

平成30年6月14日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19937

研究課題名(和文) 膵癌の発癌・進展に関わる骨髄由来leading cellの同定と新規治療法の開発

研究課題名(英文) Identification of bone marrow-derived involved in pancreatic cancer progression and establishment of a new therapy

研究代表者

岩本 千佳 (Iwamoto, Chika)

九州大学・医学研究院・特任助教

研究者番号：10752842

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：胃癌や乳癌において、癌細胞の増殖を支持するニッチが骨髄由来間葉系幹細胞であるとの報告があることから、膵癌においても癌細胞を支持するニッチの形成や、膵癌細胞の進展にも骨髄細胞が関与していると考え、膵癌細胞の進展への骨髄由来細胞の関与とそのメカニズムを解明する。そこで膵癌自然発症モデルマウスにGFP陽性の骨髄細胞を移植した。末梢血、骨髄、膵臓、肝臓のいずれにもGFP陽性細胞を認め、リンパ球系細胞、単球/マクロファージであることが分かり、その分布には偏りがあった。骨髄由来細胞との三次元共培養実験により、膵癌細胞の浸潤能と遊走能を促進した。癌細胞の浸潤に骨髄細胞が関与している可能性を見出した。

研究成果の概要(英文)：In breast cancer, a subset of stromal cells was descended from bone marrow (BM)-derived cells. While BM-derived cells seem to be involved in remodeling of microenvironment and tumor progression in pancreatic cancer, this mechanism remains unknown. We aimed to investigate an association between pancreatic cancer progression and BM-derived cells. The engraftment of BM-derived GFP+ cells was detected in recipients' peripheral blood, BM, pancreas, liver, and ascites. In recipients' pancreas, GFP+ cells were accumulated around ADM/PanIN and at invasive front. Invasive capability of cancer cells co-cultured with BM-derived cells significantly increased compared to the control. The present data also suggest that BM-derived cells is involved in infiltration of cancer cells.

研究分野：分子腫瘍学

キーワード：膵癌

1. 研究開始当初の背景

日本において膵癌は肺癌、胃癌、大腸癌、肝臓癌について死因第5位である。膵癌診断患者の8割以上は、局所の動脈浸潤・遠隔転移により切除不能である為、膵癌は5年生存率がわずか8%と癌種の中で最も予後不良な消化器癌である。膵癌の生存率に改善が見られない原因として考えられるのは、簡便なスクリーニング方がなく早期診断が依然困難であり、原発巣が比較的小さな段階でも浸潤・転移を来し易く、また有効とされる補助療法がほとんどなく癌自体の生物学的悪性度が高いことなどが挙げられる。

2. 研究の目的

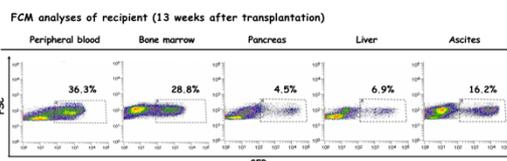
乳癌において、骨髄由来間葉系幹細胞が転移巣でもニッチとしてがん細胞の増殖を支持することが報告されており^①、胃癌においては、原発巣の癌関連線維芽細胞の一部が骨髄細胞由来であることが報告されている^②。また膵癌においては、原発腫瘍由来間葉系幹細胞が癌細胞の増殖・浸潤に関与していることが示唆されたが^③、膵癌への骨髄由来細胞の関与についての報告はまだ少なく、その機序は依然不明な点が多い。本研究では、膵癌細胞の進展と骨髄細胞の役割に焦点をあて、膵癌細胞の増殖、浸潤、転移への骨髄由来細胞の関与とそのメカニズムを解明し、最終的には関連分子を標的とした新規治療法を開発する。

3. 研究の方法

ヒトの前癌病変である膵上皮内腫瘍性病変(PanIN)や膵管癌(PDAC)に類似した腫瘍性病変の再現が可能である、膵癌自然発症モデルマウスのKPCマウスを用い、放射線照射による前処置を行った後、GFPで標識された骨髄細胞を移植した。急激な体重減少や腫瘍増大が見られた後、解剖解析を行い、末梢血、骨髄、膵臓、肝臓、血性腹水、腹膜播種などをFCM解析し、ドナー細胞の生着を確認する。また免疫組織染色にて、原発巣や転移巣でのGFP陽性細胞の有無、局在を評価する。膵原発腫瘍よりGFP陽性細胞の細胞表面抗原を特定することで、phenotypeを同定する。さらに、骨髄由来細胞が膵癌細胞の増殖、浸潤、遊走に関与しているかどうかの検討も行う。

4. 研究成果

同種移植モデルのレシピエントマウスの末梢血、骨髄、膵臓、肝臓、血性腹水、腹膜播種などをFCM解析した。いずれの組織にもドナー由来のGFP陽性骨髄細胞の生着が認められ、GFP陽性細胞は、T細胞、NK細胞、単球/マクロファージであることが分かった。



主に末梢血や骨髄、腹水で癌幹細胞マーカーであるCD44陽性細胞が確認できた。これは血行性に膵癌が転移していることを示唆していると考えられる。レシピエントマウスの膵臓において免疫組織染色を行ったところ、GFP陽性細胞や単球系細胞、 α SMA陽性細胞がADMやPanIN周辺、またinvasive frontに集簇する傾向にあることを見出した。 α SMA陽性細胞の中には骨髄由来のものがわずかに存在することも確認できた。しかし、正常な腺房細胞周辺では、GFP陽性細胞は認められなかった。骨髄由来細胞が膵癌細胞の浸潤、遊走、増殖に関与しているかどうかを検討するため、直接/間接共培養を行い、膵癌細胞の浸潤能、遊走能、増殖能を解析した。骨髄由来細胞と膵癌細胞を共培養することで、膵癌細胞の浸潤能と遊走能が促進された。しかし、骨髄由来単球系細胞は膵癌細胞の増殖促進には関わっていないことが示唆された。今後は、膵癌細胞の浸潤を先導する膵星細胞に骨髄由来細胞がどのように関わっているかの検討を行う。

