

令和 3 年 5 月 17 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15255

研究課題名(和文) がん関連線維芽細胞を通じたPGD2による肺がん微小環境制御機構の解明

研究課題名(英文) Role of prostaglandin D2 on lung cancer microenvironment through cancer-assisted fibroblasts

研究代表者

綾部 信哉 (Ayabe, Shinya)

国立研究開発法人理化学研究所・バイオリソース研究センター・専任研究員

研究者番号：10633563

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：がん細胞の周囲には線維芽細胞、免疫炎症細胞、血管構成細胞などのがん間質細胞が動員される。がん関連線維芽細胞におけるプロスタグランジン類の情報伝達およびがん細胞との相互作用における作用機序を明らかにすることを通して、微小環境を標的とした新たながん治療法を開発することを目的とした。PGD2ならびにPGE2は肺のがん細胞とがん関連線維芽細胞の双方を活性化することが明らかとなり、両者の細胞間においてもがん促進傾向に作用することが示唆された。その一方でマウスにおける検討では逆の傾向となり、発がんは抑制された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん間質細胞はがん細胞の増殖・浸潤・転移といった悪性像に関与することから、がん細胞を標的とする治療法のみならず、がん細胞周囲の間質細胞をも標的とした治療法が検討されている。治療抵抗性に関わる因子として、がん関連線維芽細胞が産生するプロスタグランジン類を含めた液性因子を介した作用などが挙げられ、これらの作用を標的とした治療戦略の開発が急がれている。今後さらに多くの細胞種へ研究対象を広げることにより、肺がん微小環境におけるプロスタグランジン類の作用の全体像を把握できると考えている。

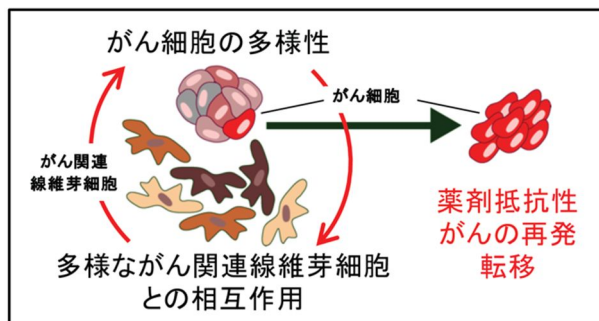
研究成果の概要(英文)：Cancer stromal cells such as fibroblasts, inflammatory cells, and vascular cells are mobilized around the cancer cells. The aim of the project was to develop a novel approach for cancer therapy targeting cancer microenvironment by clarifying the signaling of prostaglandins in cancer-associated fibroblasts and their interaction with cancer cells. Prostaglandin D2 and E2 activated both cancer cells and cancer-associated fibroblasts in the lung, and they were also cancer-promotive in co-culture models. On the other hand, carcinogenesis was suppressed in mouse model showing that PGD2 had inhibitory effect in vivo.

研究分野：獣医学

キーワード：がん 線維芽細胞 肺がん サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

肺がんは日本におけるがん部位別死亡の第1位である。分子生物学的技術やモデル動物、がん患者に由来するサンプルなどを用いた研究の発展に伴って、がん化に直接関与する責任分子が数多く同定され、それらを標的とした治療薬の開発が治療成績向上へ展開されてきた。その一方で、こうした分子標的薬に治療抵抗性を示すがん細胞が残存することががんの完治を妨げており、肺がん死亡者数の増加を食い止めることができていない。がん分子標的薬への治療抵抗性にはがん細胞の多様化に加えて、腫瘍組織内の細胞間相互作用を起点とした多様な微小環境による影響が関与しており、がん微小環境の多様性のがん細胞の多様性をも生み出すことが示唆されている。



がん細胞の周囲には線維芽細胞、免疫炎症細胞、血管構成細胞などのがん間質細胞が動員される。日本において原発性肺がんの約40%を占める肺腺がんでは、スキルス胃がんや膵がんと同様にがん間質細胞の占める割合が多いことが知られている。がん間質細胞はがん細胞の増殖・浸潤・転移といった悪性像に関与することから、がん細胞を標的とする治療法のみならず、がん細胞周囲の間質細胞をも標的とした治療法が検討されている。

線維芽細胞はがん組織を満たす主要な細胞であり、がん関連線維芽細胞 (cancer-associated fibroblasts: CAFs) と呼ばれている。治療抵抗性に関わる因子として、CAFs が産生するプロスタグランジン類を含めた液性因子を介した作用、がん細胞との直接接触を介した作用、細胞外マトリックスの産生・分解を介した作用などが挙げられ、これらの作用を標的とした治療戦略の開発が急がれている。

2. 研究の目的

複数の組織に由来する線維芽細胞・筋線維芽細胞を用いて得られたこれまでの成果をもとに、プロスタグランジン (PG) D_2 は肺の CAFs においても活性を制御しており、がん微小環境において CAFs の PGD_2 シグナルを調節すればがん細胞の増殖・浸潤・転移といった悪性像を制御できるという仮説を立てた。また、遺伝子改変発がんモデルを用いて肺がんの発がん・進展過程での CAFs を介した PGD_2 の作用機序を明らかにすることを通して、ドライバー変異が明らかながんや遺伝性のがんに対する薬効評価を行うことができると考えた。CAFs における PGD_2 シグナルおよび CAFs とがん細胞の相互作用における PGD_2 の作用機序を明らかにすることを通して、微小環境を標的とした新たながん治療法を開発することを目的に掲げ、以下に焦点を当てた研究計画を設定した。

