

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08404

研究課題名(和文) がん間質に発現する TGF- 誘導性分子Hic-5 を標的とした膵がんの制御

研究課題名(英文) Regulation of pancreatic cancer progression by targeting Hic-5, a TGF-beta-inducible adaptor expressed in cancer-stroma.

研究代表者

金山 朱里 (Kaneyama, Shuri)

昭和大学・医学部・准教授

研究者番号：10338535

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：がん間質は、がん細胞と並行に線状集積した細胞外マトリックス(ECM)により正常組織の間質に比べ組織硬度が増している。申請者らは近年、活性酸素やTGF-により誘導される細胞接着斑アダプター分子 Hic-5 が、がん間質のCAFに高発現しECMリモデリング制御に関与していることを見出した。そこで本研究では間質の豊富な膵がんに着目し、Hic-5 のがん間質形質制御を介した膵がん発症への寄与について膵がん発症マウスモデルを用いて検討を行った。さらに膵がんの治療抵抗性の一因と考えられている膵線維化へのHic-5の関与を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵線維化は難治癌である膵がんの治療抵抗性の一因と考えられており、本研究により膵線維化制御メカニズムの一因が明らかにされた。がん組織中の線維化を標的とした新たな膵がんの治療戦略開発につながるデータである。

研究成果の概要(英文)：Alteration in the density of extracellular matrix (ECM) occurs in the tumor stroma. We have previously demonstrated that Hydrogen peroxide-inducible clone-5 (Hic-5) was strongly induced in CAFs found in human colorectal cancer and responsible for generating a tumor-promoting stroma. In this study, we focused on pancreatic cancer which is characterized by a dense stromal response, and investigated the contribution of Hic-5 to pancreatic cancer development through regulation of cancer stromal phenotype using a mouse model of pancreatic cancer. Furthermore, we clarified the involvement of Hic-5 in pancreatic fibrosis, which is considered to be one of the causes of pancreatic cancer resistance to treatment.

研究分野：病態医化学

キーワード：膵がん 膵線維化 がん微小環境

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がん間質は、がん細胞と並行に線状集積した細胞外マトリックス (ECM) により正常組織の間質に比べ組織硬度が増している。この硬い細胞外マトリックス (ECM) はがん免疫療法における腫瘍内への免疫細胞の浸潤妨害、薬剤の腫瘍深部への浸透阻害といった治療抵抗性の原因である間質バリアを形成する。この間質の構成細胞の中でもがん関連線維芽細胞 CAF が、強いがん細胞増殖促進作用を持つことが認識されている。しかし CAF による ECM 制御メカニズムについては不明な点が多い。

2. 研究の目的

申請者らは近年、活性酸素応答性アダプター分子 Hic-5 ががん間質の CAF に高発現し ECM を制御していること、および自作した Hic-5 欠損マウスで大腸がんの発症がほぼ完全に抑制されることを報告した。本研究では間質の豊富な膵がん発症への Hic-5 の関与を明らかにすると共に、膵がんの治療抵抗性の一因と考えられている膵線維化への Hic-5 の関与を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

膵がん発症モデルとして PKT(Ptf1acre/+;LSL-KrasG12D/+; Tgfbr2flox/flox)マウスを用い、Hic-5 欠損マウスラインを確立し生存率を比較するとともに、経時的に膵臓を摘出しサイズ、重量を計測した。さらに組織学的解析から腫瘍の深達度や、マウス遠隔臓器および隣接臓器への腫瘍転移個数を定量評価した。また膵線維化への Hic-5 の関与について、セルレインにて膵線維化を誘導したマウス膵組織ならびにヒト慢性膵炎患者由来組織を用いて、免疫組織染色により Hic-5 の発現変化を観察した。さらに蛍光二重免疫染色により Hic-5 の発現が増加している細胞を同定した。膵線維化マウスでは Hic-5 の遺伝子発現、タンパク発現について RT-PCR、ウエスタンブロットにより確認した。さらに Hic-5 欠損マウスを用いてマウス個体レベルでの Hic-5 欠損による膵線維化への影響、分離培養したマウス膵星細胞における Hic-5 の役割についても検討した。

