

令和 3 年 5 月 19 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07382

研究課題名(和文) シュワン細胞とがんのクロストークががん細胞形質変化に及ぼす影響の解析

研究課題名(英文) Immature Schwann cells contribute to pancreatic cancer cell migration and invasion

研究代表者

鈴木 雅美 (Suzuki, Masami)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：80434182

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：がんの神経への浸潤と末梢神経障害後の神経再生の分子機構は一部重複している。これまでの解析では、がん細胞がシュワン細胞を脱分化させ、未分化型へ誘導することを明らかにした。本研究では、未分化型シュワン細胞ががん細胞の形質に及ぼす影響について解析を行った。未分化型シュワン細胞の培養上清をがん細胞に処置したところ、遊走能が増大した。さらに両細胞の共培養では、未分化型シュワン細胞ががん細胞の周りを取り囲み、その後、がん細胞を包み込むように増殖していた。これらのことからがん細胞により未分化型へ形質転換したシュワン細胞は、がん細胞の遊走/浸潤のガイドとして機能してい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

これまでのがん研究は、発生学や免疫学からのアプローチが主で、神経科学的にアプローチされることは少なかった。本研究の学術的意義は、がんにより引き起こされる神経障害、特にシュワン細胞の脱分化により誘導された未分化型のシュワン細胞が、がん細胞の遊走能および浸潤能を増大させることを明らかにした点である。本研究成果は、がんによる神経障害を制御することががんの進展を抑制することを示唆しており、これら重複する分子メカニズムをターゲットとした治療は、神経障害に伴う難治性の痛みを軽減するだけでなく、がんの増悪を抑制できる可能性が考えられる。

研究成果の概要(英文)：The nerve repair signaling following nerve injury may facilitates cancer progression. I previously revealed that Schwann cells were dedifferentiated into immature Schwann cells by cancer cells-induced peripheral nerve injury. In this study, I investigated the role of immature Schwann cells in cancer cells migration/invasion. Conditioned medium from immature Schwann cells significantly enhanced the migration of cancer cells toward the conditioned medium. To explore the collaboration between immature Schwann cells and cancer cells, we developed in vitro coculture system. Immature Schwann cells was associated with cancer cells with their protrusions and formed tunnels. These results suggest that immature Schwann cells dedifferentiated by cancer cells might be a key regulator of cancer cell migration and invasion.

研究分野：薬理

キーワード：がん シュワン細胞

#### 1. 研究開始当初の背景

神経組織はがん細胞の生存や増殖に良い環境であると考えられているが、がん細胞が神経に浸潤する分子機構は、がん細胞の血行性及びリンパ行性の進展様式と比較して未だ不明な点が多い。一般に、神経が障害されると神経軸索に巻き付いて髄鞘を形成していたシュワン細胞が脱分化し(未分化型へと形質転換する)、増殖しながら障害部位へと遊走する。そして未分化型となったシュワン細胞は障害部位において、多種の成長促進因子を遊離し、細胞外基質のリモデリングを行うことで、神経軸索を再生させる。一方、未分化型シュワン細胞から産生され、神経再生に寄与する成長促進因子は、がん研究において、がんの上皮間葉転換や組織浸潤に関与することが報告されている。したがって、通常では、神経再生を担うはずの未分化型シュワン細胞が、がん細胞存在下では、がん細胞との相互作用を来すことにより、がんの進展に寄与している可能性が考えられる。しかしながら神経系細胞とがん細胞の相互作用についてはあまり解明されていない。

#### 2. 研究の目的

本研究では、神経、特に未分化型となったシュワン細胞とがん細胞の細胞間相互作用の詳細を明らかにする。がん細胞と神経系の細胞は共通の分子基盤を介して、がんの進展と神経障害や痛みを調節していると考えられることから、これら重複する分子をターゲットとした治療は、痛みを軽減するだけでなく、がんの増悪を抑制できる可能性が考えられる。

#### 3. 研究の方法

未分化型シュワン細胞/膵臓がん細胞の共培養系は、ミエリン形成能を有するラット由来シュワン細胞株である IFRS1 細胞とヒト由来膵臓がん細胞株である Capan-1 細胞および Panc-1 細胞を用いて作製した。がん細胞の形質変化の解析は、未分化型シュワン細胞から遊離される液性因子による影響(培養上清を添加)と未分化型シュワン細胞の直接的な接着による影響(シュワン細胞自体を添加)を膵臓がん細胞の単独培養系と比較して解析を行った。膵臓がん細胞の増殖能は、MTT assay により評価し、膵臓がん細胞の遊走・浸潤能は、transwell (BioCoat Matrigel invasion chamber) を用いて解析した。膵臓がん細胞の sphere 形成能は、Ultra low Attachment Culture Dish (Corning) を用いて Spheroid colony assay を行い、評価した。未分化型シュワン細胞から遊離される因子の同定は、培養上清を用いて、サイトカインおよび細胞増殖因子のアレイキットにより解析した。

