

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：11101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18076

研究課題名(和文) 膵癌間質をターゲットとした新規膵癌治療戦略の開発

研究課題名(英文) Development of novel pancreatic cancer treatment strategy targeting the pancreatic cancer stroma

研究代表者

長瀬 勇人(Nagase, Hayato)

弘前大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10750862

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：4-methylumbelliferone(以下MU)は膵癌細胞のヒアルロン酸(以下HA)受容体であるCD44およびRHAMMの発現に影響を及ぼさなかった。MUは細胞周囲のHAを減少させることでHAと受容体の結合による細胞内へのシグナルを抑制し、抗腫瘍効果を発揮する可能性が示唆された。また、健康人より Tcellを分離培養し、膵癌細胞への細胞障害活性を検討したところ、MUと併用することで細胞障害が増強された。またヒト膵癌細胞を移植した免疫不全マウスを用いた実験を行い、MUの抗腫瘍効果(腫瘍縮小、生存率向上、腫瘍組織内における抗癌剤濃度上昇、Tcellの腫瘍内への浸潤促進作用)を確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究はMUが他の抗癌剤の作用を増強するchemosensitizerとしての有用性を実証するものである。膵癌に対する化学療法のKey DrugであるNab-PaclitaxelとMUを併用することによって治療成績が向上する可能性があり、本研究を継続することにより実証可能である。また、現時点で効果が実証されていない免疫療法においても、MUと併用することで腫瘍学的効果が得られる可能性があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：4-methylumbelliferone (MU) did not affect the expression of hyaluronan (HA) receptors, CD44 and RHAMM, in pancreatic cancer cells, suggesting that MU may exert its antitumor effect by decreasing pericellular HA and suppressing intracellular signaling by binding of HA to its receptors. receptor binding, suggesting that MU may exert its anti-tumor effect by reducing pericellular hyaluronan. In addition, T cells were isolated and cultured from healthy human subjects, and their cytotoxic activity against pancreatic cancer cells was examined, and the cytotoxicity was enhanced when they were used in combination with MU. In addition, experiments using immunodeficient mice transplanted with human pancreatic cancer cells confirmed the anti-tumor effects of MU (tumor shrinkage, improved survival rate, increased concentration of anti-cancer drugs in tumor tissue, and accelerated invasion of T cells into the tumor).

研究分野：消化器外科

キーワード：膵癌 間質 ヒアルロン酸 化学療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

膵癌は切除不能な状態で診断されることが多く予後不良な疾患である。本邦における膵癌による癌死亡数は約 29000 人で継続的に増加しており、臓器別にみると男性第 5 位、女性第 4 位となっている。切除不能症例に対しては化学療法や放射線療法が行われるが、長期予後を得ることは難しく、免疫療法や新規抗癌剤の開発が臨床上の大きな課題となっている。

2. 研究の目的

膵癌はその組織中にヒアルロン酸(以下、HA)に富む多量の間質成分を含んでおり、治療抵抗性の一因になっている。申請者は過去の研究にてヒアルロン酸合成阻害作用を有する 4-methylumbelliferone (以下、MU) がヒト膵癌細胞に対して抗腫瘍効果を有することを明らかにしてきた。膵癌組織間質中ヒアルロン酸の作用を明らかにすること、および MU によるヒアルロン酸制御が新規膵癌治療として有用であるか検討することを目的として本研究を計画した。

また、MU による膵癌間質制御が免疫担当細胞の抗腫瘍効果へ与える影響を明らかにするために、健康成人ドナーの末梢血から T cell を分離培養し、以下の実験を行った。

3. 研究の方法

ヒト膵癌細胞を用いて in vitro、in vivo における MU の抗腫瘍効果を以下の方法で検討した。

<in vitro>

Particle exclusion assay、Proliferation assay、Cell invasion assay、Apoptosis assay、Cytotoxic assay

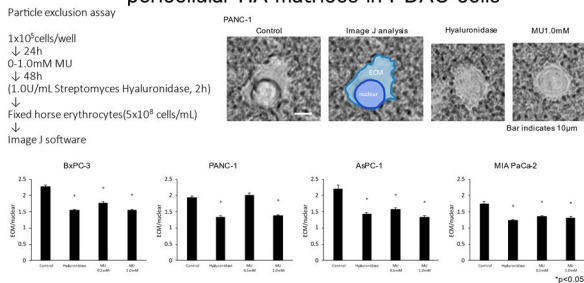
<in vivo>

Analysis of HA synthesis in tumor tissues、HA staining of tumor tissues、Analysis of tumor-infiltrating lymphocytes

4. 研究成果

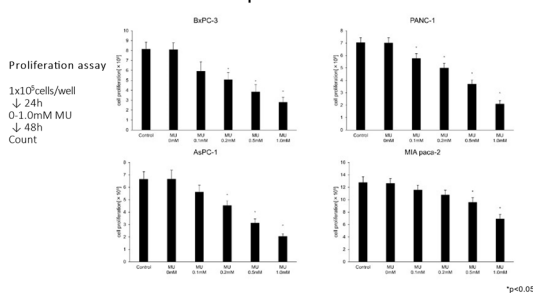
・ MU はヒト膵癌細胞周囲の HA 合成を抑制し、細胞外マトリクスの生成を抑制した。

