

令和 6 年 5 月 23 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07907

研究課題名(和文) 腸内細菌叢による免疫・神経シグナルを介した膵臓癌進展機序の解明

研究課題名(英文) Analysis of the mechanism of pancreatic cancer progression via immune nerve signaling regulated by gut microbiota

研究代表者

高橋 良太 (Takahashi, Ryota)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80647660

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)：慢性膵炎からの膵臓癌の発癌機序について、腫瘍における免疫細胞や神経シグナルによる影響がどの程度関与しているのか、またそうした腫瘍の微小環境における変化が腸内細菌によって影響を受けているのかについて遺伝子改変マウスモデルを用いて研究を行なった。慢性膵炎による発癌モデルマウスの腸内細菌叢には特徴的な変化が認められており、交感神経の発達及び交感神経シグナルによる腫瘍進展の促進、抗腫瘍免疫の抑制が認められた。腸内細菌への介入により慢性膵炎からの発癌リスクを低下させることができ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

慢性膵炎は膵臓癌の危険因子として知られているが、慢性膵炎からの発癌機序や危険因子、発癌予防の方法については明らかになっていない。本研究では腸内細菌叢や腫瘍内の交感神経シグナルという新しい視点から研究を行い、腸内細菌叢への介入により抗腫瘍免疫の低下や交感神経シグナルを介した発癌を抑制できる可能性が示唆された。これは慢性膵炎のコントロールや慢性膵炎からの発癌抑制法の新規開発につながる可能性のある研究成果であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We conducted research to elucidate the mechanism of pancreatic cancer development from chronic pancreatitis, in relation to immune cells and nerve signaling in the tumor microenvironment utilizing genetically modified mouse models. We also analyzed the effect of gut microbiota on tumor microenvironment. We found distinct pattern of microbiota, tumor innervation by sympathetic neuron, tumor progression and anti-tumor immune suppression by sympathetic signaling in the mouse model of pancreatic cancer with chronic pancreatitis. Intervention to gut microbiota suppressed tumor development in the mouse model with chronic pancreatitis, suggesting the possibility of a novel prevention therapy.

研究分野：消化器内科学

キーワード：膵臓癌 腸内細菌叢 神経

1. 研究開始当初の背景

膵癌は日本における癌死の第4位であり、5年生存率は約10%と予後不良である。症例数も増加を続けており、膵臓癌の予後改善は重要な課題となっている。慢性膵炎は膵臓癌の主要な危険因子の一つとして知られているが、慢性膵炎による膵発癌促進の詳細な機序は明らかになっていない。研究代表者らはこれまでの研究において、慢性膵炎を背景とした発癌マウスモデルを作成し抗腫瘍免疫との関連について報告している。またこのマウスモデルにおいて腫瘍内に著明な神経組織の発達を認めており、慢性膵炎と神経増殖との関連が示唆されている。膵臓癌において交感神経シグナルは腫瘍の進展に寄与することが報告されており、慢性膵炎による腫瘍内神経の増殖が慢性膵炎及び膵臓癌の発生進展に寄与すると考えられた。また特定の腸内細菌叢は膵癌の進展を促進することが報告されており、研究代表者らのマウスモデルにおいても腸内滅菌を行うことで腫瘍進展が抑制されることから腸内細菌叢と慢性膵炎や神経シグナルとの関連を介した腫瘍進展機序の存在が示唆された。

2. 研究の目的

慢性膵炎は膵臓癌の危険因子として知られており、マウスでも様々な方法で急性及び慢性膵炎を誘導することにより変異型 Kras を発現する膵上皮細胞からの発癌が促進されることが知られているが、膵炎により膵発癌が促進される詳細な機序は明らかになっておらず、慢性膵炎患者における有効な膵癌予防の方法も見いだされていない。

研究代表者らは独自に開発した慢性膵炎マウスモデルに変異型 Kras の発現を組み合わせる膵腫瘍の発生進展を促進するモデルを作成したが、このマウスでは抗腫瘍免疫の抑制が見られており、また腫瘍内に神経組織の著明な発達が認められる点が特徴的であった。

交感神経を始めとする神経シグナルが多く、癌の発生・進展に促進的に働くことが近年の研究によって明らかになって来ている[1, 2]。我々は膵臓癌においても腫瘍内に神経の増生が認められることを見出し、膵臓癌において交感神経アドレナリンシグナルが膵臓癌を進展させ、副交感神経ムスカリンシグナルは抑制していることを報告した[3, 4]。腫瘍内神経と腫瘍細胞の間には神経栄養因子を介した相互作用が認められる一方で、腫瘍内神経の発達過程における炎症などの腫瘍微小環境の影響については明らかになっていない。アドレナリン受容体はT細胞、B細胞を始めとする免疫細胞にも発現することが知られており、アドレナリンシグナルが抗腫瘍免疫を抑制する可能性も指摘されている[5]が、膵臓癌におけるアドレナリンシグナルの抗腫瘍免疫への影響については明らかになっていない。これらの点から慢性膵炎において発達している神経組織と免疫細胞浸潤は密接に関連している可能性が考えられ、神経シグナルによって慢性膵炎が制御されている可能性も考えられる。

