

令和 2 年 4 月 30 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10693

研究課題名(和文) 膵癌組織内で構築される免疫寛容・転移促進の分子基盤の解明と新規治療法の開発

研究課題名(英文) THE INFLUENCE OF SENESCENT STROMA ON PDAC

研究代表者

太田 哲生(Ohta, Tetsuo)

金沢大学・医学系・教授

研究者番号：40194170

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌切除標本を用いて検討した結果、線維芽細胞上に老化蛋白(p16染色)の発現が散在性にみられ、さらにSASP因子(IL-6染色)の発現も認められ、SASPに至った老化線維芽細胞が存在することが確認された。培養線維芽細胞に対して、放射線照射による細胞老化を起こしたところ、SASPが誘導された。さらにSASPが誘導された線維芽細胞は、膵癌細胞の浸潤能、移動能および増殖能を有意に亢進させていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、膵癌組織内で構築される薬剤抵抗性・免疫寛容状態と腫瘍の増殖・進展に関わる細胞間相互作用の分子基盤を、癌間質内の腫瘍関連線維芽細胞における細胞老化とSASP因子という視点から解明し、新規治療法開発の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is characterized by an extensive desmoplastic stroma. It is known that senescent cancer stroma affects cancer progression through the senescence-associated secretory phenotype (SASP). Our aims is to assess whether SASP factor expression is associated with the prognosis of patients with PDAC. To examine the expression and localization of senescent stromal cells, we carried out an immunohistochemical analysis using anti-p16 and IL-6 antibodies. IL-6 expression was detected with the intensity being weak in 36 and strong in 29 specimens. Patients with strong IL-6 expression had significantly lower overall survival rates than those with weak IL-6 expression. The intensity of stromal IL-6 expression was also correlated positively to the stromal p16 expression at the same area. The association of IL-6 expression with clinical outcomes provide us with an understanding of the effect of senescent stroma on the prognosis of PDAC.

研究分野：膵臓外科

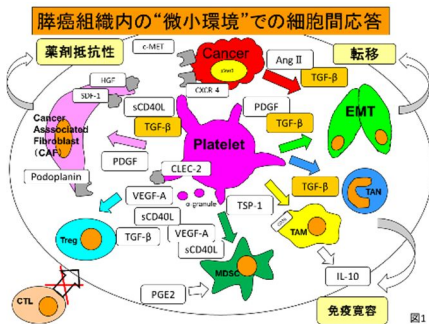
キーワード：膵癌 細胞老化 SASP

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

膵癌(浸潤性膵管癌)は5年生存率が5%未満と極めて予後不良の固形癌であるが、これは膵癌組織が豊富な線維性間質を有して高度の免疫寛容、薬剤抵抗性状態に陥っており、化学療法や免疫治療の効果を限定的なものにしていることが最大の要因である。この免疫寛容・薬剤抵抗性状態の構築には、膵癌細胞と間質細胞とともに間質細胞同士の相互作用も重要な役割を演じていることが考えられる。

膵癌組織に特有な desmoplastic stroma 内での腫瘍関連線維芽細胞(cancer-associated fibroblast: CAF)の果たす役割が注目されているが、線維芽細胞が筋線維芽細胞の特徴を有するCAFへと分化していく分子メカニズムはまだまだ不明な点が多く、また免疫寛容状態および転移促進に関わる細胞間相互作用の分子基盤も詳細には解明されていないのが実状である。



当教室では膵癌組織が豊富な線維性間質を有し、血管外血小板と腫瘍関連線維芽細胞(cancer-associated fibroblast: CAF)を中心としたデスモプラジヤな間質が上皮間葉転換、免疫寛容、薬剤抵抗性状態を誘導していることを報告してきた(図1)