(1) 肺線維芽細胞とがん関連線維芽細胞 (CAF) の活性に PGD_2 が及ぼす影響の検討

肺において定常状態の線維芽細胞と CAFs の差異を比較検討し、細胞増殖、プロスタグランジン類を含めた炎症性サイトカイン産生、細胞外マトリックス産生ならびに分解に関与する PGD_2 シグナル伝達機構を明らかにする。

(2) CAFs とがん細胞の細胞間相互作用を制御する機構の解明

PGD_2 刺激により CAFs から産生される液性因子、 PGD_2 シグナルを受けた CAFs との直接接触や細胞外マトリックスが、がん細胞の増殖能、浸潤能、上皮間葉移行に与える影響を三次元培養ならびに直接共培養により検討する。EGF や FGF、PDGF、VEGF シグナル阻害薬に対する薬剤抵抗性についても検討を行う。

(3) 肺がんの発がんモデルマウス作出とがん細胞および CAFs の単離・解析

肺における発がん制御に PGD_2 が及ぼす影響を検討するため、遺伝子改変マウスを作製する。発生した肺がんの組織学的解析を行うとともに、遺伝子変異とがん病態形成の関連について検討する。

3. 研究の方法

(1) 肺線維芽細胞とがん関連線維芽細胞 (CAFs) の活性に PGD₂ が及ぼす影響の検討

肺の線維芽細胞において PGD₂ はその受容体の 1 つである DP 受容体を介してコラーゲン産生を抑制する (参考文献 1)。一方、肝臓の筋線維芽細胞において PGD₂ はトロンボキサン A₂ 受容体の 1 つである TP 受容体を介して細胞収縮を誘起する (参考文献 2)。本項目では定常状態の線維芽細胞と CAFs の差異を比較検討し、細胞増殖、炎症性サイトカイン産生、細胞外マトリックス産生ならびに分解に關与する PGD₂ シグナル伝達機構の解析を行った。

(2) CAFs とがん細胞の細胞間相互作用を制御する機構の解明

コラーゲンをういた三次元培養法により、活性型の線維芽細胞である筋線維芽細胞において PGD₂ は DP 受容体を介して細胞収縮を抑制することを報告した (参考文献 3)。本項目では、PGD₂ 刺激により CAFs から産生される液性因子、PGD₂ シグナルを受けた CAFs との直接接触や細胞外マトリックスが、がん細胞の増殖能、浸潤能、上皮間葉移行 (EMT) に与える影響を三次元培養ならびに直接共培養により検討した。

(3) 肺がんの発がんモデルマウス作出とがん細胞および CAFs の解析

造血器型 PGD₂ 合成酵素により産生された PGD₂ は肺組織の傷害による炎症を抑え、肺線維化を抑制する (参考文献 4)。肺における発がん制御に PGD₂ が及ぼす影響を検討するため、p53 欠損マウスにゲノム編集技術を組み合わせた遺伝子改変マウスを作製した。発生した肺がんの組織学的解析を行うとともに、がん細胞ならびに CAFs それぞれの細胞について遺伝子発現などの解析を実施した。

4. 研究成果

肺がん細胞と肺線維芽細胞・がん関連線維芽細胞の間における、プロスタグランジン類を介した活性化制御について検討を行った。肺がん細胞株を PGD₂、PGE₂ で刺激すると上皮-間葉転換 (EMT) マーカー発現、細胞増殖能や遊走能は上昇した。正常な肺線維芽細胞と比較すると、がん関連線維芽細胞では COX-2 発現が上昇していたものの、プロスタグランジン類の産生量は低く保たれていた。

がん細胞を培養した培養液中には PGD₂、PGE₂ をはじめとした液性因子含まれており、この培養液により線維芽細胞が活性化すること、その作用は COX-2 阻害剤で打ち消されることが明らかとなった。細胞種間のクロストークをさらに解析するため、トランスウェルでの共培養ならびに線維芽細胞もしくはがん関連線維芽細胞を混ぜたゲル上でがん細胞を培養する 3D 培養を実施した。いずれの場合も共培養によってがん細胞の活性は上昇し、がん関連線維芽細胞を用いた場合により強く観察された。

研究期間全体を通じて、PGD₂ ならびに PGE₂ は肺のがん細胞とその周囲に存在する線維芽細胞の双方を活性化することが明らかとなり、両者の細胞間においてはがん促進傾向に作用することが示唆された。その一方で、マウスにおける検討では逆の傾向となり、造血器型 PGD₂ 合成酵素遺伝子を阻害した場合にはがんが増悪した。がんの発生や進展・転移には免疫系細胞を含めた多種の細胞が関与していることから、それらに研究対象を広げることによって肺がん微小環境におけるプロスタグランジン類の作用の全体像を把握できると考えている。

(参考文献)

1. J Pharmacol Sci. 2013;121(4):312-7. DOI: 10.1254/jphs.12275fp.
2. Eur J Pharmacol. 2008;591(1-3):237-42. DOI: 10.1016/j.ejphar.2008.06.037.
3. J Pharmacol Sci. 2011;116(2):197-203. DOI: 10.1254/jphs.10325fp.
4. PLoS One. 2016;11(12):e0167729. DOI: 10.1371/journal.pone.0167729.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Gurumurthy CB, O'Brien AR, Quadros RM, Adams Jr J, Alcaide P, Ayabe S (6/113番目) et al.	4. 巻 20
2. 論文標題 Reproducibility of CRISPR-Cas9 methods for generation of conditional mouse alleles: a multi-center evaluation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genome Biology	6. 最初と最後の頁 171
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13059-019-1776-2	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0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------