

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04933

研究課題名(和文) 膵癌微小環境reprogrammingによる癌進展抑制性膵星細胞集団の誘導

研究課題名(英文) Induction of tumor-suppressing pancreatic stellate cell subpopulation by pancreatic cancer microenvironment reprogramming

研究代表者

水元 一博 (MIZUMOTO, Kazuhiro)

九州大学・大学病院・准教授

研究者番号：90253418

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：腫瘍進展性膵星細胞としてCD51高発現膵星細胞集団の同定、腫瘍抑制性膵星細胞としてCD146高発現膵星細胞集団の同定を行った。膵星細胞に発現するEndo180が、腫瘍進展性膵星細胞のリーディングセルとして局所浸潤メカニズムに関与することを見出した。さらに、膵星細胞の活性化にオートファジーが関与することを明らかにした。マウスモデルにおいて膵星細胞のオートファジーを抑制することで腫瘍進展・転移を抑制した。これらの結果から、癌微小環境のreprogrammingによる新たな治療法の可能性を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We identified subpopulation of CD51 highly expressed pancreatic stellate cells as tumor-promoting pancreatic stellate cells and CD146 highly expressed pancreatic stellate cells as tumor-suppressing pancreatic stellate cells. Endo180 expressed on pancreatic stellate cells was found to be associated with local invasion mechanism as a leading cell of tumor-promoting pancreatic stellate cells. Furthermore, we identified autophagy was involved in the activation of pancreatic stellate cells. In the mouse model, suppression of autophagy of pancreatic stellate cells reduced tumor development and metastasis. From these results, we clarified the possibility of a new treatment strategy by reprogramming cancer microenvironment.

研究分野：医歯薬学

キーワード：膵臓癌 膵星細胞 癌微小環境

1. 研究開始当初の背景

最難治癌である膵癌の新規治療法の開発は、社会的要請度・貢献度・緊急性が高い。膵癌の生物学的悪性度、治療抵抗性には膵癌に豊富に含まれる癌間質が影響すると考えられている。但し、これまでの研究で行われてきた癌間質の主要細胞である膵星細胞の量的制御のみでは有効性が示されていない。これは、腫瘍抑制的な性質を有する間質の heterogeneity を考慮していないためである可能性があり、我々は間質の reprogramming によって膵星細胞の機能を腫瘍進展性から抑制性へ初期化・誘導する治療戦略を着想するに至った。

2. 研究の目的

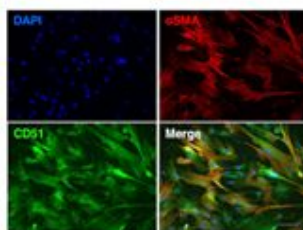
膵癌には desmoplasia と呼ばれる過剰な癌間質増生がある。この癌間質は、量的・質的に癌関連膵星細胞の基質 remodeling により維持されており、desmoplasia を標的とした治療法の開発が進んでいる。しかし、desmoplasia の量的制御のみでは有害性を示唆する報告が相次いでいる。従って、本研究では、膵星細胞の機能的な heterogeneity に着目し、癌微小環境の reprogramming により、腫瘍支持・進展性の膵星細胞から腫瘍抑制性の膵星細胞を誘導する新たな膵癌治療戦略を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

まず、膵星細胞の phenotype 別に腫瘍進展性もしくは腫瘍抑制性の機能を有する膵星細胞集団を同定し、責任遺伝子の解析を行う。また、腫瘍支持・進展性膵星細胞の初期化による腫瘍抑制性膵星細胞の誘導を行う。さらに、化合物ライブラリーを用いて腫瘍抑制性膵星細胞を誘導する化合物の探索を進め、ヒット化合物が膵星細胞の機能を介して癌細胞に与える影響や機序を解明する。最後に、ヒト膵癌切除組織由来細胞や膵発癌マウスモデルを使用して、癌間質の reprogramming による膵癌治療法の開発を目指す。

