

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15956

研究課題名（和文）膵星細胞の細胞老化を介した膵癌制御機構の解明と新規治療薬の開発

研究課題名（英文）Elucidation of the regulatory mechanism of pancreatic cancer and development of novel therapeutic agents through cellular senescence of pancreatic stellate cells

研究代表者

滝川 哲也（Tetsuya, Takikawa）

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：70836882

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：ヒト膵星細胞（hPSC）を過酸化水素とゲムシタピンで処理し、老化hPSCを作成した。老化hPSCの培養上清処理で、膵癌細胞の増殖能・遊走能・浸潤能が増強された。老化・非老化hPSC間で遺伝子プロファイルと比較するとCXCL1、CXCL2、CXCL3といったケモカイン類の上昇が確認できた。これらケモカイン類の阻害剤は、老化hPSC培養上清による膵癌細胞への増殖能・遊走能・浸潤能増強効果をキャンセルした。以上より、老化hPSCはケモカインなどを介して膵癌細胞の悪性度獲得に寄与する可能性が示された。今後は老化hPSCを選択的に死滅させるセノリティクス薬の探索を行っていく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵癌は早期診断が困難な上に化学療法や放射線療法の効果も限定的であるため、その5年生存率は10%にも満たない。膵星細胞（PSC）は膵癌周囲の線維性間質形成に中心的な役割を果たしている細胞である。PSCには癌促進的PSCとが癌抑制的PSCが存在することが明らかになってきており、癌促進的PSCを選択的に死滅させる薬剤の開発が求められている。近年、他の癌腫で癌周囲の老化細胞と癌細胞の制御機構の存在が報告されているが、PSCにおける細胞老化の意義は不明な点が多い。本研究は、老化PSCと膵癌細胞という新しい膵癌制御機構の解明とともに、老化PSCをターゲットとした全く新しい治療法への応用が期待される。

研究成果の概要（英文）：Human pancreatic stellate cells (hPSCs) were treated with hydrogen peroxide and gemcitabine to create senescent hPSCs. Treatment with the conditioned medium from senescent hPSCs enhanced the proliferation, migration, and invasion abilities of pancreatic cancer cells. A comparison of gene profiles between senescent and non-senescent hPSCs revealed an increase in chemokines such as CXCL1, CXCL2, and CXCL3. Inhibitors of these chemokines canceled the enhancing effects of the senescent hPSC conditioned medium on the proliferation, migration, and invasion abilities of pancreatic cancer cells. These findings suggest that senescent hPSCs may contribute to the acquisition of malignancy in pancreatic cancer cells via chemokines. We plan to search for senolytic drugs that selectively eliminate senescent hPSCs.

研究分野：膵がん

キーワード：膵癌 膵星細胞 細胞老化 がん微小環境

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

膵癌は早期診断が困難な上に化学療法や放射線療法の効果も限定的であるため、その5年生存率は10%にも満たない。膵癌予後改善のため、新しい機序による病態解明や治療法の開発が求められている。

膵星細胞は膵癌周囲の線維性間質形成に中心的な役割を果たしている細胞であり、膵星細胞と膵癌細胞の持続的な相互作用は癌に有利な微小環境を構築すると考えられている。一方、近年の報告で膵星細胞は膵癌抑制的な作用も持ち合わせていることが明らかとなってきている。この相反する作用は、膵星細胞の多様性に起因していると考えられており、膵癌周囲には癌の悪性化を促進する膵星細胞と、抑制する膵星細胞の両者が混在している可能性が示唆されている。

ヒト正常細胞を適切な条件で培養すると細胞分裂を繰り返し増殖していくが、細胞分裂の回数には限界がありいずれ細胞増殖が不可逆的に停止する。この現象を細胞老化と呼ぶ。近年、分裂限界を迎えていない細胞でも、過度の酸化ストレスや放射線などの要因で細胞老化様の変化が誘導されることが分かってきた。さらに、老化細胞はサイトカインや増殖因子を細胞外へ分泌するSASP (senescence-associated secretory phenotype) と呼ばれる表現型を獲得しており、癌と細胞老化の関連が注目されるようになってきた。実際に複数の癌腫で、癌の微小環境において細胞老化とSASP因子を介する癌制御機構の存在が報告されている。膵癌-膵星細胞相互作用においても同様の制御機構の存在が予想される。また、細胞老化は膵星細胞の多様性を表現する分子機構の一つである可能性がある。

