

令和 2 年 7 月 6 日現在

機関番号：15101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16312

研究課題名（和文）膵癌由来エキソソームによるTAMを介した腫瘍進展機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism that exosome derived from pancreatic cancer facilitate tumor progression mediated by TAM

研究代表者

森本 昌樹（MORIMOTO, Masaki）

鳥取大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：40808953

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）：本研究では膵癌細胞由来のエキソソームを介したTAM family（TYRO3、AXL、MER）の発現調整機構の可能性に着目するとともに、ヒト膵癌細胞株と膵癌切除検体とを用いてTYRO3の発現および機能を解析した。TAMの発現は膵癌細胞株由来のエキソソームにより発現が増強される可能性が示唆された。本研究では、膵癌細胞におけるTYRO抑制は細胞増殖および浸潤を抑制した一方で、TYRO3過剰発現はそれらを増強した。加えてTYRO3の発現が膵癌患者予後を規定することが示された。TYRO3またはその下流シグナルを治療標とすることで新たな膵癌治療法の開発につながると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、TAM familyに着目することで、難治癌である膵癌において新たな癌増殖のメカニズムの一端を示した。関連分子の研究をさらに進めることで、膵癌制御の臨床応用につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In this study, we confirmed TYRO3 expression in five human PC cell lines (PANC-1, MIA PaCa-2, BxPC-3, AsPC-1, and PK-9). TYRO3 silencing and overexpression studies have revealed that TYRO3 promotes cell proliferation and invasion in PC via phosphorylation of protein kinase B (Akt) and extracellular signal-regulated kinase (ERK). Using a mouse xenograft model, we showed that tumor growth was significantly suppressed in mice subcutaneously inoculated with TYRO3-knockdown PC cells compared with mice inoculated with control PC cells. Furthermore, TYRO3 expression was examined in PC tissues obtained from 106 patients who underwent pancreatic resection for invasive ductal carcinoma through immunohistochemical staining. TYRO3-positive patients had poor prognoses for overall survival and disease-specific survival compared with TYRO3-negative patients. Multivariate analysis revealed that TYRO3 expression is an independent prognostic factor for overall survival.

研究分野：消化器外科学

キーワード：膵癌 TAM TYRO3 エキソソーム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

TAM family (TYRO3、AXL、MER) は 1990 年に同定された比較的新しい受容体群であり、近年になっていくつかの癌腫で oncogene としての機能が明らかとされてきた。TYRO3 は同 family に属する受容体であるが、膵癌における発現と機能は明らかとなっていない。また近年正常細胞及び癌細胞から分泌されることが分かっているエクソソームについて、TAM family 発現との関連は不明である。

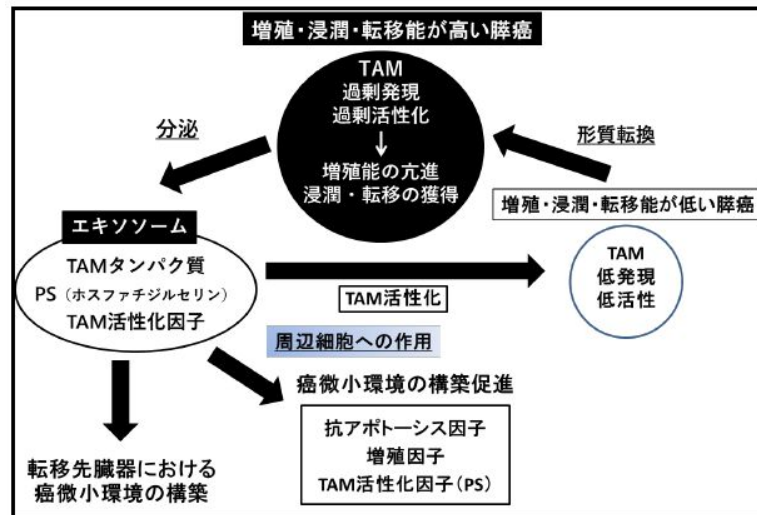


図 1. 本研究で想定される膵癌進展機構

2. 研究の目的

本研究ではヒト膵癌細胞株と膵癌切除検体とを用いて TYRO3 の発現および機能を解析し、膵癌の新たな治療標的としての可能性を精査した。エクソソームと TYRO3 発現の関連について解析を行った。

3. 研究の方法

5 種類のヒト膵癌細胞株 (PANC-1、MIA PaCa-2、BxPC-3、AsPC-1 および PK-9) とヒト膵管上皮不死化細胞 HPDE H6c7 株を用いて、TYRO3 のタンパク発現の有無を検討した。RNAi を用いた TYRO3 のノックダウン、またはプラスミドベクターを用いた過剰発現実験により、TYRO3 の下流シグナル因子の候補である phosphorylation of protein kinase B (Akt) と extracellular signal-regulated kinase (ERK) の挙動について検討した。ヌードマウスを用いた異種移植実験において、TYRO3 のノックダウンによる腫瘍増殖への影響について検討した。浸潤性膵管癌に対して膵切除を行った 106 人の患者の切除検体において、膵癌組織中の TYRO3 の発現と予後との関連を検討した。膵癌細胞から抽出したエクソソームを用いて、膵癌細胞株へ作用させタンパク発現を解析した。