4. 研究成果

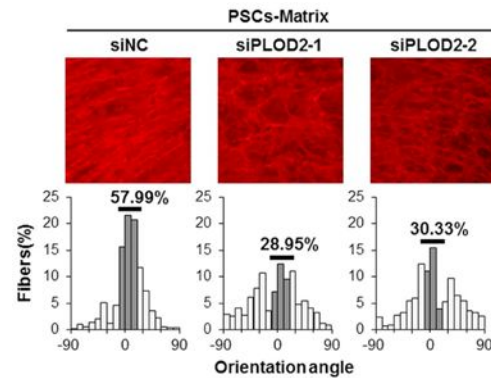
(1) CD51 高発現膵星細胞は、膵癌の悪性度と関連し CD51 が膵癌の潜在的な治療標的になり得る。ヒト膵癌切除組織における CD51 の免疫組織化学染色では、癌間質における CD51 の高発現はリンパ節転移、病理学的断端陽性、術後生存期間短縮と関連していることを見出した。膵星細胞における CD51 の発現を抑制すると、膵星細胞の増殖・遊走能が低下し、細胞外基質と癌間質相互作用に関連する遺伝子の発現が低下した。



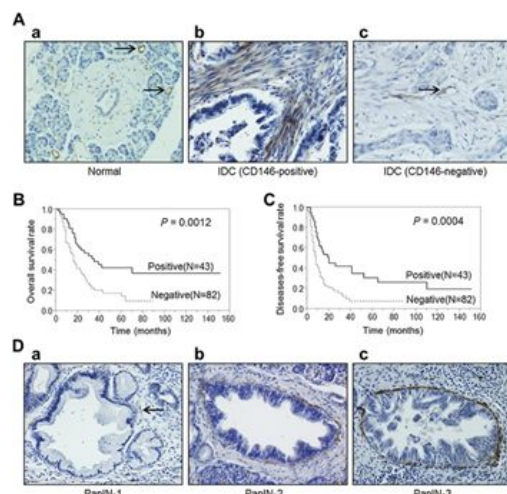
マウス皮下移植モデルでは、CD51 抑制膵星細胞と癌細胞とを共移植することで腫瘍体積・

癌細胞の増殖能の低下を認めた。以上より、膵癌間質における CD51 の発現は癌の悪性度に関与し、膵星細胞の機能に着目した潜在的な知慮標的になり得ることを原著論文で発表した。

(2) 低酸素環境下における膵星細胞によって細胞外基質のリモデリングが制御される。低酸素下において癌細胞の浸潤を導く特定の細胞集団、いわゆる leading cell として、PLOD2 発現のある膵星細胞が細胞外基質のリモデリングにより癌間質の配列を調整し、癌細胞の浸潤を誘導することを示し原著論文として発表した。



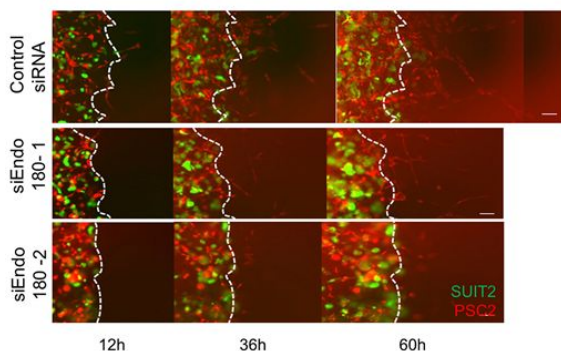
(3) 膵星細胞に発現する CD146 の抑制によって膵癌進展が促進される。外科切除した膵癌組織における CD146 の免疫組織化学染色では、CD146 は癌間質で高発現し、膵上皮内腫瘍性病変 (PanIN) 進展との関連を認めるとともに予後良好と相関していた。癌細胞と CD146 高発現の膵星細胞との共培養実験では癌細胞の浸潤・遊走能の低下を認めた。CD146 高発現の癌間質は、NF- $\kappa$ B 経路を介してケモカイン・サイトカインの分泌制御に関わり、癌進展に抑制的に働く膵星細胞集団であることを見出し、原著論文として発表した。