申請者はこれまで膵癌細胞と膵星細胞の相互作用に注目し、膵癌進展に関わる分子機構を解明してきた。膵癌-膵星細胞相互作用における膵星細胞の多様性と、新しい膵癌制御機構の機序を解明すること、さらに老化星細胞をターゲットとしたこれまでにない新規治療薬の開発を目指して本研究を企画した。

2. 研究の目的

本研究は膵癌-膵星細胞相互作用による膵癌制御機構を、膵星細胞の細胞老化とSASPという新しい視点から解明するとともに、膵星細胞の細胞老化に着目した膵癌新規治療法の開発を目的としている。

3. 研究の方法

(1) ヒト膵星細胞を過酸化水素とゲムシタピンで処理し、細胞老化を誘導する。細胞老化の評価は細胞増殖能、一般的な老化マーカーであるSA- β -gal (senescence-associated beta-galactosidase)やp21、p53の発現変化で行う。

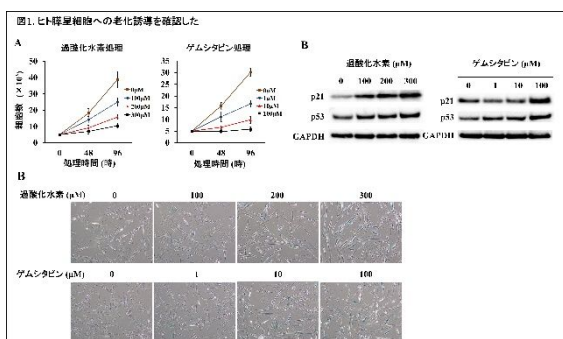
(2) 老化膵星細胞の培養上清を膵癌細胞株に添加し、BruDアッセイで増殖能、スクラッチアッセイで遊走能、トランスウェルアッセイで浸潤能の変化を評価する。

(3) 過酸化水素で処理した老化ヒト膵星細胞と非老化ヒト膵星細胞それぞれからトータルRNAを抽出し、遺伝子発現プロファイルをマイクロアレイにて網羅的に解析する。マイクロアレイの結果から、老化ヒト膵細胞と膵癌細胞の相互作用に影響するようなSASP因子候補を選定し、リアルタイムPCRでも発現上昇を確認する。また培養上清中に分泌されていることを確認するため、ELISA法にて培養上清中の濃度も測定する。

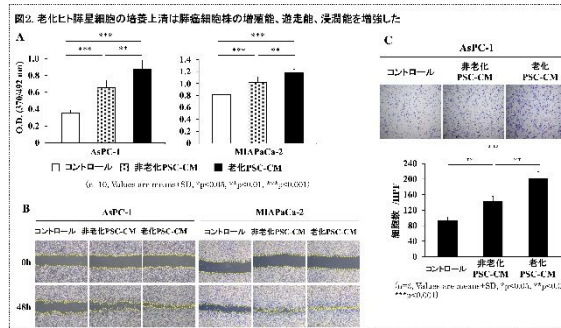
(4) 同定されたSASP因子に対する阻害剤を用いて、老化ヒト膵細胞の培養上清が膵癌細胞へ及ぼす効果がキャンセルされるか評価する。

4. 研究成果

(1) ヒト膵星細胞を過酸化水素とゲムシタピンで処理することで、濃度依存的に増殖能低下(図1A)青色で示されるSA- β -gal陽性細胞の増加、p21とp53の発現増加を認め(図1B)老化ヒト膵星細胞への誘導が確認された。

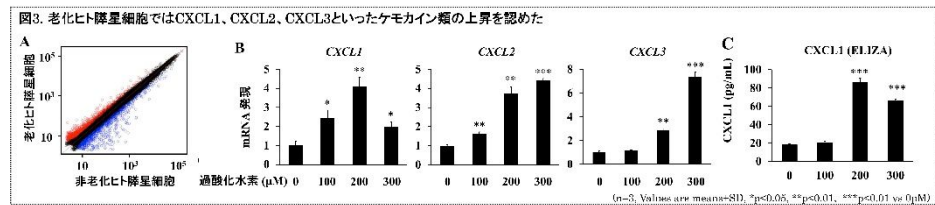


(2) 老化ヒト膵星細胞の膵癌細胞への影響を確認するため、非老化ヒト膵星細胞の培養上清（非老化 PSC-CM）と老化膵星細胞培養上清（老化 PSC-CM）を作成し、ヒト膵癌細胞株である AsPC-1 と MIAPaCa-2 へ添加した。BrdU アッセイで増殖能増強（図 2A）、スクラッチアッセイで遊走能増強（図 2B）、トランスセルアッセイで浸潤する細胞数の増加（図 2C）を認めた。

