

令和 3 年 4 月 23 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08543

研究課題名(和文) 活性化ストローマ細胞とのクロストークを介した炎症性発癌メカニズムの解明

研究課題名(英文) Identification of molecular mechanism underlying inflammatory-related carcinogenesis through activating the stroma in gastric cancer

研究代表者

三宅 慧輔 (Miyake, Keisuke)

熊本大学・病院・リサーチ・スペシャリスト

研究者番号：10814759

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)：本研究の目的は、炎症環境における間質細胞の反応性および間質活性化の結果引き起こされる胃癌進展の分子メカニズムを明らかにすることである。まず繊維芽細胞を炎症性サイトカイン刺激し、その培養上清を用いて胃癌細胞に刺激を行った結果、未刺激の培養上清よりもサイトカイン刺激の培養上清の方が増殖能・浸潤能ともに促進することがわかった。さらにRNA-Seqによる網羅的遺伝子発現解析から活性化した繊維芽細胞はIL-6、IL-24およびLIFの分泌を介して胃癌の増殖を促進することが明らかになった。以上より、現時点で慢性炎症は繊維芽細胞を活性化させ、分泌物を介して胃癌の増殖浸潤を増強していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで腫瘍微小環境に存在する繊維芽細胞(CAFs)の働きによって癌細胞の増殖・浸潤が増長されることが報告されてきたが、本研究によって慢性炎症による繊維芽細胞の活性化が癌細胞のさらなる増殖・浸潤の増長を引き起こすことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to clarify the molecular mechanism of gastric cancer carcinogenesis and progression caused as a result of stromal cell reactivity and stromal activation in an inflammatory environment. First, fibroblasts were stimulated with inflammatory cytokines, and the culture supernatant was used to stimulate gastric cancer cells. As a result, the cytokine-stimulated culture supernatant was more proliferative and infiltrative than the unstimulated culture supernatant. It turned out to promote. Subsequent comprehensive gene expression analysis by RNA-Seq revealed that activated fibroblasts promote the growth of gastric cancer through the secretion of IL-6, IL-24 and LIF. From the above results, it was clarified that chronic inflammation activates fibroblasts and enhances the growth and infiltration of gastric cancer through secretions at present.

研究分野：腫瘍生物学、消化器外科学

キーワード：胃癌 癌関連繊維芽細胞 腫瘍間質

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

慢性炎症は様々な癌の **risk factor** であり、癌や腫瘍微小環境に働きかけ発癌、癌進展に関与することが報告されている。胃癌においても *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) 感染が慢性胃炎の原因となり発癌に関与することが知られ **Cancer associated fibroblast (CAFs)** もまた癌幹細胞ニッチとしての働きが知られているが、これらの相互的な関連性の詳細は不明であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は炎症による癌細胞と間質細胞の反応性の比較解析に基づいて、胃癌発癌・進展メカニズムに関わる間質細胞由来因子を同定する事である。炎症により活性化した間質細胞由来の癌細胞制御因子を同定することは、腫瘍間質を標的にした治療戦略を構築する礎になると考えられる。

3. 研究の方法

まず炎症性サイトカインが胃癌細胞株、間質細胞に対して与える影響を調べるため、炎症性サイトカイン刺激を行いそれぞれの細胞の増殖能を評価した。次に炎症性サイトカインによって繊維芽細胞を胃癌細胞に対する増殖能・浸潤能促進作用が亢進するのかを調べるため、サイトカイン刺激/未刺激の培養上清刺激の比較を行った。次に、これらの胃癌細胞と間質細胞がどういった分泌物を介してこの相互作用を促進しているか検討するために遺伝子発現量変化について RNA-Seq による網羅的遺伝子発現解析を行い、炎症性サイトカインによって誘導され胃癌細胞の増殖に関与する分泌タンパクの同定を行った。

4. 研究成果

本研究では、炎症環境における間質細胞の反応性および間質活性化の結果引き起こされる胃癌発癌・進展の分子メカニズムを明らかにすることを目的に研究を行った。

まず炎症性サイトカインが胃癌細胞株、間質細胞に対して与える影響を調べるため、炎症性サイトカイン刺激を行いそれぞれの細胞の増殖能を評価したところ、どちらも増殖能は低下することがわかった。次に繊維芽細胞を炎症性サイトカイン刺激し、その培養上清を用いて胃癌細胞に刺激を行った結果、未刺激の培養上清よりもサイトカイン刺激の培養上清の方がさらに増殖能・浸潤能ともに促進することがわかった。またこの時胃癌細胞は STAT1/3 シグナルが活性化していることがわかった。これらの結果から分泌物を介した間質細胞の相互作用が胃癌増殖において重要であることが考えられた。