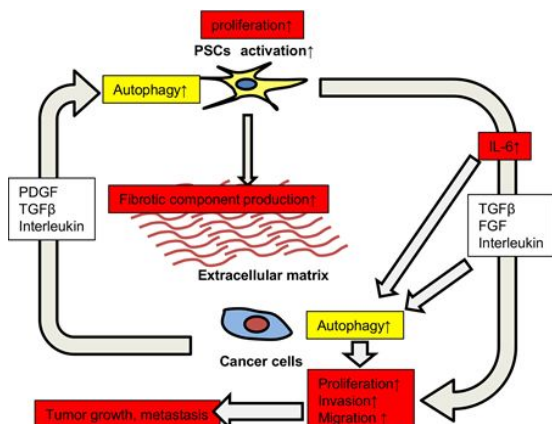
(4) カルパイン阻害剤であるカルペプチンによって、癌間質相互作用が制御され膵癌進展が抑制される。マウス Xenograft モデルにおいて、抗線維化能のあるカルペプチンが膵

癌細胞や膵星細胞の増殖・浸潤・遊走能の阻害のみならず、癌間質相互作用の制御により腫瘍進展を抑制することを示し、新たな視点での癌間質標的治療の可能性を見出し原著論文として発表した。

(5) 膵星細胞は細胞外基質を再構築し、Endo180 の機能を介して膵癌浸潤を誘導する。三次元培養モデルで膵癌細胞の浸潤を誘導する膵星細胞の存在をタイムラプスイメージングで明らかにした。マウスモデルにおいては、膵星細胞に発現し、そのコラーゲン取り込みに関与する Endo180 をノックダウンすることで、浸潤方向のコラーゲン線維配列が抑えられ、腫瘍進展が抑制されることを示し原著論文として発表した。



(6) 膵星細胞の活性化にはオートファジーが重要であり、膵癌進展に関与する。ヒト膵癌切除組織において、膵星細胞のオートファジーは全生存期間の短縮と関連していた。In vitro において、オートファジー抑制剤であるクロロキン投与によって活性化膵星細胞は静止化へと変化し、増殖・浸潤能の低下を認めた。マウスモデルにおいては、膵星細胞のオートファジーを抑制することで腫瘍体積・肝転移数・腹膜播種数の軽減を認め、画期的な知見を見出し原著論文として発表した。また、現在、化合物ライブラリーを用いて活性化膵星細胞を静止化へと誘導することで腫瘍抑制性膵星細胞を誘導する化合物の探索を進めており、既に候補となる化合物を多数同定している。



## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計6件)

- Koikawa K, Ohuchida K, Takesue S, Ando Y, Kibe S, Nakayama H, Endo S, Abe T, Okumura T, Horioka K, Sada M, Iwamoto C, Moriyama T, Nakata K, Miyasaka Y, Ohuchida R, Manabe T, Ohtsuka T, Nagai E, Mizumoto K, Hashizume M, Nakamura M. Pancreatic stellate cells reorganize matrix components and lead pancreatic cancer invasion via the function of Endo180. *Cancer Letters*, 14(3):3141-3147, 2018, 査読有, doi: 10.1016/j.canlet.2017.10.010
- Endo S, Nakata K, Sagara A, Koikawa K, Ando Y, Kibe S, Takesue S, Nakayama H, Abe T, Okumura T, Moriyama T, Miyasaka Y, Ohuchida K, Ohtsuka T, Mizumoto K, Nakamura M. Autophagy Is Required for Activation of Pancreatic Stellate Cells, Associated With Pancreatic Cancer Progression and Promotes Growth of Pancreatic Tumors in Mice, *Gastroenterology*, 152(6):1492-1506, 2017, 査読有, doi: 10.1053/j.gastro.2017.01.010
- Horioka K, Ohuchida K, Sada M, Zheng B, Moriyama T, Fujita H, Manabe T, Ohtsuka T, Shimamoto M, Miyazaki T, Mizumoto K, Oda Y, Nakamura M. Suppression of CD51 in pancreatic stellate cells inhibits tumor growth by reducing stroma and altering tumor-stromal interaction in pancreatic cancer. *Int J Oncol*, 48(4):1499-1508, 2016, 査読有, doi: 10.3892/ijo.2016.3374
- Sada M, Ohuchida K, Horioka K, Okumura T, Moriyama T, Miyasaka Y, Ohtsuka T, Mizumoto K, Oda Y, Nakamura M. Hypoxic stellate cells of pancreatic cancer stroma regulate extracellular matrix fiber organization and cancer cell motility, *Cancer Letters*, 372(2):210-218, 2016, 査読有, doi: 10.1016/j.canlet.2016.01.016
- Zheng B, Ohuchida K, Chijiwa Y, Zhao M, Mizuuchi Y, Cui L, Horioka K, Ohtsuka T, Mizumoto K, Oda Y, Hashizume M, Nakamura M, Tanaka M, CD146 Attenuation in Cancer-Associated Fibroblasts Promotes Pancreatic Cancer Progression, *Molecular Carcinogenesis*, (55)1560-1572, 2016 査読有, doi: 10.1002/mc.22409
- Yoshida M, Miyasaka Y, Ohuchida K, Okumura T, Zheng B, Torata N, Fujita H, Nabae T, Manabe T, Shimamoto M, Ohtsuka

