

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業

研究成果報告書



令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：72602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20807

研究課題名（和文）乳癌オルガノイドとペリサイトの相互作用解析による、新規治療標的の探索

研究課題名（英文）Interaction analysis of breast cancer organoids and pericytes to design novel strategies

研究代表者

家里 明日美（IESATO, Asumi）

公益財団法人がん研究会・NEXT-Gankenプログラム がん細胞多様性解明プロジェクト・クリニカルリサーチフエロー

研究者番号：00646234

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）：原発性乳癌患者20例の手術検体からリンパ管内皮細胞(LEC)を単離した。単離したLECの管腔形成アッセイでは、BME coating dish上で有意に管腔形成が認められた。増殖アッセイでは、VEGF-C刺激下で増殖能が増加した。RNAseqではLECマーカー（LYVE1、FLT4、KDR、FLT1、PECAM1、PDPN）の高発現、上皮細胞マーカーの低発現が認められた。これらの結果から、単離したLECsが既知のLECsの性質を有することが確認された。リンパ管侵襲・リンパ節転移陽性患者由来LECsとリンパ管侵襲・リンパ節転移陰性患者由来LECsでは、遺伝子発現に差異が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳癌患者由来LECsは、in vitroやin vivoの実験、トランスクリプトーム、エピゲノム、メタボローム解析など、様々な用途に用いることができる。LECsと乳癌オルガノイドの共培養ではLECsの変化が観察され治療標的となる可能性が示唆される。

研究成果の概要（英文）：Lymphatic endothelial cells (LECs) were isolated from surgical specimens of 20 patients with primary breast cancer. In the tube formation assay, significant tube formation was observed on BME-coated dishes. In the proliferation assay, the proliferative capacity increased under VEGF-C stimulation. RNA sequencing revealed high expression of LEC markers (LYVE1, FLT4, KDR, FLT1, PECAM1, PDPN) and low expression of epithelial cell markers. These results confirmed that the isolated LECs possessed the known characteristics of LECs. There were differences in gene expression between LECs derived from patients with lymphatic invasion and lymph node metastasis positive and those from patients negative for lymphatic invasion and lymph node metastasis.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：乳癌 リンパ管侵襲 リンパ管内皮細胞 細胞間相互作用

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ペリサイトは間質細胞の一つであり、PDGFR β /PDGF-BB や Ang1/Tie2 などのシグナルを介して血管内皮細胞と影響しあう。近年、がん微小環境内には豊富にペリサイトが存在し、内皮細胞以外の細胞種とも相互作用し合い機能することがわかってきた。

申請者は、甲状腺癌におけるペリサイトの役割について研究を進めてきた。申請者は甲状腺癌の先行研究で、甲状腺癌細胞とペリサイトが相互作用すること、レンバチニブは、ペリサイトを標的とし、間接的に癌細胞を抑制することを明らかにした (Iesato JCEM2021, Iesato Thyroid 2023)。しかし、癌細胞とペリサイトの依存のメカニズムは明らかになっていない。さらに多様なペリサイトの亜集団のうちどの集団が癌に有利な環境を形成しているか、また他癌種におけるペリサイトの機能も不明である。乳癌においてもがん微小環境内にペリサイトを含有しており、ペリサイトが乳癌の進行度、悪性度に関与している可能性が考えられた。ペリサイトと癌の相互作用を標的とする治療開発を目指し研究を計画した。

その後行った後方視的解析では、リンパ管侵襲が高度であるほど乳癌の病期が進行しており、リンパ管侵襲は最終出産後期間と逆相関していた。またリンパ管侵襲と最終出産後10年未満はいずれも独立予後不良因子であった。乳癌においてはリンパ管との相互作用に着目して解析した方が臨床に貢献できると考え、産後10年未満の乳腺退縮における微小環境変化に着目し、リンパ管と癌との相互作用の研究を行うこととした。乳癌患者の乳房脂肪組織からリンパ管内皮細胞を単離、樹立し、リンパ管侵襲陽性乳癌オルガノイドも複数樹立し、共培養を実施した。