腸内細菌叢と膵臓癌との関連については、膵臓癌を持つマウスの便を他のマウスに移植すると癌の進展が促進されることが報告されている[6]ことから、腸内細菌叢への介入は膵臓癌の予防治療となりうるということが示唆されている。我々の検討では腸内細菌が慢性膵炎の重症度や、それに伴う腫瘍進展に影響を及ぼしていることが示唆されており、腸内細菌叢のコントロールによって慢性膵炎からの膵臓癌の発生を予防できる可能性が示唆されている。

本研究の目的は腸内細菌叢と慢性膵炎との間にある相互作用を解明し、腸内細菌叢に介入することで慢性膵炎、さらに膵発癌のコントロールが可能であるかを検証すること、さらに慢性膵炎において膵臓癌の発生・進展が促進される機序を解明することである。前者の腸内細菌叢から慢性膵炎への影響については原因となる細菌の特定し、後者の慢性膵炎からの発癌における機序においては特に腫瘍内神経の役割を解明することで、より詳細な発癌機序の解明を目指しており、それにより慢性膵炎患者における膵臓癌発生を抑制するための予防的治療の確立を目指している。

3. 研究の方法

まず膵炎により誘導される腫瘍内神経が腫瘍進展に関わっているかを明らかにするため、まずマウスモデルで認められる腫瘍内神経が交感神経であるかどうかを組織学的に検討し、さらに交感神経の阻害薬を投与して治療効果を確認する。

腸内細菌の変化が膵炎や膵臓癌に与える影響について検討するため、膵炎マウスの便を膵炎のないマウスに移植しレシピエントの膵臓に与える影響について検討する。またその際に組織学的評価や免疫学的評価を追加し、神経や免疫細胞への影響についても検討する。

我々の少数例の検討では、慢性膵炎は腸内細菌叢に影響を及ぼすことが示唆されている。また慢性膵炎マウスと慢性膵炎からの発癌モデルマウスでは異なる腸内細菌叢を持つことが示唆されていることから、それぞれの病態を促進する腸内細菌叢の存在も示唆されている。そこで 16S rRNA シークエンスにより、膵炎によってマウスモデルの腸内細菌叢がどのように変化するのか、特にどのような細菌が増えているのかという点について検討する。

4. 研究成果

慢性膵炎からの発癌マウスモデル(LSL- KrasG12D;Pdx1-Cre;Elastase-IL-1beta マウス, KCI マウス)においては腫瘍内神経の増生が認められ、交感神経マーカーである tyrosine hydroxylase が陽性であったことから交感神経であることが示唆された。免疫細胞浸潤についてフローサイトメトリーで解析したところ MDSC などの免疫抑制性細胞が増加しており抗腫瘍免疫の低下が示唆された。このマウスの便を膵炎のないマウス(LSL- KrasG12D;Pdx1-Cre マウス, KC マウス)に移植したところ膵炎の悪化と膵腫瘍の進展促進が見られた。この膵腫瘍における交感神経の増生や免疫細胞浸潤の増加も認められた。このことから疾患特異的な腸内細菌叢が腫瘍内の神経や免疫環境に作用することで腫瘍進展に影響している機序が示唆された。KCI マウスに抗生物質を投与して腸管滅菌を行ったところ膵炎及び膵腫瘍の進展は抑制された。16S rRNA シークエンスの結果では、Elastase-IL1beta マウスと KCI マウスに共通して増加する細菌群がある一方、どちらかの群にのみ増加が認められる細菌群も認められた。このことから、KCI マウスの腸内細菌叢における変化は慢性膵炎による作用と変異型 Kras 等による作用が複合的に働いていることが示唆された。

KCI マウスに対して慢性膵炎を背景とした膵腫瘍進展機序における交感神経シグナルの寄与を明らかにするため、アドレナリン受容体の阻害薬をこのマウスに投与して抗腫瘍効果、免疫細胞浸潤への影響を解析した。アドレナリン受容体阻害薬で治療したマウスの膵腫瘍の進展は対照と比較して抑制されており、またフローサイトメトリーによる解析において膵腫瘍における免疫細胞浸潤が減少していた。特に腫瘍免疫に関わる複数の細胞種の減少が認められ、慢性膵炎による膵腫瘍進展機序における交感神経シグナルを介した腫瘍免疫抑制機序の存在が示唆された。さらにこのマウスモデルに対して抗 PD-1 抗体と抗 CTLA4 抗体を用いた免疫チェックポイント阻害治療を行なったところ腫瘍抑制効果が認められた。これらの結果から、慢性膵炎からの発癌過程においては抗腫瘍免疫の低下は腫瘍進展を促進しており、治療標的となりうることを示唆された。

これらの結果から、腸内細菌叢による免疫細胞や交感神経を介した慢性膵炎の悪化と発癌促進機序が示唆され、腸内細菌叢への介入に加えて免疫細胞や交感神経シグナルを標的とした発癌予防治療の可能性が示唆された。