T, Mizumoto K, Nakamura M, Calpain inhibitor calpeptin suppresses pancreatic cancer by disrupting cancer-stromal interactions in a mouse xenograft model, *Cancer Sci*, 107(10):1443-1452, 2016, 査読有, doi: 10.1111/cas.13024

[学会発表](計 15 件)

仲田興平、遠藤翔、大内田研宙、水元一博、小田義直、橋爪誠、中村雅史、オートファジーは膵星細胞の活性化に関与しており、その抑制は膵癌の進展を制御する、第 76 回日本癌学会学術総会, 2017  
肥川和寛、大内田研宙、安藤陽平、岐部晋、中山宏道、武居晋、阿部俊也、遠藤翔、奥村隆志、森山大樹、仲田興平、宮坂義浩、真鍋達也、大塚隆生、永井英司、水元一博、中村雅史、膵星細胞における Endo180 発現の意義および治療標的因子としての検討、第 48 回日本膵臓学会大会, 2017

Endo S, Nakata K, Ohuchida K, Ando Y, Kibe S, Takesue S, Nakayama H, Abe T, Koikawa K, Okumura T, Mizuuchi Y, Moriyama T, Miyasaka Y, Manabe T, Ohtsuka T, Nagai E, Mizumoto K, Oda Y, Nakamura M, Autophagy Drives Pancreatic Stellate Cells Activation and Promotes Pancreatic Cancer, 47th Annual Meeting of the American Pancreatic Association, 2016

Koikawa K, Ohuchida K, Kibe S, Ando Y, Takesue S, Nakayama H, Abe T, Endo S, Okumura T, Moriyama T, Miyasaka Y, Manabe T, Ohtsuka T, Nagai E, Mizumoto K, Nakamura M, Endo180 regulate phosphorylation of myosin light chain 2 activity and increase the ability of extracellular matrix remodeling in leading pancreatic stellate cells, The 47th Annual Meeting of American Pancreatic Association, 2016

吉田真樹、宮坂義浩、大内田研宙、遠藤翔、阿部俊也、肥川和寛、巖子龍、千々岩芳朗、奥村隆志、佐田政史、堀岡宏平、鄭彪、森山大樹、真鍋達也、大塚隆生、植木隆、永井英司、水元一博、中村雅史、癌と間質を同時に標的とするカルパイン阻害薬カルペプチンの膵癌に対する治療効果の検討、第 116 回日本外科学会定期学術集会、2016

佐田政史、大内田研宙、阿部俊也、遠藤翔、肥川和寛、奥村隆志、千々岩芳朗、吉田真樹、堀岡宏平、森山大樹、宮坂義浩、大塚隆生、植木隆、永井英司、水元一博、小田義直、中村雅史、低酸素下膵星細胞による癌間質マトリックス・リモデリングは膵癌浸潤能を増強する、第 116 回日本外科学会定期学術集会、2016