2. 研究の目的

乳癌におけるリンパ管と癌との相互関係を解明する。

3. 研究の方法

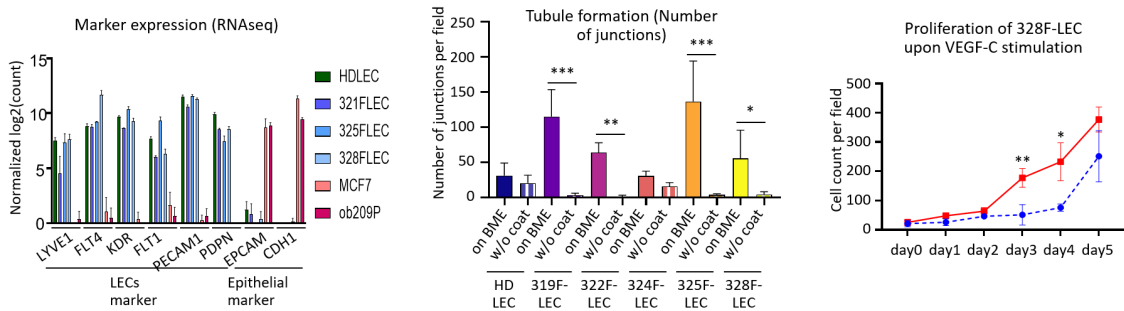
当院で手術を受けた原発性乳癌患者の手術検体から LECs を単離した。管腔形成アッセイ、VEGF-C を添加した時の細胞増殖アッセイ、RNAseq を用いて単離 LECs の形質を評価した。HDLEC (human dermal LEC) を比較対象として用いた。続いて乳癌患者由来 LECs と当研究室で樹立した乳癌オルガノイドを共培養し、形態変化を観察した。また FACS でそれぞれ単離回収し RNAseq 解析し、単培養した LECs、乳癌オルガノイドと比較した。

4. 研究成果

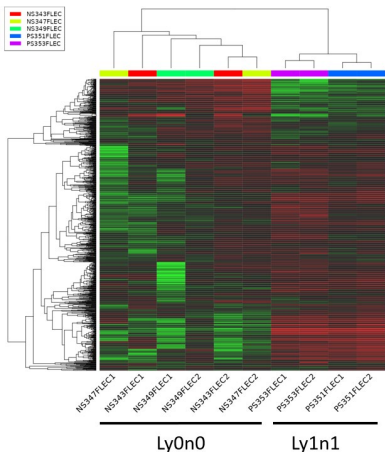
原発性乳癌患者 20 例の手術検体から LECs を単離した。

このうち 5 例由来の LECs、および HDLEC を用いた管腔形成アッセイでは、4 症例由来の LECs において、non-coating dish 上と比較して BME coating dish 上で有意に管腔形成が認められた。また 2 症例由来 LECs、および HDLEC を用いて行った増殖アッセイでは、いずれの LECs においても VEGF-C 刺激下で増殖能が増加した。RNAseq では LECs マーカー (LYVE1, FLT4, KDR,

FLT1, PECAM1, PDPN) の高発現、上皮細胞マーカー(EPCAM, CDH1)の低発現が認められた。これらの結果から、単離した LECs が既知の LECs の性質を有することが確認された。



リンパ管侵襲・リンパ節転移陽性患者由来 LECs とリンパ管侵襲・リンパ節転移陰性患者由来 LECs では、遺伝子発現に差異が認められた。「リンパ管侵襲またはリンパ節転移の可能性を判定するための検査方法」として特許出願した（特許出願番号 2024-079962）。



5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1．発表者名 家里明日美
2．発表標題 最終出産後10年未満に罹患した乳癌は予後不良であるーリンパ管侵襲関連因子の解析
3．学会等名 第31回日本乳癌学会学術総会
4．発表年 2023年

1．発表者名 家里明日美
2．発表標題 乳癌オルガノイドと患者由来リンパ管内皮細胞の相互作用解析
3．学会等名 第32回日本乳癌学会学術総会
4．発表年 2024年

1．発表者名 Asumi Iesato
2．発表標題 Correlated factor with lymphovascular invasion, postpartum breast cancer diagnosed within 10 years of last childbirth is a prognostic factor for distant metastasis
3．学会等名 18th St. Gallen International Breast Cancer Conference (国際学会)
4．発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 リンパ管侵襲またはリンパ節転移の可能性を判定するための検査方法	発明者 家里明日美	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2024-079962	出願年 2024年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------