4. 研究成果

膵がん発症モデルマウス PKT(Ptf1acre/+;LSL-KrasG12D/+; Tgfbr2flox/flox)を用いた検討は、Covid19 感染拡大によりマウス飼育施設内の繁殖スケールを通常の 30%に縮小しなければならず、膵がんモデルマウスの生存率の比較、遠隔臓器および隣接臓器への腫瘍転移、組織学的解析に遅れが生じたため、解析に更なる時間が必要となった。膵線維化に関しては、ヒト慢性膵炎患者およびセルレインにて誘導した膵線維化マウスの膵組織において、Hic-5 の高度の発現を認めた(図1)。ヒト組織を用いた活性化膵星細胞(PSC)のマーカである α -SMA との二重染色では、Hic-5 発現細胞のほとんどが α -SMA 陽性であった。同様に、膵線維化マウスでも Hic-5 と α -SMA の共局在が観察されたことから、Hic-5 は活性化された膵星細胞に高発現していることが示された(図1)。さらに、膵線維化マウスの膵組織における Hic-5 の遺伝子発現、タンパク発現は共に健常マウスと比較して増加していた。また野生型と比較して Hic-5 欠損マウスではシリウスレッド陽性エリア、ならびにマッソントリクローム染色陽性エリアが有意に減少し、線維化の抑制が認められた。また、野生型マウスでは α 1(I)型コラーゲンや α -SMA の発現が顕著に誘導されたが、Hic-5 欠損マウスではこれらの発現誘導が抑制された(図2)。

PSC を用いた検討では、野生型マウス由来 PSC は培養 5 日目に α -SMA ならびに α 1(I)型コラーゲンの発現が増加したが、Hic-5 欠損マウス由来 PSC ではこれらの発現が抑制された(図2)。また PSC を TGF- β 1 で刺激した際、Smad2 のタンパク発現レベルは、野生型および Hic-5 欠損マウス間で有意差が見られなかったものの、Hic-5 欠

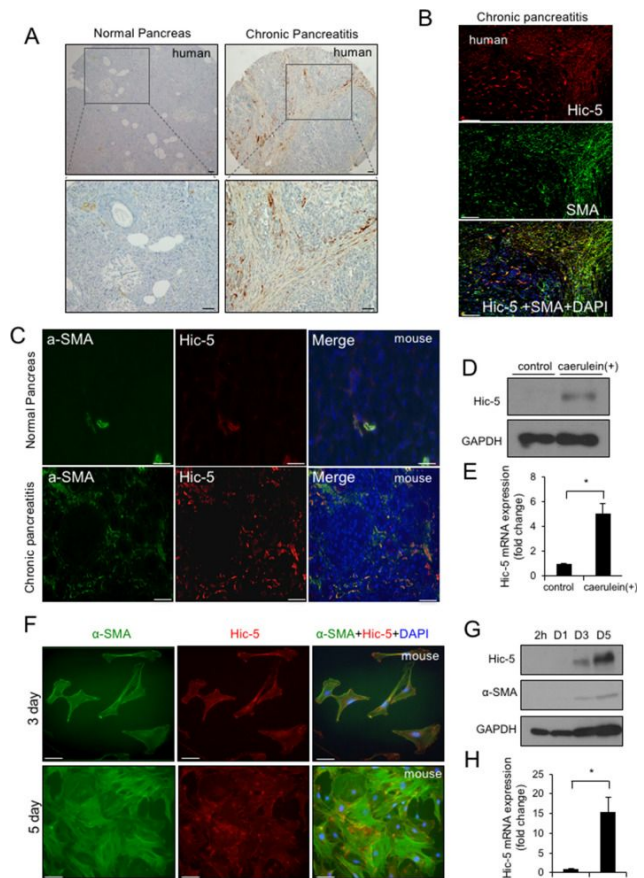
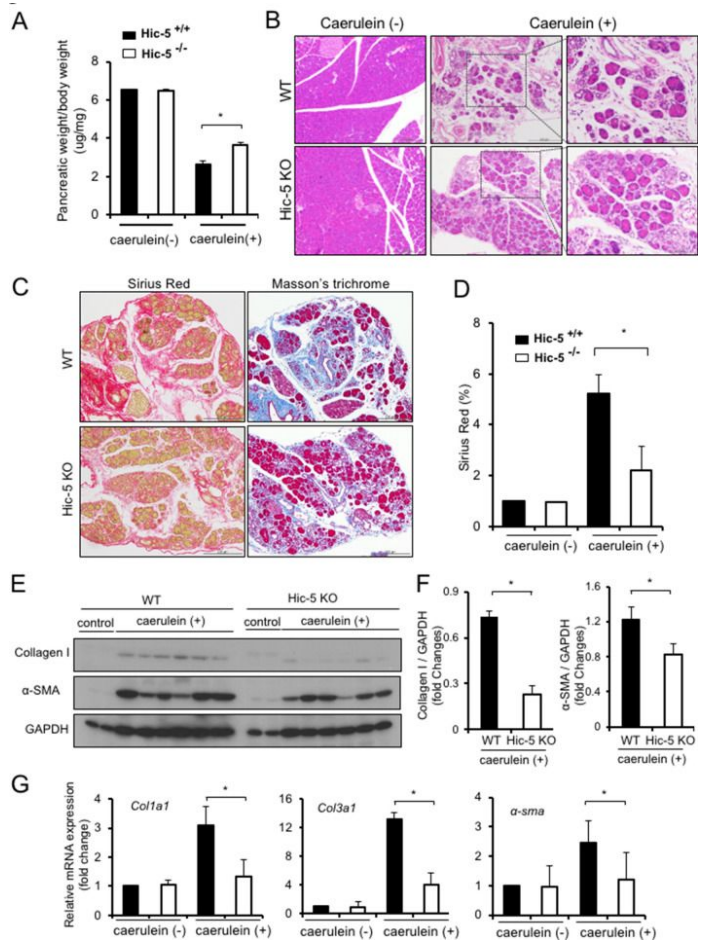