堀岡宏平、大内田研宙、佐田政史、鄭彪、千々岩芳朗、吉田真樹、奥村隆志、遠藤翔、阿部俊也、肥川和寛、大塚隆生、植木隆、永井英司、水元一博、小田義直、中村雅史、膵癌における CD51 発現は予後と相関する、第 116 回日本外科学会定期学術集会、2016

遠藤翔、仲田興平、大内田研宙、阿部俊也、肥川和寛、奥村隆志、佐田政史、堀岡宏平、水内祐介、大塚隆生、植木隆、永井英司、水元一博、小田義直、中村雅史、膵癌の癌関連線維芽細胞におけるオートファジーの役割、第 116 回日本外科学会定期学術集会、2016

肥川和寛、大内田研宙、佐田政史、阿部俊也、遠藤翔、奥村隆志、吉田真樹、千々岩芳朗、堀岡宏平、森山大樹、宮坂義浩、真鍋達也、大塚隆生、大内田理一、植木隆、永井英司、水元一博、中村雅史、膵星細胞は基質リモデリングにより、leading cell として膵癌浸潤を先導する、第 116 回日本外科学会定期学術集会、2016

肥川和寛、大内田研宙、佐田政史、真鍋達也、大塚隆生、大内田理一、植木隆、永井英司、水元一博、中村雅史、膵癌浸潤を先導する leading cell 膵星細胞の基質リモデリング機能と浸潤機序の解明、第 71 回日本消化器外科学会総会、2016

堀岡宏平、大内田研宙、佐田政史、奥村隆志、大塚隆生、植木隆、永井英司、水元一博、小田義直、中村雅史、膵星細胞における CD51 は膵癌間質の形成と癌細胞の増殖に関与する、第 71 回日本消化器外科学会、2016

遠藤翔、仲田興平、大内田研宙、水内祐介、大塚隆生、植木隆、永井英司、水元一博、小田義直、中村雅史、膵星細胞におけるオートファジーは、膵癌の成長と転移を促進する、第 71 回日本消化器外科学会、2016

佐田政史、大内田研宙、阿部俊也、遠藤翔、肥川和寛、奥村隆志、千々岩芳朗、吉田真樹、堀岡宏平、水内祐介、宮坂義浩、真鍋達也、大塚隆生、高畑俊一、植木隆、永井英司、水元一博、小田義直、中村雅史、田中雅夫、低酸素誘導性 LOX による癌間質リモデリングが膵癌浸潤能に与える影響の検討、第 23 回日本消化器関連学会週間、2015

Koikawa K, Ohuchida K, Sada M, Abe T, Endo S, Horioka K, Moriyama T, Miyasaka Y, Ohtsuka T, Ohuchida R, Ueki T, Nagai E, Mizumoto K, Nakamura M, Pancreatic Stellate Cells Lead and Promote the Local Invasion of Cancer Cells, by Physically Remodeling the Extracellular Matrix with Collagen Fiber Alignment in Pancreatic Cancer,



American Pancreatic Association 46th Annual Meeting, 2015  
Horioka K, Ohuchida K, Sada M, Zheng B, Ohtsuka T, Ueki T, Nagai E, Mizumoto K, Oda Y, Nakamura M, Suppression of CD51 in Pancreatic Stellate Cells Inhibits Tumor Growth by Reducing Stroma and Altering Tumor-Stromal Interaction in Pancreatic Cancer, American Pancreatic Association 46th Annual Meeting, 2015

研究者番号：

(4)研究協力者 ( )

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

水元 一博 (MIZUMOTO, Kazuhiro)  
九州大学・大学病院・准教授  
研究者番号：90253418

### (2)研究分担者

井上 重隆 (INOUE, Shigetaka)  
九州大学・医学研究院・共同研究員  
研究者番号：00529802

大内田 研宙 (OHUCHIDA, Kenoki)  
九州大学・大学病院・講師  
研究者番号：20452708  
(2017 年度)

### (3)連携研究者

( )