4. 研究成果

用いた細胞株すべてにおいて、TYRO3 のタンパク発現が確認された。PANC-1 細胞株および MIA

PaCa-2 細胞株における TYRO3 siRNA により、TYRO3 タンパク質発現の有意な低下を示すとともに増殖能、浸潤能の有意な低下を示した。さらに TYRO3 siRNA により、Akt および ERK のリン酸化タンパクが有意に減少した。TYRO3 の発現プラスミドを作製し、PANC-1 細胞で TYRO3 の過剰発現株を作製した。同細胞での共焦点レーザー顕微鏡を用いた観察により、TYRO3 の過剰発現が、形質膜へのリン酸化 Akt の動員および核内へのリン酸化 ERK の移行を著しく増加させることが明らかとなった。レンチウイルスを用いて shRNA を安定発現させた TYRO3 knockdown PANC-1 クローン sh#C および sh#D を使用してマウス異種移植モデルを確立し、in vivo での膵癌腫瘍形成における TYRO3 の役割を評価した。結果として、移植 5 週間後における TYRO3 knockdown PANC-1 クローン移植マウスの腫瘍重量と体積は、著しく減少した。

浸潤性膵管癌術後検体を用いた免疫組織化学による検討により、TYRO3 発現は 30.2% で陽性と判定された。単変量解析および多変量解析により TYRO3 発現が膵癌患者の全生存期間における独立した規定因子であることが判明した。

膵癌細胞株から抽出したエクソソームを添加することによって、TYRO3 発現の弱い細胞株で TYRO3 発現が増大することを示した。エクソソームが如何にして TYRO3 を活性化するかについての詳細なメカニズムについては本研究期間内では明らかとならなかったが、本研究ではチロシンキナーゼ受容体である TYRO3 の膵癌における働きを新たに見出した。

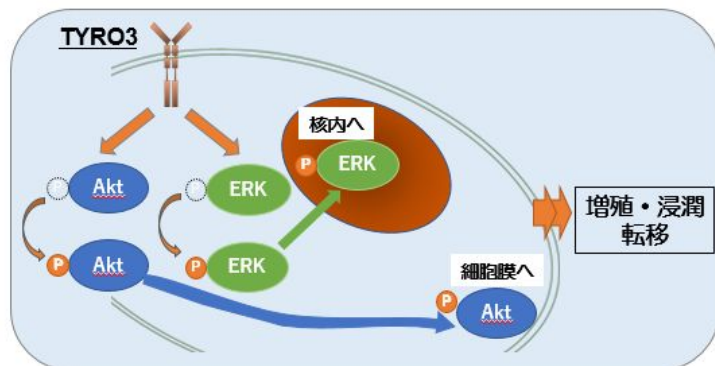


図 2. TYRO3 は Akt/ERK の活性化を介して膵癌進展を促す

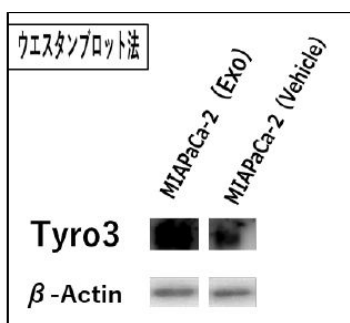


図 3. PANC-1 細胞株由来エクソソームで処理した MIAPaCa-2 細胞株で Tyro3 発現が増加した

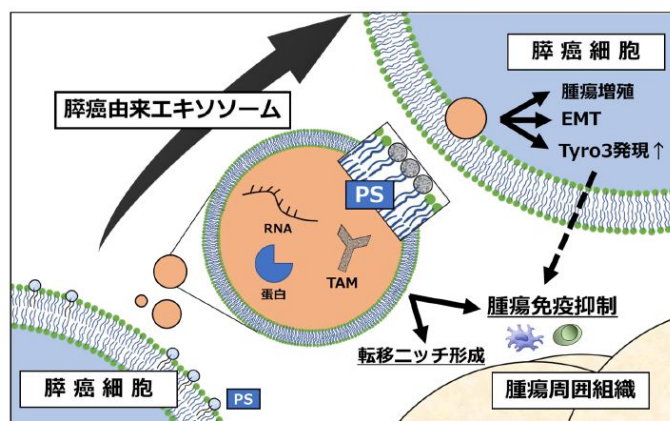


図 4. 想定する膵癌由来エクソソームによる腫瘍進展機構

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 0件）

1. 著者名 Morimoto Masaki, Horikoshi Yosuke, Nakaso Kazuhiro, Kurashiki Tatsuyuki, Kitagawa Yoshinori, Hanaki Takehiko, Sakamoto Teruhisa, Honjo Soichiro, Umekita Yoshihisa, Fujiwara Yoshiyuki, Matsura Tatsuya	4. 巻 470
2. 論文標題 Oncogenic role of TYRO3 receptor tyrosine kinase in the progression of pancreatic cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Letters	6. 最初と最後の頁 149 ~ 160
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.canlet.2019.11.028	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 森本 昌樹
2. 発表標題 受容体型チロシンキナーゼTAMは膵臓癌の増悪化に関与する
3. 学会等名 第60回 日本生化学会 中国・四国支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森本 昌樹
2. 発表標題 膵癌進展における新規チロシンキナーゼ受容体TAMの機能
3. 学会等名 第28回 日本がん転移学会学術大会・総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 森本 昌樹	4. 発行年 2020年
2. 出版社 飯田橋パピルス	5. 総ページ数 243
3. 書名 分子細胞治療フロンティア2020	

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