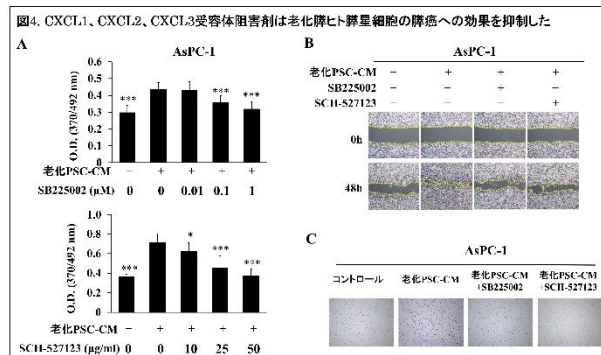


(3) マイクロアレイの結果から、老化ヒト膵星細胞において発現量が 2 倍以上上昇する遺伝子が 565 個、2 倍以上低下する遺伝子が 605 個同定された（図 3A）。上昇した遺伝子群の中で、共通の受容体を持つ CXCL1、CXCL2、CXCL3 に着目し、リアルタイム PCR でも老化ヒト膵星細胞で mRNA 発現が上昇することを確認した（図 3B）。

CXCL1 に関しては、ELISA 法で老化ヒト膵星細胞培養上清中に SASP 因子として分泌されていることを確認した（図 3C）。

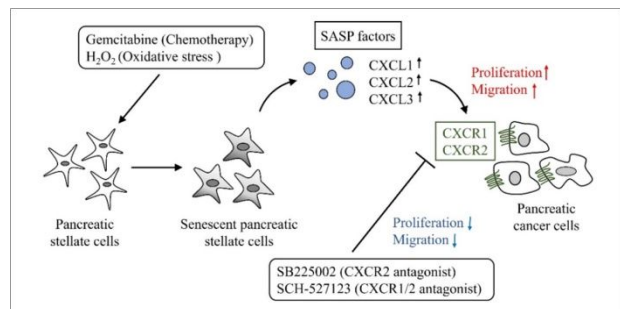


(4) CXCL1、CXCL2、CXCL3 共通の受容体である CXCR1/2 阻害剤の SCH-527123、CXCR1 阻害剤の SB225002 の、老化ヒト膵星細胞に対する効果を検証した。SCH-527123、SB225002 とともに老化ヒト膵星細胞培養上清による膵癌細胞の増殖能（図 4A）、遊走能（図 4B）、浸潤能（図 4C）増強効果をキャンセルした。



以上の結果からヒト膵星細胞は過酸化水素（酸化ストレス）やゲムシタピン（抗癌剤）で細胞老化が誘導され、CXCL1、CXCL2、CXCL3 といったケモカイン類を SASP 因子として分泌し、膵癌細胞の悪性度獲得に寄与することが示された（図 5）。

本研究から老化ヒト膵星細胞は癌促進的な働きを持つことが明らかとなり、老化ヒト膵星細胞は新しい治療標的になる可能性がある。今後は老化ヒト膵星細胞を選択的に死滅させるセノリティクス薬の探索を行っていく予定である。



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 Takikawa T, Hamada S, Matsumoto R, Tanaka Y, Kataoka F, Sasaki A, Masamune A.	4. 巻 23
2. 論文標題 Senescent Human Pancreatic Stellate Cells Secrete CXCR2 Agonist CXCLs to Promote Proliferation and Migration of Human Pancreatic Cancer AsPC-1 and MIAPaCa-2 Cell Lines	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 9275
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms23169275	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 滝川哲也, 濱田晋, 正宗淳
2. 発表標題 膵星細胞の細胞老化とSASPを介した 膵癌制御機構の解明
3. 学会等名 第108回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2022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
---------	---------