<引用文献>

- 1 Magnon C, Hall SJ, Lin J, Xue X, Gerber L, Freedland SJ, *et al.* Autonomic nerve development contributes to prostate cancer progression. *Science* 2013;**341**:1236361.
- 2 Hayakawa Y, Sakitani K, Konishi M, Asfaha S, Niikura R, Tomita H, *et al.* Nerve Growth Factor Promotes Gastric Tumorigenesis through Aberrant Cholinergic Signaling. *Cancer Cell* 2017;**31**:21-34.
- 3 Renz BW, Takahashi R, Tanaka T, Macchini M, Hayakawa Y, Dantes Z, *et al.* beta2 Adrenergic-Neurotrophin Feedforward Loop Promotes Pancreatic Cancer. *Cancer Cell* 2018;**33**:75-90 e7.
- 4 Renz BW, Tanaka T, Sunagawa M, Takahashi R, Jiang Z, Macchini M, *et al.* Cholinergic Signaling via Muscarinic Receptors Directly and Indirectly Suppresses Pancreatic Tumorigenesis and Cancer Stemness. *Cancer Discov* 2018;**8**:1458-73.
- 5 Mohammadpour H, MacDonald CR, Qiao G, Chen M, Dong B, Hylander BL, *et al.* beta2 adrenergic receptor-mediated signaling regulates the immunosuppressive potential of myeloid-derived suppressor cells. *J Clin Invest* 2019;**129**:5537-52.
- 6 Pushalkar S, Hundeyin M, Daley D, Zambirinis CP, Kurz E, Mishra A, *et al.* The Pancreatic Cancer Microbiome Promotes Oncogenesis by Induction of Innate and Adaptive Immune Suppression. *Cancer Discov* 2018;**8**:403-16.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Kato Hiroyuki, Tateishi Keisuke, Iwadate Dosuke, Yamamoto Keisuke, Fujiwara Hiroaki, Nakatsuka Takuma, Kudo Yotaro, Hayakawa Yoku, Ijichi Hideaki, Otsuka Motoyuki, Kishikawa Takahiro, Takahashi Ryota, Miyabayashi Koji, Nakai Yousuke, Hirata Yoshihiro, Toyoda Atsushi, Morishita Shinichi, Fujishiro Mitsuhiro | 4. 巻 114 |
| 2. 論文標題 HNF1B driven three dimensional chromatin structure for molecular classification in pancreatic cancers | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Cancer Science | 6. 最初と最後の頁 1672 ~ 1685 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15690 | 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 Kato Hiroyuki, Tateishi Keisuke, Fujiwara Hiroaki, Nakatsuka Takuma, Yamamoto Keisuke, Kudo Yotaro, Hayakawa Yoku, Nakagawa Hayato, Tanaka Yasuo, Ijichi Hideaki, Otsuka Motoyuki, Iwadate Dosuke, Oyama Hiroki, Kanai Sachiko, Noguchi Kensaku, Suzuki Tatsunori, Sato Tatsuya, Hakuta Ryunosuke, Takahashi Ryota, et al. | 4. 巻 162 |
| 2. 論文標題 MNX1-HNF1B Axis Is Indispensable for Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm Lineages | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Gastroenterology | 6. 最初と最後の頁 1272 ~ 1287.e16 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1053/j.gastro.2021.12.254 | 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 Middelhoff Moritz, Valenti Giovanni, Tomassoni Lorenzo, Ochiai Yosuke, Belin Bryana, Takahashi Ryota, Malagola Ermanno, Nienhuser Henrik, Finlayson Michael, Hayakawa Yoku, Zamechek Leah B., Renz Bernhard W., Westphalen C. Benedikt, Quante Michael, Margolis Kara G., Sims Peter A., Laise Pasquale, Califano Andrea, et al. | 4. 巻 322 |
| 2. 論文標題 Adult enteric Dclk1-positive glial and neuronal cells reveal distinct responses to acute intestinal injury | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology | 6. 最初と最後の頁 G583 ~ G597 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpgi.00244.2021 | 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 Jiang Zhengyu, Wu Feijing, Laise Pasquale, Takayuki Tanaka, Na Fu, Kim Woosook, Kobayashi Hiroki, Chang Wenju, Takahashi Ryota, Valenti Giovanni, Sunagawa Masaki, White Ruth A., Macchini Marina, Renz Bernhard W., Middelhoff Moritz, Hayakawa Yoku, Dubeykovskaya Zinaida A., Tan Xiangtian, et al. | 4. 巻 30 |
| 2. 論文標題 Tff2 defines transit-amplifying pancreatic acinar progenitors that lack regenerative potential and are protective against Kras-driven carcinogenesis | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Cell Stem Cell | 6. 最初と最後の頁 1091 ~ 1109.e7 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stem.2023.07.002 | 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 |
|-------|--|--|----|
| 研究分担者 | 伊地知 秀明 (Ijichi Hideaki) (70463841) | 東京大学・医学部附属病院・講師 (12601) | |

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 |
|---------|---------|
| | |