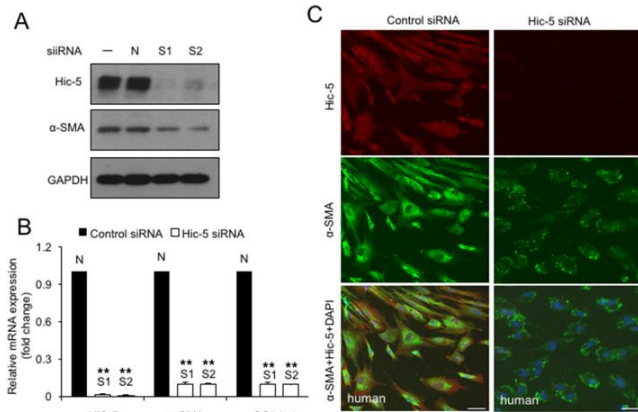
図 1

損マウス由来 PSC では Smad2 のリン酸化が顕著に抑制された。さらにヒト PSC の Hic-5 を siRNA でノックダウンしたところ、 α -SMA のタンパク発現、型コラーゲンの遺伝子発現が有意に抑制された。

さらに TGF- β 刺激によりコントロール siRNA 群では Smad2 の顕著なリン酸化が生じたのに対し、Hic-5 siRNA 群では Smad2 のリン酸化は有意に抑制された (図 3)。これらの知見から、Hic-5 は新たな PSC 活性化マーカーであり、腓線維化の新規治療標的となり得る分子と考えられる。



