

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18159

研究課題名(和文)TIMPを介した癌関連線維芽細胞による大腸癌進展調節機構の解明と臨床応用

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanism of colorectal cancer progression regulated by cancer-associated fibroblasts through TIMPs and its clinical application

研究代表者

仲井 希(Nakai, Nozomu)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・研究員

研究者番号：50811717

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):本研究ではTissue inhibitor of metalloproteinase-1(TIMP-1)が大腸癌細胞の遊走に与える影響、癌関連線維芽細胞(CAFs)と癌細胞株からのTIMP-1分泌量をin vitroで調査した。結果、TIMP-1が大腸癌細胞株であるLoVoの遊走を促進し、TIMP-1中和は増強された遊走を抑制し、TIMP-1はCAFからの分泌が大幅に多く、その分泌は癌細胞との共培養により増加した。これらの結果から、CAFがTIMP-1の主要な産生源であり、癌細胞とCAFとの相互作用によってTIMP-1の産生が促進され、癌細胞の遊走が促進されることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究は大腸癌の病態生理や治療法の開発に対して示唆を与える可能性がある。具体的には、癌関連線維芽細胞(CAFs)が大腸癌細胞の遊走に影響を与えるメカニズムを解明することができ、がんの進行や転移を抑制する新しい治療法の開発に役立つ可能性がある。よって、癌細胞を取り囲む腫瘍微小環境に対する治療アプローチが提唱される。

社会的に、大腸癌は世界中で非常に高頻度の悪性腫瘍であり治療法開発は常に課題であり、この研究により大腸癌の病態生理に対する理解が深まり、適切な治療法の開発に寄与することが期待される。また癌治療において、細胞外マトリックスに対する治療法の開発が進む可能性もある。

研究成果の概要(英文):Cancer-associated fibroblasts (CAFs) and cancer cells interact to promote tumor progression, including metastasis. The tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) has been shown to promote cancer cell migration, which is contradictory to its role as an inhibitor of matrix metalloproteinase. In this study, researchers investigated the effect of TIMP-1 on colon cancer cell migration and identified its primary source. The results showed that TIMP-1 promotes the migration of LoVo colon cancer cells and that CAFs are the primary source of TIMP-1. Additionally, TIMP-1 secretion was higher in CAFs co-cultured with cancer cells than in monocultured CAFs, indicating that TIMP-1 production is enhanced through cancer-stromal interaction. The study suggests that the interaction between cancer cells and CAFs in the tumor microenvironment promotes cancer cell migration by increasing TIMP-1 production.

研究分野：大腸癌

キーワード：癌関連線維芽細胞 CAFs 大腸癌 TIMP-1 遊走 転移 共培養

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、癌細胞と癌関連線維芽細胞 (Cancer-associated fibroblasts: CAFs) との相互作用である癌間質相互作用 (Cancer-stromal interaction: CSI) に注目した研究が増えており、CAFs がサイトカインや腫瘍成長因子や血管新生因子を分泌することによって癌細胞に最適な腫瘍微小環境を維持することが報告されている。

当研究室では、大腸癌において CAFs から分泌される因子が血管新生に深く関わっていることを明らかにしてきた。そして CAFs から分泌される因子を阻害すると血管新生も抑制されること、癌細胞に比べ CAFs はアポトーシスを誘導しやすいことなどを報告してきた。

最近の研究では、癌の転移において CAFs が Extra cellular matrix (ECM) のリモデリングを介して重要な役割を果たすことが示唆されており、癌細胞の遊走や浸潤といったより詳細なメカニズムに関して多くの研究が行われている。CAFs が癌細胞の浸潤や転移に参与するメカニズムが解明され、そして CAFs の果たす役割が大きいことが明らかになった場合、CAFs の働きを阻害するような薬剤が開発されれば、従来の薬剤が効かなくなった癌に対する治療効果が期待でき、あるいはこれまでの薬剤とともに効果を高め合うような治療となる可能性がある。

