

令和 6 年 5 月 8 日現在

機関番号：82406

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06958

研究課題名(和文) 癌関連線維芽細胞で発現するADAM9を標的とした治療法構築と新規標的分子の探索

研究課題名(英文) Construction of therapeutic methods targeting ADAM9 expressed in cancer-related fibroblasts and search for new target molecules

研究代表者

望月 早月 (Mochizuki, Satsuki)

防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・外科学・講師)

研究者番号：80365428

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)：当教室では、癌細胞が浸潤する際に癌関連線維芽細胞(CAFs)などの間質細胞により形成される線維性癌間質反応(DR, desmoplastic reaction)に着目し、発集のDRをImmature、Intermediate、Matureの3群に分類するDR分類が予後予測因子として有用であることを提唱している。その分子メカニズムを解明するために、本研究では、Immature症例由来CAFsにおけるADAM9sの発現が増強しており、これを介して癌細胞の細胞増殖能及び細胞遊走能が亢進し、Immature症例患者の予後不良に関与していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究による研究成果は、「Cancer-associated fibroblasts at the unfavorable desmoplastic stroma promote colorectal cancer aggressiveness」のタイトルでInt J Cancer 15: 1706-1721, 2022 誌に責任著者として発表し、本論文は2022年度日本結合組織学会大高賞を受賞した。

研究成果の概要(英文)：Desmoplastic reaction (DR), which is morphologically classified to Mature, Intermediate and Immature types, is correlated with patient prognosis. Conditioned media of CAFs from tumor with Immature type DR (CAFImmature) significantly increased proliferation and migration of CRC cells compared to those of CAFs from Mature-type DR (CAFsmature). Subcutaneous implantation of CRC cells together with CAFImmature in mice significantly promoted tumor growth and peritoneal dissemination compared to those with CAFsmature. Systematic examination indicated that ADAM9s expression is significantly higher in CAFImmature than in CAFsmature. Knockdown of ADAM9s in CAFImmature suppressed the promoting effects on CRC cell proliferation and migration. ADAM9s overproduced by CAFImmature has been suggested to promote CRC cell proliferation and migration, suggesting an impact on poor prognosis of patients with Immature-type DR.

研究分野：癌微小環境

キーワード：ADAM ECM 癌微小環境 癌関連線維芽細胞 線維性癌間質反応

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

申請者が所属する教室では、がん関連線維芽細胞 (Cancer-associated fibroblasts: CAF) が産生する癌先進部の細胞外マトリックス (extracellular matrix: ECM) 組織構造を診断基準とし、類粘液性間質と不規則な膠原線維を特徴とする Immature 型、類粘液性間質を認めずケロイドで出現するヒアリン化膠原線維が存在する Intermediate 型、繊細な膠原線維が配列した線維性構造からなる Mature 型に分類し (Desmoplastic reaction: DR 分類)、予後との関係性を検討した。その結果、手術後の予後は Mature 型症例で最も良好で、Intermediate 型、Immature 型の順に不良となることを明らかにしている (Ueno H, et al. Gut 53: 581-586, 2004; Ueno H et al. Am J Surg Pathol. 41: 1506-1512, 2017)。本分類は大腸癌浸潤先端部間質の線維成分の質を基準に評価する方法であり、予後因子となるだけでなく、従来の臨床病理学的因子を凌ぐ独立した再発リスク因子であり、HE 染色標本で簡便に診断できる新規治療指標である。本分類による予後データは多施設研究においても確かめられており (Ueno H et al. Am. J. Surg. Pathol. 41: 1506-1512, 2017; Nearchou IP et al. Am. J. Surg. Pathol.;43: 1239-1248,2019)、本分類は Japan Clinical Oncology Group (日本臨床腫瘍研究グループ) の無作為ランダム化比較試験 (JCOG1805) での再発リスク症例選別因子として用いられている。しかし、ECM の構成分子やその分子機構は不明である。

2. 研究の目的

本研究では DR の形成機序や予後因子となる理由を調べるため Immature 型 CAF で高発現する ADAM9 (A disintegrin and metalloproteinase 9) に着目し、ADAM9 の発現や活性阻害により CAF と共培養した大腸癌細胞株や大腸癌オルガノイドの細胞増殖・転移抑制効果をマウスモデルで検討する。また、Immature 型大腸癌間質に特異的に発現する機能分子を探索し、大腸癌の治療標的分子となる可能性について検討する。

