

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：17201

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17436

研究課題名(和文) 三次元培養モデルを用いた膵癌細胞と脂肪組織の相互作用の解明

研究課題名(英文) Interaction between pancreatic cancer and adipose tissue

研究代表者

芥川 剛至 (Akutagawa, Takashi)

佐賀大学・医学部・助教

研究者番号：40839057

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)：膵癌と脂肪組織の相互作用の解明についての三次元培養モデルを用いた研究を行った。脂肪組織は、膵癌細胞の活性化、浸潤能の増強に寄与し、アポトーシスを抑制する因子であった。脂肪細胞と共培養した群では、IRF/STAT pathwayに関するタンパクの増加が見られた。ゲムシタビン投与を行うと、脂肪細胞が存在下では、抗癌剤抵抗性が惹起された。また、癌細胞が脂肪組織に及ぼす因子を解析したところ、癌細胞と共培養した群では、培養液中のインターフェロン量の増加が見られた。以上より、膵癌細胞と脂肪組織は、インターフェロンならびにIRF/STATを介した相互作用を有している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵癌は予後不良な悪性腫瘍の一つであり、日本人の癌死の上位に位置する疾患である。膵癌の活性化、浸潤、転移に影響を及ぼす因子を同定し、新規分子標的薬の創成などが早期の望まれる。今回、膵癌細胞と脂肪組織の相互作用について解析し、インターフェロンならびにIRF/STAT経路が相互作用に影響を及ぼす因子と考えられた。今回同定したタンパクなどをターゲットにした分子標的薬、新規薬剤の創薬につながると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Adipose tissue and fluid flow had a positive synergistic effect on the proliferative potential and invasive capacity of pancreatic cancer cells, and adipose tissue inhibited apoptosis in these cells. Adipose tissue upregulated IRF/STAT signaling in pancreatic cancer cells. Adipose tissue modulated chemosensitivity to Gemcitabine in pancreatic cancer cells. Additionally, pancreatic cancer cells increased production and secretion of Interferon in adipose tissue.

The results suggested that adipose tissue and pancreatic cancer cells had positive relation via Interferon and IRF/STAT pathway.

研究分野：消化器内科

キーワード：膵癌 脂肪組織 インターフェロン IRF9 STAT

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

膵癌は予後不良な悪性腫瘍の一つであり、日本人の癌死の上位に位置する(男性5位、女性3位)。早期発見例では長期予後が望めるとされているが、全体では3年生存率が15%との報告もある。膵癌の発生リスクとして喫煙や飲酒が知られているが、BMI30以上の肥満は、肥満のない場合と比較して、3.5倍のリスクが増大すると報告されており、脂肪との関連が強く示唆されている。

膵臓の周囲には内臓脂肪をはじめ、後腹膜脂肪組織、腸間膜など豊富な脂肪組織が存在し、膵臓に対する重要な間質であると共に、膵癌の進展に際しては浸潤のターゲットになることから、膵癌の発生や生存、増殖、浸潤、進展に影響を及ぼしていると予想される。特に、脂肪組織が癌細胞の悪性度を規定する微少環境として注目されている。しかし、脂肪組織が膵癌細胞に与える直接的な影響を解析した研究は国内外にはなく、その詳細は不明であった。

我が国の膵癌診療ガイドラインでは、局所進行切除不能進行膵癌に対する一次化学療法としてゲムシタピン塩酸塩、TS-1、FOLFIRINOX、ゲムシタピン塩酸塩+ナブパクリタキセル療法が推奨されているが、有効な分子標的治療薬は少数であり、新規薬剤の開発が望まれていた。

2. 研究の目的

われわれの研究チームが開発した「がん細胞 - 脂肪組織解析システム」を用い、脂肪組織が「がん細胞」に及ぼす直接的な影響の解析を行うことが可能になった。本申請課題では、我々が確立した新規培養法を用いることで、未解明である脂肪組織による膵癌細胞の悪性度に及ぼすパラクライン効果の分子メカニズムを明らかにし、次世代の膵癌治療の研究基盤の確立を目指した。

3. 研究の方法

膵癌細胞 - 脂肪組織解析モデルを用いて脂肪組織が膵癌細胞に及ぼすパラクライン効果の分子メカニズムを解析した。

1) 材料

膵癌細胞株：MIA PaCa-2、PANC-1を用いた

脂肪組織：1週、4週、48週齢マウス、ラットの臓器、皮下脂肪組織を採取した。

2) 培養システム

膵癌細胞 - 脂肪組織解析モデルを用いた。マウス、ラットより採取した脂肪組織を0.5-1 mm径に細切し、約0.1mgを1mlのコラーゲン・ゲルに包埋した。そのコラーゲン・ディスク上に癌細胞10万個を播種し、流体刺激下で培養を行った。脂肪細胞が癌細胞に与える特異的な現象を解析するため、対照群として、脂肪組織を包埋しないコラーゲン・ゲル単独群、線維芽細胞を包埋した群を作成した。7、14、21日間培養したのち、検体をホルマリンおよびグルタルアルデヒド固定し、標本作製した。

3) 癌細胞の形態、生存、増殖、浸潤の解析

癌細胞の形態変化をヘマトキシリン・エオジン染色や電子顕微鏡で解析した。免疫染色で細胞増殖能(Ki-67)、アポトーシス(PCNA、Cleaved caspase)を評価した。以上により、脂肪組織が膵癌の形態、生存、増殖、浸潤に与える影響とその相違、および膵癌が脂肪組織に与える影響を解析した。

4) 癌細胞 - 脂肪組織相互作用関連分子の解析

膵癌細胞 - 脂肪組織解析モデルで得られたタンパクを用いて、癌の情報伝達経路であるMAPK pathway、STAT pathway、TGF- β pathway、PI3K-AKT pathwayの発現を免疫組織化学、ELISA、Western blot、RT-PCRで解析した。