次に、これらの胃癌細胞と間質細胞がどういった分泌物を介してこの相互作用を促進しているか検討するために網羅的遺伝子発現解析を行った。発現変化のあった遺伝子から先ほどの WesternBlot で分かった STAT1/3 シグナルを活性化させる可能性がある分泌タンパクをピックアップすると、IL-6、IL-24 および LIF が候補にあがった。この3つの候補のリコンビナントプロテインを用いて胃癌細胞に刺激を行うと、3つとも胃癌細胞の増殖を促進することがわかった。活性化した繊維芽細胞は、IL-6、IL-24 および LIF の分泌を介して胃癌の増殖を促進しているのだと考えられる。以上の結果から、現時点で慢性炎症は繊維芽細胞を活性化させ、IL-6、IL-24 および LIF の分泌を介した増殖能の亢進、浸潤能の促進によって胃癌の増殖浸潤を増強していることを明らかにした。

また、臨床検体を用いた解析から、胃癌組織において間質細胞と Tcell が逆相関しているとう結果が得られた (図 1)。4 種類の細胞をそれぞれ蛍光標識し共培養条件下で解析する実験を確立しており、今後は癌細胞、間質細胞、免疫細胞など相互的な解析を行っていく。

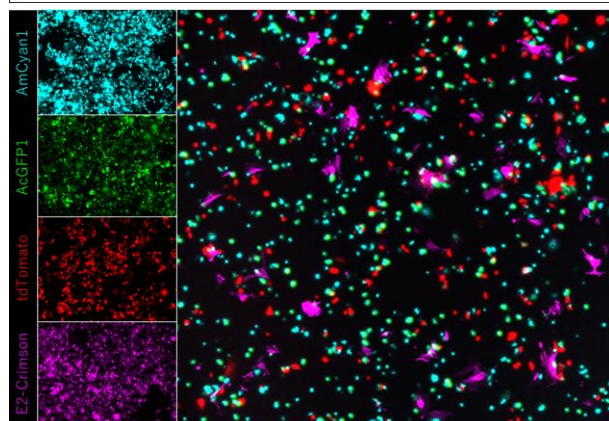
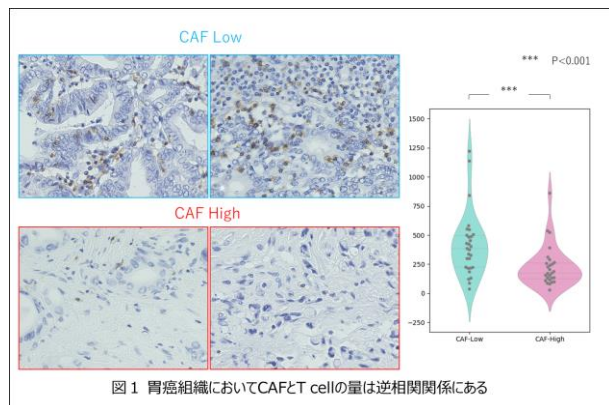


図 2 蛍光標識細胞による4種共培養系

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 3 件）

1. Inflammation-driven senescence-associated secretory phenotype in cancer-associated fibroblasts enhances peritoneal dissemination. Yasuda T, Koiwa M, Yonemura A, **Miyake K**, Kariya R, Kubota S, Yokomizo-Nakano T, Yasuda-Yoshihara N, Uchihara T, Itoyama R, Bu L, Fu L, Arima K, Izumi D, Iwagami S, Eto K, Iwatsuki M, Baba Y, Yoshida N, Ohguchi H, Okada S, Matsusaki K, Sashida G, Takahashi A, Tan P, Baba H, Ishimoto T. Cell Rep. 2021 Feb 23;34(8):108779.
2. Extracellular Vesicles from Cancer-Associated Fibroblasts Containing Annexin A6 Induces FAK-YAP Activation by Stabilizing beta1 Integrin, Enhancing Drug Resistance. Uchihara T, **Miyake K**, Yonemura A, Komohara Y, Itoyama R, Koiwa M, Yasuda T, Arima K, Harada K, Eto K, Hayashi H, Iwatsuki M, Iwagami S, Baba Y, Yoshida N, Yashiro M, Masuda M, Ajani JA, Tan P, Baba H, Ishimoto T. Cancer Res. 2020 Aug 15;80(16):3222-3235.
3. Biological heterogeneity and versatility of cancer-associated fibroblasts in the tumor microenvironment. Bu L, Baba H, Yoshida N, **Miyake K**, Yasuda T, Uchihara T, Tan P, Ishimoto T. Oncogene. 2019 Jun;38(25):4887-4901.