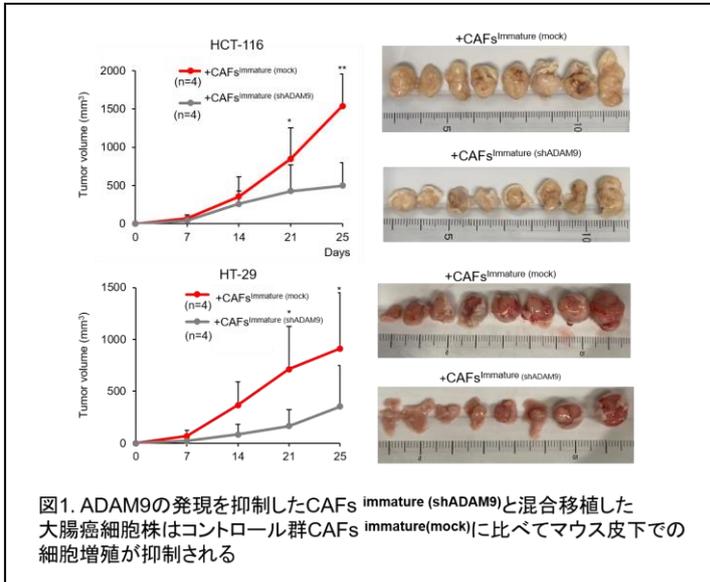
3. 研究の方法

本研究では、以下の 3 研究方法を用いて研究を進めた。

- (1) Immature 由来CAFでのADAM9の発現抑制や阻害剤を用いて大腸癌細胞や大腸癌オルガノイドとCAF混合移植による癌細胞増殖・転移抑制の治療効果の検討。
- (2) 大腸癌DR分類を指標にしたプロテオミクス法での網羅的・包括的な新規治療標的分子の探索。
- (3) DR分類別CAF自体の増殖能と転移能の解析。

4. 研究成果

大腸癌手術切除検体からがん関連線維芽細胞 (Cancer-associated fibroblasts : CAFs) や大腸癌オルガノイドを培養し、CAFs で発現する ADAM 分子について RT-PCR 法、real-time PCR 法、イムノブロット法を用いて DR 分類別に比較検討した。その結果、13 種類あるメタロプロテアーゼ型 ADAM 分子の中で、分泌型の ADAM9s は mature 症例に比べて immature 症例から採取した CAFs において有意に高発現していた。mature 症例と比較し immature 症例から採取した CAFs の培養上清と共培養した大腸癌細胞株 (HCT-116, HT-29) や大腸癌オルガノイドは増殖能、遊走能、細胞内 extracellular signal-regulated kinases 1/2(ERK 1/2)のリン酸化が有意に促進され、shRNA を用いた CAFs での ADAM9s の発現抑制により HCT-116 と HT-29 の増殖能、遊走能、ERK1/2 のリン酸化が



抑制された。さらに mature 症例と比較し immature 症例から採取した CAFs (CAF_Simmature)を Luciferase と Venus 融合遺伝子を導入した HCT-116^{ffLuc-cp156} や HT-29^{ffLuc-cp156} とヌードマウスの盲腸漿膜下層に混合移植した場合、有意に増殖が亢進し腹膜播種が高度に形成された。shRNA を用いて ADAM9 の発現を抑制した CAF_S immature と HCT-116^{ffLuc-cp156} や HT-29^{ffLuc-cp156} の混合移植では、癌細胞の増殖が抑制された Int J Cancer 15: 1706-1721, 2022 (図 1)。

