

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16361

研究課題名(和文) 膵オルガノイドを用いたTME reprogrammingによる腫瘍抑制機序の解明

研究課題名(英文) Investigation of tumor suppression mechanism by TME reprogramming using pancreatic organoids

研究代表者

千々岩 芳朗 (CHIJIWA, Yoshiro)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：60783701

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)：膵癌患者由来、慢性膵炎患者由来の膵星細胞(PSC)を比較し、癌由来PSCにアップレギュレートされていたERAP2を抑制することで、腫瘍促進性PSCを静止状態へと変換可能であること、その結果腫瘍増大と線維化レベルを抑制できることがin vitro, in vivoレベルで実証できた。更に、腫瘍微小環境(TME)が膵オルガノイド(PDO)に影響を検討したところ、癌関連線維芽細胞(CAF)が分泌するニッチ因子によってPDOの表現型が維持されることが示され、高分化型PDOはニッチ依存性と相関してメバロン酸経路関連遺伝子の発現をアップレギュレーションしていることも示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、PSCのERAP2は小胞体由来のオートファジーを介してPSCの活性化も制御し、ひいては腫瘍増大と線維化レベルを抑制していることが示唆された。以上からは、ERAP2が膵癌治療に対する有望な治療標的となり得るといえる。

加えてPDOを用いた検討では、TMEにおけるCAF由来のニッチ因子がPDOの分化型を維持しており、高分化型PDOはニッチ依存性と相関してアップレギュレートされる経路があることが示された。このことは、新たな膵癌サブタイプ分類ベースの治療戦略の開発の必要性を訴える結果といえる。

研究成果の概要(英文)：By comparing pancreatic stellate cells (PSCs) derived from patients with pancreatic cancer and chronic pancreatitis, we were able to demonstrate at the in vitro / vivo level that suppressing ERAP2, which was upregulated in cancer-derived PSCs, can convert tumor-promoting PSCs to a quiescent state, resulting in suppressing tumor growth and fibrosis levels. Furthermore, the effects of the tumor microenvironment (TME) on pancreatic organoids (PDOs) were examined, and it was shown that the PDO phenotype is maintained by niche factors secreted by cancer-associated fibroblasts (CAFs), and that well differentiated PDOs were also shown to upregulate the expression of mevalonic acid pathway-related genes in correlation with niche dependence.

研究分野：医歯薬学

キーワード：膵癌 腫瘍微小環境 膵星細胞 オルガノイド

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

膵癌は、本邦における癌関連死の第4位の疾患で、3年生存率は15.1%と部位別では最も低く(国立がんセンター, 2018)予後不良である。積極的な研究にも関わらず近年10年で生存率の改善はほとんどみられておらず、膵癌の新規治療法の開発は喫緊の課題である。

膵癌は desmoplasia と呼ばれる過剰な癌間質増生を特徴としており、膵癌の間質において主要な成分の1つが膵星細胞(Pancreatic stellate cells; PSC)である。正常膵で静止状態のPSCは、膵が傷害を負うと活性化し、 α SMA を発現して増殖、遊走し、過剰な細胞外マトリックス(Extra cellular matrix; ECM)タンパクを分泌する(Apte MV, J Gastroenterol Hepatol, 2012)。膵癌ではECMの生成と分解が不均衡となり、高密度な線維形成性間質が生成される。こうして形成された間質組織と膵臓癌細胞との間のクロストークによって腫瘍増殖、転移および薬剤耐性が促進される(Tang D, Int J Cancer, 2013)ことや、PSCがコラーゲン線維の配列を3次的に調整することにより膵癌細胞移動を促進する(Drifka CR, Biomed Microdevices, 2016)ことが報告されている。以上からPSCの変化により形成された腫瘍微小環境(Tumor microenvironment; TME)が膵癌の予後を厳しいものとしていられる。

一方、本研究代表者らはこれまでに、PSCにheterogeneityが存在することを世界に先がけて報告(Ikenaga, Gastroenterology, 2010)し、PSCの中にも腫瘍抑制的に機能するPSCが存在する(Zheng, Mol Carcinog, 2015)ことを明らかにしてきた。それゆえ、腫瘍促進性と抑制性の2面性を持つPSCを含め、TMEを理解し癌間質相互作用を制御することが膵癌治療の新たな治療戦略を検討する上で極めて重要な意味を持つと考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、PSCおよび間質を、腫瘍支持・進展性から腫瘍抑制性へと誘導するスイッチング機構を解明し、TMEをreprogrammingすることにより膵癌進展を制御する、という新たな膵癌治療戦略を開発することを目的とした。