2. 研究の目的

研究を進めるにつれ我々は、従来 Matrix metalloproteinase (MMP) の阻害因子として知られている Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1) に着目した。TIMP-1 はその抗癌作用とは逆に、癌細胞の遊走および転移を促進する因子でもあることが近年報告されており、いくつかの癌種において基質 TIMP-1 タンパク質の発現が上昇していることや、血漿 TIMP-1 濃度の上昇が大腸癌患者の不良生存転帰と関連することなどが報告されており、さらに CAFs 由来の TIMP-1 が CAF 活性を調節するという報告もみられる。一方で、大腸癌組織内での TIMP-1 の主な産生源や、大腸癌における TIMP-1 の腫瘍学的意義はまだ不明である。

そこで本研究は CAFs と TIMP-1 に着目し、TIMP-1 の主な産生源が癌細胞なのか CAFs なのか、大腸癌細胞の遊走に対する TIMP-1 の役割、さらには TIMP-1 と CAFs に相互作用があるかを *in vitro* で明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

単培養条件下における大腸癌細胞株からと、初代培養した CAFs から分泌された TIMP-1 濃度を ELISA で評価・比較し、TIMP-1 の主要な産生源を検討した。

癌細胞と CAFs との相互作用が TIMP-1 分泌に及ぼす影響をトランスウェル共培養システムを用いて調査し、癌細胞の遊走能を wound-healing assay を用いて評価した。

4. 研究成果

単培養条件下で癌細胞株から分泌された TIMP-1 濃度は低く、同じく単培養条件下で CAFs から分泌された TIMP-1 濃度は癌細胞からのそれと比べてはるかに高い結果であった。したがって、CAFs が大腸癌組織における TIMP-1 分泌の主要産生源であることが示唆された。さらに、CAFs からの TIMP-1 分泌は単培養条件下に比べ癌細胞との共培養条件下で増加したため、癌細胞と CAFs との間に、CAFs からの TIMP-1 分泌を増加させる何らかの相互作用が存在することも示唆された。

TIMP-1 が大腸癌細胞株である LoVo の遊走を促進すること、そして TIMP-1 中和抗体が遊走を阻害することを示す結果が得られた。この LoVo の遊走能は CAFs と共培養した際に亢進すること、さらに共培養条件に TIMP-1 中和抗体を加えることによって、遊走能の亢進を部分的に抑制した結果が得られた。すなわち、癌細胞と CAFs との相互作用において癌細胞の遊走能を亢進させるメカニズムには TIMP-1 が関与している可能性が示唆された。

以上の結果から、CAFs が TIMP-1 の主要な産生源であること、CAFs は癌細胞との相互作用によって TIMP-1 の産生を増加し大腸癌細胞の遊走を促進する点で、腫瘍微小環境において癌細胞の転移を促進する可能性が示唆された。

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 Nakai Nozomu, Hara Masayasu, Takahashi Hiroki, Shiga Kazuyoshi, Hirokawa Takahisa, Maeda Yuzo, Yanagita Takeshi, Ando Nanako, Takasu Korehito, Suzuki Takuya, Maeda Anri, Ogawa Ryo, Matsuo Yoichi, Takiguchi Shuji	4. 巻 47
2. 論文標題 Cancer cell-induced tissue inhibitor of metalloproteinase-1 secretion by cancer-associated fibroblasts promotes cancer cell migration	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oncology Reports	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） 10.3892/or.2022.8323	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 仲井希、高橋広城、前田杏梨、鈴木卓弥、柳田剛、前田祐三、廣川高久、志賀一慶、原賢康、小川了、松尾洋一、瀧口修司
2. 発表標題 年齢層をふまえた当科の治療成績から検討するpT4-Stage II結腸癌に対する補助化学療法
3. 学会等名 第92回大腸癌研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 前田杏梨、高橋広城、前田祐三、鈴木卓弥、仲井希、柳田剛、志賀一慶、廣川高久、小川了、原賢康、松尾洋一、瀧口修司
2. 発表標題 大腸癌微小環境における抗アポトーシス蛋白とCAFとの関連
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
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
---------	---------