DR の形態的変化は CAFs における ADAM9s の発現と関連しており、ADAM9s は大腸癌細胞の細胞増殖と遊走を促進し癌悪性度へ影響を及ぼしていると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yusuke Ishibashi, Satsuki Mochizuki *, Keisuke Horiuchi, Hironori Tsujimoto, Keita Kouzu, Yoji Kishi, Yasunori Okada and Hideki Ueno	4. 巻 1869
2. 論文標題 Periostin derived from cancer-associated fibroblasts promotes esophageal squamous cell carcinoma progression via ADAM17 activation.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 BBA-Molecular Basis of Disease	6. 最初と最後の頁 166669
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbadis.2023.166669	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 Keita Kouzu, Yoshiki Kajiwara, Hironori Tsujimoto, Satsuki Mochizuki, Koichi Okamoto, Eiji Shinto, Yoji Kishi, Susumu Matsukuma and Hideki Ueno:	4. 巻 in press
2. 論文標題 Prognostic impact of desmoplastic reaction in esophageal squamous cell carcinoma patients with neoadjuvant therapy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Esophagus	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10388-023-00996-z	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 Ao T, Mochizuki S, Kajiwara Y, Yonemura K, Shiraishi T, Nagata K, Shinto E, Okamoto K, Nearchou IP, Shimazaki H, Kishi Y, Okada Y, Ueno H	4. 巻 150
2. 論文標題 Cancer-associated fibroblasts at the unfavorable desmoplastic stroma promote colorectal cancer aggressiveness: Potential role of ADAM9	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Cancer	6. 最初と最後の頁 1706-1721
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ijc.33947	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 該当する
1. 著者名 Cilek MZ, de Vega S, Shiozawa J, Yoshinaga C, Miyamae Y, Chijiwa M, Mochizuki S, Ito M, Kaneko H, Kaneko K, Ishijima M, Okada Y.	4. 巻 102
2. 論文標題 Synergistic upregulation of ADAMTS4 (aggrecanase-1) by cytokines and its suppression in knee osteoarthritic synovial fibroblasts	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Lab Invest	6. 最初と最後の頁 102-111
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41374-021-00685-4.	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 該当する

1. 著者名 Nagata K, Shinto E, Shiraishi T, Yamadera M, Kajiwara Y, Mochizuki S, Okamoto K, Einama T, Kishi Y, Ueno H.	4. 巻 28
2. 論文標題 Mesothelin Expression is Correlated with Chemoresistance in Stage IV Colorectal Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ann Surg Oncol .	6. 最初と最後の頁 8579-8586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-021-10507-y	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 Ishibashi Y, Tsujimoto H, Sugasawa H, Mochizuki S, Okamoto K, Kajiwara Y, Shinto E, Takahata R, Kobayashi M, Fujikura Y, Hase K, Kishi Y, Ueno H.	4. 巻 83
2. 論文標題 How has the COVID-19 pandemic affected gastrointestinal surgery for malignancies and surgical infections?	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nagoya J Med Sci .	6. 最初と最後の頁 715-725
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18999/nagjms.83.4.715	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 Sueyama T, Kajiwara Y, Mochizuki S, Shimazaki H, Shinto E, Hase K, Ueno H	4. 巻 478
2. 論文標題 Periostin as a key molecule defining desmoplastic environment in colorectal cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Virchows Arch	6. 最初と最後の頁 865-874
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00428-020-02965-8	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4件 (うち招待講演 1件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Satsuki Mochizuki
2. 発表標題 ADAM9s and periostin derived from cancer-associated fibroblasts are involved in alimentary tract cancer progression
3. 学会等名 2022 Korea-Japan Joint Symposium on Matrix Biology (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 望月早月
2. 発表標題 大腸癌線維性癌間質反応におけるメタロプロテアーゼADAM9の役割
3. 学会等名 第26回日本病態プロテアーゼ学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 望月早月、石橋勇輔、堀内圭輔、辻本広紀、岸庸二、岡田保典、上野秀樹
2. 発表標題 食道扁平上皮癌のがん関連線維芽細胞(CAFs)はPeriostinを分泌して癌細胞の増殖・遊走を促進する
3. 学会等名 第112回日本病理学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 望月早月、川内隆幸、米村圭介、梶原由規、阿尾理一、岡田保典、上野秀樹
2. 発表標題 ADAM12による大腸癌低分化胞巣形成機構の解析と治療への応用
3. 学会等名 第34回日本消化器癌発生学会総会(招待講演)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 望月早月、岡田保典	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 6
3. 書名 別冊医学のあゆみ 臓器線維症を科学するー病態解明と治療法開発への展望	

1. 著者名 望月早月	4. 発行年 2021年
2. 出版社 シーピーアール	5. 総ページ数 4
3. 書名 これだけは読んでおきたい消化器外科医のための重要論文223篇	

〔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 分 担 者	上野 秀樹 (Ueno Hideki) (90597535)	防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、 動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・外科 学・教授 (82406)	

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