3. 研究の方法

1. 腫瘍促進性・抑制性PSCの同定

膵癌患者由来PSCと、その他の患者由来のPSCを形態学的、発現遺伝子レベルで比較を行い、その違いを同定する。

2. 腫瘍促進性PSCから腫瘍抑制性PSCの誘導

in vitro, in vivo で、1.で同定した因子に伴うPSCの形態的、機能的変化を実証する。

3. TMEが膵癌細胞へもたらす影響の検討

当研究室で樹立した膵オルガノイド(PDO)を用いて、上記で同定した因子が改変したPSCを含むTMEがオルガノイドにもたらす変化を検討する。

4. 研究成果

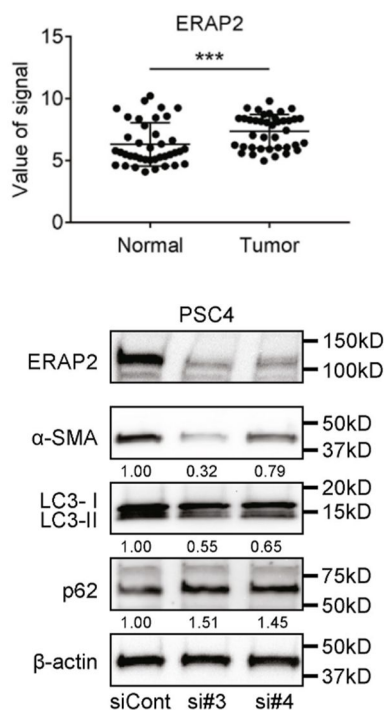
1. 腫瘍促進性・抑制性PSCの同定

膵癌患者と慢性膵炎患者由来のPSCを形態学的に比較したところ、膵炎由来のPSCは球状で脂肪滴が多く、紡錘形の膵癌由来PSCとは異なっていた。オートファジーとコラーゲンのレベルは、膵炎由来PSCよりも癌関連PSCの方が高く、癌関連PSCの活性化レベルが高いことを示唆していると考えられた。更に遺伝子発現マイクロアレイ分析を行ったところ、癌関連PSCにおいては小胞体アミノペプチダーゼ2(ERAP2)がアップレギュレートされていることが確認された。

2. 腫瘍促進性PSCから腫瘍抑制性PSCの誘導

PSCでErap2をノックダウンしたところ、mRNAレベルとタンパク質レベル双方で α -SMA発現を含むPSC活性化マーカーの発現低下が観察され、PSCが静止状態へ変換されたと考えられた。加えて、LC3-IIのレベルの低下とp62のレベルの上昇も見られた。

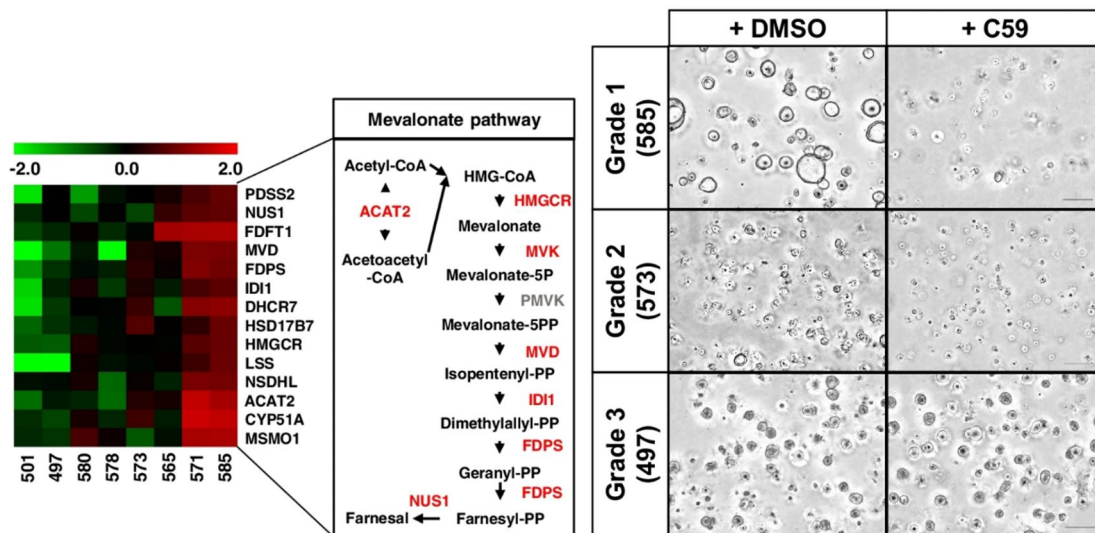
PSCでErap2をノックダウンすることでPSCからのフィブロネクチンの産生およびインターロイキン6の分泌が減少し、それにより、膵臓癌細胞の浸潤性に対するPSCの促進効果が弱められることを示した。同所性モデルでは、PSCのErap2ノックダウンは、Erap2ノックダウンのないPSCの同