近年、間質の「細胞老化」が癌の増殖や進展を誘導することが示唆されている。細胞老化は本来異常な細胞の増殖(癌化)を抑制する癌抑制機構であるが、老化細胞が長期間生存し続けると、IL-6などの炎症性サイトカインや細胞外マトリックス分解酵素(MMP)など、炎症や発癌を促進する因子を分泌するSASP(senescent associated

secretory phenotype)とよばれる現象が惹起されることが明らかになっている。これまで肝癌や卵巣癌での間質細胞の老化とSASPの検討はなされているが、膵癌では報告は殆んどない。

2. 研究の目的

本研究では、膵癌組織内で構築される薬剤抵抗性・免疫寛容状態と腫瘍の増殖・進展に関わる細胞間相互作用の分子基盤を、癌間質内でのCAFにおける細胞老化とSASPという視点から詳細に解明するとともに、細胞老化に着目した新規治療法の開発を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

膵癌切除標本において、老化線維芽細胞およびSASPの存在を検討する。

-1:膵癌切除標本を用いて、免疫染色により癌間質の老化した線維芽細胞の存在を確認する。

ヒト膵線維芽細胞にSASPを誘導し、膵癌の進展へ与える影響を検討する。

-1:線維芽細胞に放射線照射によるDNAダメージを与え、細胞老化さらにはSASPが誘導されるかを検討する。

-2:SASPが誘導された膵線維芽細胞を用いて、膵癌細胞の浸潤能、移動能、増殖能への影響を検討する。

4. 研究成果

-1.膵癌組織の蛍光免疫染色(老化蛋白(p16: red)、線維芽細胞(SMA: green)、細胞核(DAPI: blue))を行い、mergeすると老化蛋白を発現する線維芽細胞が確認された(図2a:弱拡大,b:強拡大)。またSASPを確認するため(老化蛋白(p16: red)、SASP因子(IL-6: green)、細胞核(DAPI: blue))の蛍光免疫染色を行うと老化蛋白とSASP因子を発現する線維芽細胞が確認された(図2c:弱拡大,d:強拡大)。この結果から膵癌の間質内にはSASPに至った老化CAFが存在することが示された。

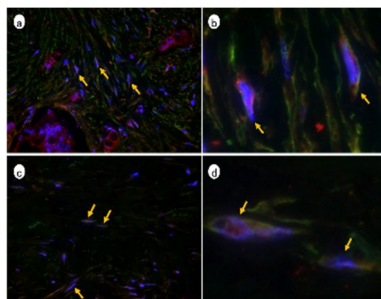
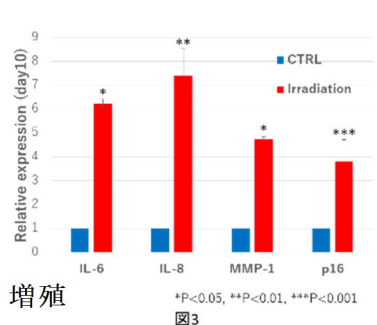


図2

-1.放射線照射によるヒト膵線維芽細胞の細胞老化の検討



近年、膵癌治療において術前に放射線化学療法を行う症例が増加してきている。そこで放射線による細胞老化と SASP の検討を行った。ヒト膵線維芽細胞に対して放射線照射(10Gy)を行い、DNA ダメージを加えると老化細胞に特異的な p16 および Senescence associated β -galactosidase が発現し、SASP 因子である IL-8 や MMP-1 の発現上昇も認められ、**SASP が誘導されていることが確認された**(図3)。さらに SASP を誘導した線維芽細胞の上清を膵癌細胞と共培養すると有意に**膵癌細胞の増殖能を亢進させることも確認している**。

-2. 膵癌細胞の浸潤能，移動能，増殖能への影響を検討
 SASP を誘導した線維芽細胞上清は，有意に膵癌細胞の増殖能を亢進させることを確認した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yuto Kitano, Tomoharu Miyashita, Tetsuo Ohta
2. 発表標題 PANCREATIC SENESCENT STROMA INFLUENCE ON PROGNOSIS IN PDAC
3. 学会等名 DDW2019 (国際学会)
4. 発表年 2019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	宮下 知治 (Miyashita Tomoharu) (30397210)	金沢大学・医学系・協力研究員 (13301)	