5) アディポカイン・脂肪酸の解析

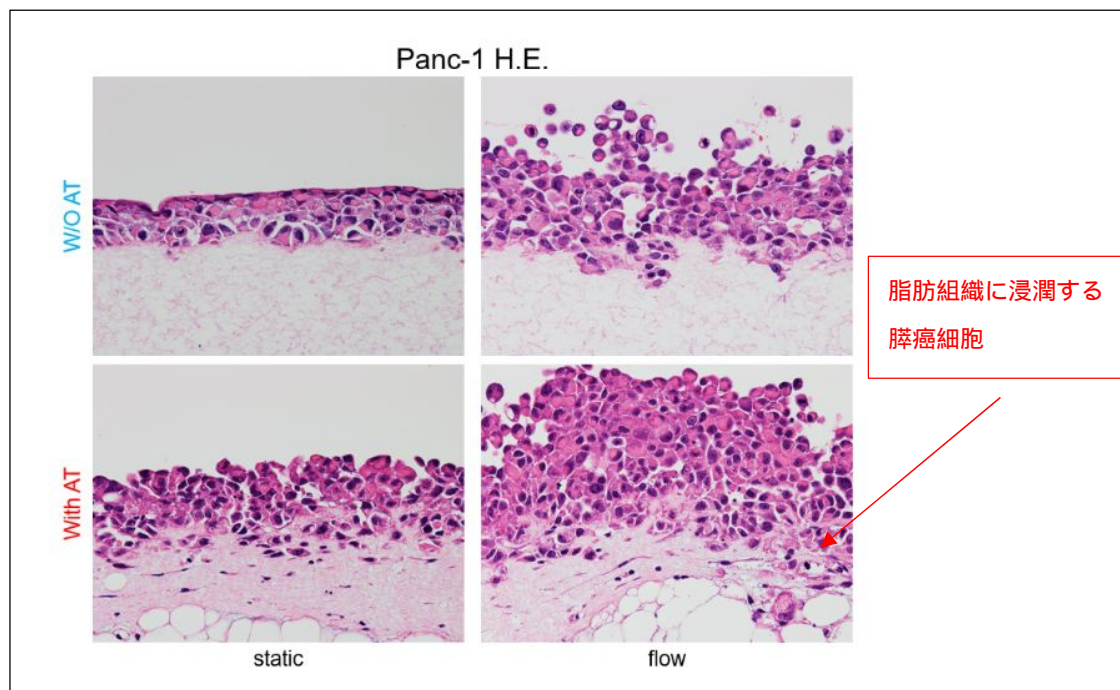
培養液中および癌細胞のアディポカイン(Leptin、adiponectin、TNF- α 、PAI-1、IGF-1)、インターフェロンを測定し、その差違を解析した。

6) 抗癌剤への感受性の変化の評価

ゲムシタピンを投与して、抗癌剤抵抗性に関する因子の解析を行った。

4. 研究成果

1)脂肪組織と共培養した群では、膵癌細胞の肥大化、重層化、構成する腺管の増加が見られた。また、細胞増殖能の増加ならびにアポトーシスの抑制を免疫染色で確認した。以上より、脂肪組織が膵癌細胞の形態を変化させ、生存・増殖・浸潤の活性化を担っていることが判明した。



三次元培養モデルを用いた、膵癌細胞と脂肪組織の共培養

2)RNA micro array を用いて、膵癌細胞株が脂肪組織により影響される変化を網羅的に解析した。脂肪組織と共培養した膵癌細胞株において、Interferon Alpha Inducible Protein (IFI)、C-X-C motif chemokine (CXCL)、interferon regulatory factor (IRF) の mRNA 発現増加が見られた。Western blot analysis で、上記タンパク発現を解析したところ、脂肪組織と共培養した群において、IRF9 のタンパク発現増強が見られた。さらに、IRF9 が関与する signal pathway に着目し、IRF9/STAT pathway の STAT1、STAT2、STAT3 のタンパク発現が増加していた。

3)ゲムシタピン投与を行ったところ、脂肪組織を共培養した群では、膵癌細胞の抗癌剤抵抗性が惹起された。

4)培養液中の IFN 濃度を測定したところ、脂肪組織と膵癌細胞株を共培養した群において IFN 濃度が上昇していた。

以上より、膵癌細胞と脂肪組織は、インターフェロンならびに IRF/STAT を介した相互作用を有している可能性が示唆された。本研究の進展により、脂肪組織の膵癌に与える制御因子の同定や膵癌に対する新規分子標的薬の開発が期待できる。

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 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nagase Kei, Akutagawa Takashi, Rikitake Yamamoto Mihoko, Morito Sayuri, Futamata Maki, Tobu Shohei, Noguchi Mitsuru, Toda Shuji, Aoki Shigehisa	4. 巻 -
2. 論文標題 Cellular and physical microenvironments regulate the aggressiveness and sunitinib chemosensitivity of clear cell renal cell carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Pathology	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/path.5630	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 Hanashima Katsuyuki, Akutagawa Takashi, Yamamoto-Rikitake Mihoko, Sakumoto Takehisa, Futamata Maki, Nakao Yoshifumi, Yokoyama Masatoshi, Toda Shuji, Aoki Shigehisa	4. 巻 54
2. 論文標題 Tissue-specific Physical and Biological Microenvironments Modulate the Behavior of Cervical Squamous Cell Carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACTA HISTOCHEMICA ET CYTOCHEMICA	6. 最初と最後の頁 155 ~ 165
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1267/ahc.21-00038	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

〔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
---------	---------