〔学会発表〕（計 2 件）

三宅 慧輔, 内原 智幸, 江藤 二男, 有馬 浩太, 安田 忠仁, 付 凌峰, 米村 敦子, 岩槻 政晃, 馬場 祥史, 宮本 裕士, 吉田 直矢, 馬場 秀夫, 石本 崇胤

腫瘍関連炎症による間質の活性化は STAT1/3 シグナルの活性化を介して胃癌進展を促進する

第 42 回 日本分子生物学会年会、2018、ポスター

石本 崇胤、**三宅 慧輔**、米村 敦子、安田 忠仁、伊東山 瑠美、内原 智幸、吉田 直矢、馬場 秀夫

腫瘍微小環境に依存する胃がん浸潤性増殖機構の解明

第 78 回 日本癌学会学術総会、2019、ポスター

〔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：

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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：石本崇胤

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

研究分担者氏名：今村裕

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

研究分担者氏名：日比泰造

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：なし

ローマ字氏名：

※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、研究者個人に帰属されます。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Bu L, Baba H, Yoshida N, Miyake K, Yasuda T, Uchihara T, Tan P, Ishimoto T	4. 巻 38
2. 論文標題 Biological heterogeneity and versatility of cancer-associated fibroblasts in the tumor microenvironment.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncogene	6. 最初と最後の頁 4887-4901
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41388-019-0765-y	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 Arima Kota, Ohmuraya Masaki, Miyake Keisuke, Koiwa Mayu, Uchihara Tomoyuki, Izumi Daisuke, Gao Feng, Yonemura Atsuko, Bu Luke, Okabe Hirohisa, Imai Katsunori, Hashimoto Daisuke, Baba Yoshifumi, Chikamoto Akira, Yamashita Yo-ichi, Furukawa Toru, Araki Kimi, Baba Hideo, Ishimoto Takatsugu	4. 巻 38
2. 論文標題 Inhibition of 15-PGDH causes Kras-driven tumor expansion through prostaglandin E2-ALDH1 signaling in the pancreas	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncogene	6. 最初と最後の頁 1211 ~ 1224
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41388-018-0510-y	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 Uchihara T, Miyake K, Yonemura A, Komohara Y, Itoyama R, Koiwa M, Yasuda T, Arima K, Harada K, Eto K, Hayashi H, Iwatsuki M, Iwagami S, Baba Y, Yoshida N, Yashiro M, Masuda M, Ajani JA, Tan P, Baba H, Ishimoto T.	4. 巻 80
2. 論文標題 Extracellular Vesicles from Cancer-Associated Fibroblasts Containing Annexin A6 Induces FAK-YAP Activation by Stabilizing α 1 Integrin, Enhancing Drug Resistance	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 3222 ~ 3235
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1158/0008-5472.CAN-19-3803	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 Yasuda T, Koiwa M, Yonemura A, Miyake K, Kariya R, Kubota S, Yokomizo-Nakano T, Yasuda-Yoshihara N, Uchihara T, Itoyama R, Bu L, Fu L, Arima K, Izumi D, Iwagami S, Eto K, Iwatsuki M, Baba Y, Yoshida N, Ohguchi H, Okada S, Matsusaki K, Sashida G, Takahashi A, Tan P, Baba H, Ishimoto T	4. 巻 34
2. 論文標題 Inflammation-driven senescence-associated secretory phenotype in cancer-associated fibroblasts enhances peritoneal dissemination	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 108779 ~ 108779
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.celrep.2021.108779	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 -

〔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 石本 崇胤、三宅 慧輔、米村 敦子、安田 忠仁、伊東山 瑠美、内原 智幸、吉田 直矢、馬場 秀夫
2. 発表標題 腫瘍微小環境に依存する胃がん浸潤性増殖機構の解明
3. 学会等名 第78回 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三宅 慧輔、内原 智幸、江藤 二男、有馬 浩太、安田 忠仁、付 凌峰、米村 敦子、岩槻 政晃、馬場 祥史、宮本 裕士、吉田 直矢、馬場 秀夫、石本 崇胤
2. 発表標題 Activated-stroma by cancer-related inflammation enhances gastric cancer progression through activation of STAT1/3 signaling
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会
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	石本 崇胤 (Ishimoto Takatsugu) (00594889)	熊本大学・病院・特任准教授 (17401)	
研究分担者	有馬 浩太 (Arima Kota) (10792616)	熊本大学・病院・非常勤診療医師 (17401)	
研究分担者	泉 大輔 (Izumi Daisuke) (60594877)	熊本大学・病院・非常勤診療医師 (17401)	

6. 研究組織（つづき）

	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	今村 裕 (Imamura Yu) (70583045)	公益財団法人がん研究会・有明病院 消化器外科・医長 (72602)	
研究分担者	日比 泰造 (Hibi Taizo) (10338072)	熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・教授 (17401)	

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