Results: MU reduces HA synthesis and pericellular HA matrices in PDAC cells

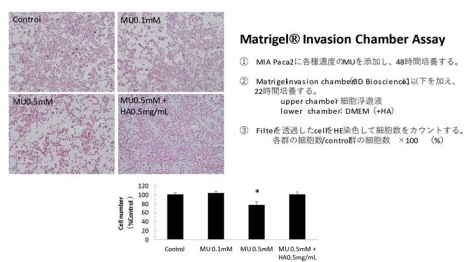


・ MU はヒト膵癌細胞の増殖、浸潤を抑制し、apoptosis を誘導した。

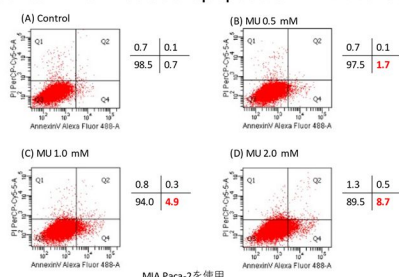
Results: MU inhibits proliferation in PDAC cells



Results: MU inhibits invasion in PDAC cells



Results: MU induced apoptosis in PDAC cells



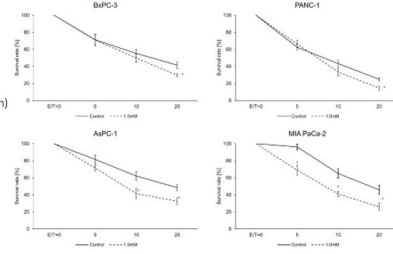
• MU はヒト膵癌細胞に対する T cell の細胞障害性を増強する。

Results: MU enhances $\gamma\delta$ T cell-rich PBMC-mediated cytotoxicity against PDAC cells

Cytotoxicity assay

5x10⁴ cells/well
 ↓ 24h
 1.0mM MU
 ↓ 48h
 $\gamma\delta$ T-cell-rich PBMCs
 100U/ml IL-2
 ↓ 24h
 Count (using Trypan blue solution)

E/T = effector/target ratio
 Survival rate(%) = $\frac{N_{treated}}{N_{control}} \times 100$
 $\gamma\delta$ T-cell-rich PBMCs
 50ml of peripheral blood
 ↓ Leucocsep, 400xg 40min
 1x10⁶ cells/well
 5 μ M Zoledronate
 100U/ml IL-2
 ↓ 7-14day
 assay



*p<0.05

• ヒト膵癌細胞を皮下移植したマウスにおいて、MU は腫瘍体積および HA 合成を抑制した。

Results: MU suppresses tumor growth and HA, and increases infiltrating lymphocytes *in vivo*

Tumor inoculation (BxPC-3)

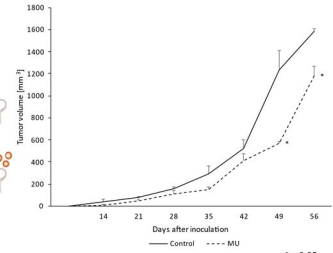
Day 0 ← 5x10⁶ cells/body

Day 14 ← Randomized
 MU group: 2mg/g/day (~Day 56)
 Control: normal bait

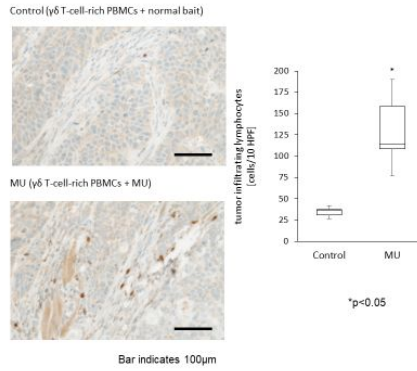
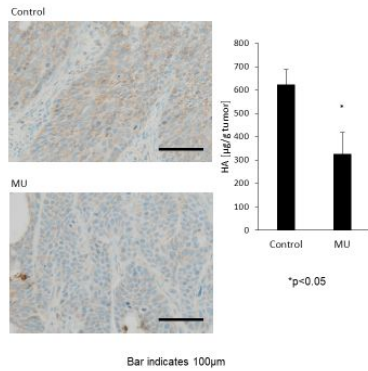
Day 28 ← normal bait / MU bait
 Day 35 ← $\gamma\delta$ T-cell-rich PBMCs
 Day 42 ← (1x10⁶ cells/body 4weeks)
 Day 49 ← normal bait / MU bait

Day 56 ← sacrifice

Tumor volume(mm³)=length x width² x 0.52



*p<0.05



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 長瀬 勇人
2. 発表標題 膵癌間質中ヒアルロン酸を ターゲットとした新規膵癌治療
3. 学会等名 第55回制癌剤適応研究会
4. 発表年 2023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
---------	---------