

令和 3 年 5 月 28 日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08719

研究課題名(和文) HABP2を介した膵癌悪性進展メカニズムの解明による膵癌新規治療戦略の開発

研究課題名(英文) The role of HABP2 (Hyaluronan Binding Protein 2) in pancreatic cancer

研究代表者

秋山 泰樹 (Akiyama, Yasuki)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：10812191

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)：細胞外セリンプロテアーゼの一つであるHABP2が低分子ヒアルロン酸(HA)による癌細胞の遊走能更新に関与している可能性が報告されたが、膵癌でのHABP2の機能については不明である。膵癌でのHABP2の機能解析を行うため、HABP2発現抑制モデルおよび強制発現モデルを用い実験を行なった。HABP2発現抑制モデルでは遊走能の低下、CDH1発現亢進、vimentin・CDH2発現抑制を認め、一方でHABP2強制発現モデルでは遊走能の亢進、CDH1発現抑制、vimentin・CDH2発現亢進を認めた。HABP2はEMTを介して膵癌細胞の遊走能を高め、膵癌の悪性化に関与している可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒアルロン酸(Hyaluronan: HA)は、癌の増殖・運動・浸潤能を高め、転移・播種・血管新生を促進する。膵癌においてHA、特にHA分解酵素で分解された低分子HAが膵癌細胞の遊走・浸潤能を高めることを見出したが、そのメカニズムに関しては不明であった。本研究で、膵癌においてHABP2(Hyaluronan Binding Protein 2)が、低分子HAによる癌細胞の遊走能亢進に重要な役割を果たしている可能性を見出した。さらに、HABP2は膵癌の上皮間葉転換に関与している可能性も認めた。今後、HABP2をターゲットとした新たな治療戦略が期待される。

研究成果の概要(英文)：We previously reported hyaluronan (HA) plays critical role in PDAC. However, the mechanisms underlying the accelerated HA processing remain poorly understood. Recently, HABP2 (Hyaluronan Binding Protein 2) has been reported to play a role in promoting migration of cancer cells in response to LMW-HA. The role of HABP2 in PDAC biology is unknown. We therefore analyzed the expression and function of HABP2 in PDAC. To examine the function of HABP2 in PDAC, we established HABP2 knockout clone and HABP2 overexpression clone. We investigated cell migration in association with epithelial-mesenchymal transition (EMT) in these clones. Knockout of HABP2 resulted in decreased cell migration, increased CDH1 mRNA expression, and decreased CDH2 and vimentin mRNA expression. Conversely, forced expression of HABP2 resulted in the opposite to those with knockout clones of HABP2. These findings suggest HABP2 is overexpressed in some PDAC cells and is involved in enhanced migration possibly through EMT.

研究分野：消化器癌

キーワード：膵癌 ヒアルロン酸

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒアルロン酸 (Hyaluronan : HA) は、癌の増殖・運動・浸潤能を高め、転移・播種・血管新生を促進する。我々の研究室では膵癌において HA、特に HA 分解酵素で分解された低分子 HA が膵癌細胞の遊走・浸潤能を高めることを見出だしたが、そのメカニズムに関しては不明である。近年、HABP2 (Hyaluronan Binding Protein 2) が、低分子 HA による癌細胞の運動能亢進に重要な役割を果たしている可能性が報告され、このメカニズムの解明につながる期待が寄せられている。

2. 研究の目的

本研究は、膵癌における HABP2 の機能的役割、特に HA の分子量との関係性について解析する事を目的とする。特に HA の分子量の違いによって膵癌の悪性形質が異なることについてのメカニズムを解明することである。本研究により、膵癌に対する HABP2 をターゲットとした新たな治療戦略の確立を目指すことを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 膵癌におけるHABP2発現パターン

膵癌細胞株10株 (AsPC1, BxPC3, Capan2, KP2, KP3, MiaPaCa2, NOR-P1, Panc1, SUIT2, SW1990) を用い、HABP2のmRNA発現を定量的リアルタイムRT-PCRで確認する。

(2) 膵癌におけるHABP2の機能的役割解析および治療標的としての可能性評価

HABP2 をノックダウンモデルおよび強制発現モデルを作成し、機能的役割評価する。

- HABP2 発現ノックダウンモデル: HABP2 強発現株に対して、CRISPR/Cas9 システムを用い、HABP2 ノックダウンモデルを作成する。
- HABP2 強制発現モデル: HABP2 発現ベクターを HABP2 低発現株に導入し、強制発現クローンを作成する。

(3) HABP2とHA分子量との関係性についての評価

HABP2ノックダウンモデルおよび強制発現モデルを用いて、高分子HA (1000kDa) または低分子HA (50kDa) で治療を行い、遊走能や浸潤能の変化を調べ、HA分子量の違いによる膵癌細胞のふるまいへの影響を調べる

4. 研究成果

(1) 膵癌におけるHABP2発現パターン

膵癌細胞株におけるHABP2 mRNA発現は、正常コントロール株 (HPDE) と比較し、5株で上昇を認めた。

(2) 膵癌におけるHABP2の機能的役割解析および治療標的としての可能性評価

HABP2強発現株であるSUIT2に対して、CRISPR/Cas9システムを用い、HABP2発現ノックダウンモデルを作成し遊走能を検討すると、ノックダウンモデルでは優位に遊走能の低下

を認めた。顕微鏡で形態を観察したところ、MET様の形態変化を認めた。さらに、上皮系マーカー、間葉系マーカーを確認するとロックダウンモデルでCDH1発現の亢進とCDH2、Vimentin発現の抑制を認めた。

一方で、HABP2低発現株であるBxPC3に対して、HABP2発現ベクターを導入し強発現モデルを作成した。強発現モデルでは遊走能の亢進を認め、EMT様の形態変化を認めた。さらに、上皮系マーカーであるCDH1発現の抑制、並びに、CDH2、vimentin発現の亢進を認めた。

以上の結果から、膵癌においてHABP2発現はEMTに関係している可能性が示唆された。

(3) HABP2とHA分子量との関係性についての評価

HABP2強制発現モデルを用い、高分子HA (1000kDa) または低分子HA (50kDa) で治療を行い、遊走能の変化を調べたところ、コントロールと比較し、高分子HA治療群では優位に遊走能の上昇を認めた。低分子HA治療群では、高分子HA治療群よりも優位に遊走能の上昇を認めた。この結果から、低分子HAによる癌細胞の運動能亢進にHABP2が重要な役割を果たしている可能性を認めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 工藤 遊山, 厚井 志郎, 天池 孝夫, 古賀 敦大, 又吉 信貴, 佐藤 典宏, 平田 敬治
2. 発表標題 膵癌細胞におけるヒアルロン酸関連分子HABP2(Hyaluronan Binding Protein 2)の機能解析
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 工藤 遊山, 厚井 志郎, 安達 保尋, 天池 孝夫, 古賀 敦大, 柴尾 和徳, 平田 敬治, 佐藤 典宏
2. 発表標題 膵癌細胞におけるヒアルロン酸関連分子HABP2(Hyaluronan Binding Protein 2)の機能解析
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018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
研究分担者	佐藤 典宏 (Sato Norihiro) (20423527)	産業医科大学・医学部・講師 (37116)	

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