲央、脇屋太一、袴田健一
2. 発表標題 HISTOPATHOLOGICAL IMPACT IN PANCREATIC CANCER STROMA INDUCED BY NAB-PACLITAXEL
3. 学会等名 49th American Pancreatic Association (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石戸圭之輔、工藤大輔、木村憲央、脇屋太一、櫻庭真悟、袴田健一
2. 発表標題 切除不能局所進行膵癌におけるConversion surgeryをゴールとした治療戦略
3. 学会等名 第118回日本外科学会
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	工藤 大輔  (Kudo Daisuke)  (00587024)	弘前大学・医学研究科・客員研究員   (11101)	

## 6. 研究組織（つづき）

	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	袴田 健一  (Hakamada Kenichi)  (30271802)	弘前大学・医学研究科・教授    (11101)	
研究分担者	脇屋 太一  (Wakiya Taiichi)  (50571246)	弘前大学・医学部附属病院・講師    (11101)	
研究分担者	木村 憲央  (Kimura Norihisa)  (60436029)	弘前大学・医学研究科・講師    (11101)	
研究分担者	柿崎 育子  (Kakizaki Ikuko)  (80302024)	弘前大学・医学研究科・准教授    (11101)	

## 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