☒ 2



☒ 3

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Pham Phuong Tran, Fukuda Daiju, Nishimoto Sachiko, Kim-Kaneyama Joo-Ri, Lei Xiao-Feng, Sata Masataka et al	4. 巻 42
2. 論文標題 STING, a cytosolic DNA sensor, plays a critical role in atherogenesis: a link between innate immunity and chronic inflammation caused by lifestyle-related diseases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Heart Journal	6. 最初と最後の頁 4336 ~ 4348
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/eurheartj/ehab249	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 Pham Phuong Tran, Fukuda Daiju, Nishimoto Sachiko, Kim-Kaneyama Joo-Ri, Lei Xiao-Feng, Takahashi Yutaka, Sato Tomohito, Tanaka Kimie, Sata Masataka et al.	4. 巻 42
2. 論文標題 STING, a cytosolic DNA sensor, plays a critical role in atherogenesis: a link between innate immunity and chronic inflammation caused by lifestyle-related diseases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Heart Journal	6. 最初と最後の頁 4336 ~ 4348
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/eurheartj/ehab249	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 Gao Lin, Lei Xiao-Feng, Miyauchi Aya, Noguchi Masahito, Omoto Tomokatsu, Haraguchi Shogo, Miyazaki Takuro, Miyazaki Akira, Kim-Kaneyama Joo-ri	4. 巻 10
2. 論文標題 Hic-5 is required for activation of pancreatic stellate cells and development of pancreatic fibrosis in chronic pancreatitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19105
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-76095-1	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 該当する
1. 著者名 Fukuda Daiju, Nishimoto Sachiko, Aini Kunduziayi, Tanaka Atsushi, Nishiguchi Tsuyoshi, Kim Kaneyama Joo ri, Lei Xiao Feng, Sata Masataka et al.	4. 巻 8
2. 論文標題 Toll Like Receptor 9 Plays a Pivotal Role in Angiotensin II-Induced Atherosclerosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the American Heart Association	6. 最初と最後の頁 e010860
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/JAHA.118.010860	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 Chang Song Ho, Mori Daisuke, Kobayashi Hiroshi, Mori Yoshifumi, Nakamoto Hideki, Okada Keita, Taniguchi Yuki, Sugita Shurei, Yano Fumiko, Chung Ung-il, Kim-Kaneyama Joo-ri, Yanagita Motoko, Economides Aris, Canalis Ernesto, Chen Di, Tanaka Sakae, Saito Taku	4. 巻 10
2. 論文標題 Excessive mechanical loading promotes osteoarthritis through the gremlin-1?NF- B pathway	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1442
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-09491-5	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 Oichi Takeshi, Taniguchi Yuki, Soma Kazuhito, Oshima Yasushi, Yano Fumiko, Mori Yoshifumi, Chijimatsu Ryota, Kim-Kaneyama Joo-ri, Tanaka Sakae, Saito Taku	4. 巻 76
2. 論文標題 Adamts17 is involved in skeletogenesis through modulation of BMP-Smad1/5/8 pathway	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cellular and Molecular Life Sciences	6. 最初と最後の頁 4795 ~ 4809
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00018-019-03188-0	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 Haraguchi Shogo, r, Lei Xiao-Feng, Miyazaki Takuro, Kim-Kaneyama Joo-ri, Nakamachi Tomoya, Matsuda Kouhei, Ohtaki Hirokazu, Tokumoto Toshinobu, Tachibana Tetsuya, Miyazaki Akira, Tsutsui Kazuyoshi et al.	4. 巻 8
2. 論文標題 Light-at-night exposure affects brain development through pineal allopregnanolone-dependent mechanisms	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e45306
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.45306	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 Miyuchi Aya, Kim-Kaneyama Joo-ri, Lei Xiao-Feng, Chang Song Ho, Saito Taku, Haraguchi Shogo, Miyazaki Takuro, Miyazaki Akira	4. 巻 9
2. 論文標題 Alleviation of murine osteoarthritis by deletion of the focal adhesion mechanosensitive adapter, Hic-5	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 15770
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-52301-7	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 金山 朱里、雷 小峰、宮内 彩、宮崎 章
2. 発表標題 レドックス感受性アダプター分子の動脈硬化性疾患発症における役割
3. 学会等名 第51回日本動脈硬化学会総会・学術集会(シンポジウム)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Joo-ri Kim-kaneyama, Tomokatsu Omoto, Xiao-Feng Lei, Aya Miyauchi, Lin Gao, Shogo Haraguchi, Takuro Miyazaki and Akira Miyazaki
2. 発表標題 Stromal Hic-5 expression contributes to colorectal tumorigenesis through stromal remodeling
3. 学会等名 Stromal Cells in Immunity and Disease, Keystone Symposia (国際学会)
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----

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