時移植と比較して、異種移植腫瘍の成長と線維化レベルを抑制した。以上より、PSC のオートファジーは Erap2 によって制御されており、Erap2 は ER 由来のオートファジーを介して PSC の活性化も制御していることが示唆された。

3. TME が隣細胞へもたらす影響の検討

PDO の分化型は癌関連線維芽細胞が分泌するニッチ因子によってその表現型が維持されることが示され、高分化型 PDO はニッチ依存性と相関してメバロン酸経路関連遺伝子の発現をアップレギュレーションしていることも示された。



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 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shinkawa Tomohiko, Ohuchida Kenoki, Mochida Yuki, Sakihama Kukiko, Iwamoto Chika, Abe Toshiya, Ideno Noboru, Mizuuchi Yusuke, Shindo Koji, Ikenaga Naoki, Moriyama Taiki, Nakata Kohei, Oda Yoshinao, Nakamura Masafumi	4. 巻 41
2. 論文標題 Subtypes in pancreatic ductal adenocarcinoma based on niche factor dependency show distinct drug treatment responses	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Clinical Cancer Research	6. 最初と最後の頁 89
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13046-022-02301-9	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 -

1. 著者名 Guan Weiyu, Nakata Kohei, Sagara Akiko, Iwamoto Chika, Endo Sho, Matsuda Ryota, Matsumoto Sokichi, Ikenaga Naoki, Shindo Koji, Moriyama Taiki, Onishi Hideya, Ohuchida Kenoki, Oda Yoshinao, Nakamura Masafumi	4. 巻 22
2. 論文標題 ERAP2 is a novel target involved in autophagy and activation of pancreatic stellate cells via UPR signaling pathway	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pancreatology	6. 最初と最後の頁 9~19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pan.2021.09.012	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5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 新川智彦、大内田研宙、持田郁己、小山虹輝、林昌孝、松本奏吉、岩本千佳、進藤幸治、池永直樹、仲田興平、中村雅史
2. 発表標題 分化型膵癌は癌関連線維芽細胞由来の微小環境因子に依存して分化度を保持している
3. 学会等名 第52回日本膵臓学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 新川智彦、大内田研宙、持田郁己、奥田翔、大坪慶志輝、岩本千佳、進藤幸治、池永直樹、仲田興平、中村雅史
2. 発表標題 膵癌における癌関連線維芽細胞由来の微小環境因子が腫瘍分化度に与える影響についての検討
3. 学会等名 第76回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 相良亜希子、仲田興平、鐘坪杉、池永直樹、大内田研宙、水元一博、中村雅史
2. 発表標題 抗ヒスタミン薬Azelastinelは隣星細胞の活性化を抑制する
3. 学会等名 第57回九州外科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 新川智彦、大内田研宙、中村祥一、久野恭子、奥田翔、大坪慶志輝、進藤幸治、池永直樹、森山大樹、永井俊太郎、仲田興平、中村雅史
2. 発表標題 癌関連線維芽細胞が膵癌分化度に与える影響についての検討
3. 学会等名 第57回九州外科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shinkawa T, Ohuchida K, Iwamoto C, Shindo K, Nakata K, Ohtsuka T, Nakamura M
2. 発表標題 Subtype classification of pancreatic ductal adenocarcinoma based on microenvironmental niche factors dependency and chemotherapy resistance
3. 学会等名 14th World Congress of International Hepeto-Pancreato-Biliary Association (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
研究協力者	新川 智彦 (SHINKAWA Tomohiko)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	相良 亜希子 (SAGARA Akiko)		

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