#### 4. 研究成果

未分化型シュワン細胞と膵臓がん細胞の共培養系を作製し、膵臓がん細胞の形態学的変化について観察を行った。まず、未分化型シュワン細胞を単層培養し、その後、膵臓がん細胞を添加し、共培養したところ、通常はシャーレに沿って単層で増殖をしていく膵臓がん細胞が、未分化型シュ

ワン細胞上では線管構造様の形態を形成し増殖していた。一方、未分化型胃癌細胞を同様に未分化型シュワン細胞に添加してもこういった現象は認められなかった。次に、細胞間相互作用を解析する目的で緑色の蛍光物質である EGFP を導入した膵臓がん細胞と赤色の蛍光物質である DsRed を導入した未分化型シュワン細胞を作製し、これらの細胞を共培養しタイムラプス顕微鏡を用いて解析したところ、膵臓がん細胞は通常よりも小さく立体的な島を形成するように増殖し、その周りを未分化型シュワン細胞が突起を伸ばして膵臓がん細胞に頻回に contact している様子が観察された。さらに観察を継続したところ、未分化型シュワン細胞は膵臓がん細胞を包み込むように増殖した。

未分化型シュワン細胞の培養上清が膵臓がん細胞の増殖に影響を及ぼすか否かを明らかにするため、MTT assay と足場非依存性増殖を評価する soft agar assay を行った。その結果、いずれの評価系においても未分化型シュワン細胞の培養上清による膵臓がん細胞の増殖に大きな影響は認められなかった。さらに、がん細胞の sphere 形成能を検討する目的で spheroid colony assay を実施したところ、シュワン細胞の培養上清による spheroid 形成能に変化は認められなかった。さらに transwell を用いて下層に未分化型シュワン細胞を培養し、上層に膵臓がん細胞を添加することで細胞の遊走能を解析したところ、control と比較して膵臓がん細胞の遊走能の増大が認められた。これらのことから未分化型シュワン細胞は、がん細胞の増殖には影響を及ぼさず、未分化型シュワン細胞により間接的もしくは直接的に影響を受け、形態学的変化ならびに遊走能の増大を引き起こしている可能性が示唆された。次に未分化型シュワン細胞から遊離され、膵臓がん細胞に作用する因子を解析する目的で培養上清を用いてアレイ解析を行ったところ、TGF $\beta$  が関与することを明らかにした。そこで、膵臓がん細胞の遊走能に対する TGF $\beta$  阻害薬の効果を検討したところ、未分化型シュワン細胞の培養上清による膵臓がん細胞の遊走能の亢進は有意に抑制された。

さらにシュワン細胞を可視化することができる SOX10 venus マウスの膵臓がん細胞の腹膜播種巣を組織学的に解析したところ、腫瘍が直接接する腸管膜において、SOX10 venus 陽性細胞は腫瘍実質内へと浸潤、遊走し、一部の血管の周りに局在していた。これらのことから、腸間膜に存在するシュワン細胞は、膵臓がんの腹膜播種巣においてがんの血管新生に寄与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Miyano K, Shiraiishi S, Minami K, Sudo Y, Suzuki M, Yokoyama T, Terawaki K, Nonaka M, Murata H, Higami Y, Uezono Y.	4. 巻 13
2. 論文標題 Carboplatin Enhances the Activity of Human Transient Receptor Potential Ankyrin 1 Through the Cyclic AMP-Protein Kinase A-A-Kinase Anchoring Protein (AKAP) Pathways	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 3271
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms20133271.	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 Ohmoto A, Suzuki M, Takai E, Routan H, Fujiwara Y, Morizane C, Yanagihara K, Shibata T, Yachida S	4. 巻 30
2. 論文標題 Establishment of preclinical chemotherapy models for gastroenteropancreatic neuroendocrine carcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 21086-21099
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18632/oncotarget.24930	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 Suzuki M, Saito-Adachi M, Arai Y, Fujiwara Y, Takai E, Shibata S, Seki M, Rokutan H, Maeda D, Horie M, Suzuki Y, Shibata T, Kiyono T, Yachida S.	4. 巻 81
2. 論文標題 E74-Like Factor 3 Is a Key Regulator of Epithelial Integrity and Immune Response Genes in Biliary Tract Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Res	6. 最初と最後の頁 489-500
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1158/0008-5472.CAN-19-2988	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
---------------------------	-----------------------	----

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