<引用文献>

- ① AE. Kamoub, RA. Weinberg et al. Mesenchymal stem cells within tumor stroma promote breast cancer metastasis. *Nature*, 449(4):557-565, 2007.
- ② H Oshima, M Oshima et al. TNF- α / TNFR1 signaling promotes gastric tumorigenesis through induction of *Nox1* and *Gna14* in tumor cells. *Oncogene*, 33:3820-3829, 2014.
- ③ M Waghray, DM. Simeone et al. GM-CSF Mediates Mesenchymal-Epithelial Cross-talk in Pancreatic Cancer. *Cancer Discovery*, 6(8):886-899, 2016.

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)

- ① K Koikawa, K Ohuchida, S Takesue, Y Ando, S Kibe, H Nakayama, S Endo, T Abe, T Okumura, K Horioka, M Sada, C Iwamoto, T Moriyama, K Nakata, Y Miyasaka, R Ohuchida, T Manabe, T Ohtsuka, E Nagai, K Mizumoto, M Hashizume, M Nakamura. Pancreatic stellate cells reorganize matrix components and lead pancreatic cancer invasion via the function of Endo180. *Cancer Letters*, 412:143-154, 2018.
- ② C Iwamoto, K Ohuchida, T Okumura, K Koikawa, S Takesue, H Nakayama, S Endo,

S Kibe, Y Ando, T Abe, K Miyawaki, M Murata, K Akashi, M Nakamura, M Hashizume. BM-derived cells are involved in the tumor microenvironment and promote invasion of pancreatic cancer. *Pancreas (American Pancreatic Association)*, 46(10):pp.1408, 2017.

- ③ K. Shindo, K. Ohuchida, H.R. Roth, H. Oda, C. Iwamoto, M. Oda, M. Nakamura, K. Mori, M. Hashizume. Analysis of FFPE Blocks of Resected Pancreas using Micro CT. *J JSCAS*, 19(4):pp.244-245, 2017.
- ④ C. Iwamoto, K. Ohuchida, T. Okumura, N. Mochidome, S. Endo, H. Nakayama, S. Takesue, M. Murata, Y. Oda, M. Hashizume. Accumulation and integration of various medical images for pancreatic cancer. *J JSCAS*, 19(4):pp.360, 2017.
- ⑤ S Endo, K Nakata, K Ohuchida, S Takesue, H Nakayama, T Abe, K Koikawa, T Okumura, M Sada, K Horioka, B Zheng, Y Mizuuchi, C Iwamoto, M Murata, T Moriyama, Y Miyasaka, T Ohtsuka, K Mizumoto, Y Oda, M Hashizume, M Nakamura. 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.
- ⑥ T Okumura, K Ohuchida, M Sada, T Abe, S Endo, K Koikawa, C Iwamoto, D Miura, Y Mizuuchi, T Moriyama, K Nakata, Y Miyasaka, T Manabe, T Ohtsuka, E Nagai, K Mizumoto, Y Oda, M Hashizume, M Nakamura. Extra-pancreatic invasion induces lipolytic and fibrotic changes in the adipose microenvironment, with released fatty acids enhancing invasiveness of pancreatic cancer cells. *Oncotarget*, 8(11):18280-18295, 2017.

[学会発表] (計 5 件)

- ① C Iwamoto, K Ohuchida, M Hashizume. Accumulation and integration of various medical images derived from KPC mice and resected human pancreases. 4th International Symposium on the Project “Multidisciplinary Computational Anatomy”, Poster, p173-p179, Mar. 2018.

- ② C Iwamoto, K Ohuchida, T Okumura, K Koikawa, S Takesue, H Nakayama, S Endo, S Kibe, Y Ando, T Abe, K Miyawaki, M Murata, K Akashi, M Nakamura, M Hashizume. BM-derived cells are involved in the tumor microenvironment and promote invasion of pancreatic cancer. 48th Annual Meeting of the American Pancreatic Association, Poster, P1-36, Nov. 2017.

- ③ 岩本千佳, 大内田研宙, 奥村隆志, 持留直希, 遠藤翔, 中山宏道, 武居晋, 村田正治, 小田義直, 橋爪誠. 膵癌組織における様々な病理像とMR像の集積とデジタル画像統合による予測モデルの検討. 第26回日本コンピューター外科学会, Oral, 17(XVI)-4, Oct. 2017.

- ④ 岩本千佳. 腫瘍多元計算解剖学モデルによる知能化手術. 第26回日本コンピューター外科学会, シンポジウム, 17(SY)-10, Oct. 2017.

- ⑤ C Iwamoto, K Ohuchida, M Hashizume. Accumulation and integration of various medical images derived from genetically engineered mice with pancreatic cancer. 3rd International Symposium on the Project “Multidisciplinary Computational Anatomy”, Poster, #A03-1, Mar. 2017.

[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

岩本 千佳 (IWAMOTO, Chika)
九州大学大学院 医学研究院 特任助教
研究者番号 : 10752842

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号 :

(4) 研究協力者

大内田 研宙 (OHUCHIDA, Kenoki)
奥村 隆志 (OKUMURA, Takashi)
遠藤 翔 (ENDO, Sho)
肥川 和寛 (KOIKAWA, Kazuhiro)
武居 晋 (TAKESUE, Shin)