

令和 3 年 6 月 6 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08714

研究課題名(和文) 臨床応用を目的とした放射線耐性膵癌における癌幹細胞マーカーCXCR4の検討

研究課題名(英文) Examination of cancer stem cell marker CXCR4 in radiation-resistant pancreatic cancer for clinical application

研究代表者

今藤 裕之 (Imafuji, Hiroyuki)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・助教

研究者番号：80790641

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)：局所進行切除不能膵癌に対する治療として化学放射線療法が行われているが、その治療効果は十分とは言えない。今回、われわれは、独自に樹立した放射線耐性膵癌細胞株においてCXCR4の発現が亢進していること、放射線耐性株においてCXCL12/CXCR4シグナルが膵癌細胞株の浸潤能に関与しており、このシグナルを抑制することで浸潤能も抑制されることを明らかにした。CXCR4阻害剤を用いてCXCL12/CXCR4シグナルを抑制することが放射線に耐性化した膵癌に対して抗腫瘍効果をもたらす可能性が示唆されたが、臨床応用につなげるためには更なる機能解析が必要であると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

局所進行膵癌の治療において、局所制御を行うとともに遠隔転移病巣の出現をいかに防止するかが生命予後の改善には重要であり、有効性の高い治療薬の開発は重大な課題である。今回、放射線耐性膵癌においてCXCL12/CXCR4シグナルが膵癌細胞株の浸潤能に関与しており、CXCR4阻害剤を用いることで浸潤能を抑制できることを明らかとした。CXCL12/CXCR4シグナルをターゲットとした分子標的薬剤の開発の可能性が示唆され、その臨床応用に向けた重要な研究であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Chemoradiotherapy is used as a treatment for locally advanced unresectable pancreatic cancer, but its therapeutic effect is not sufficient. Here, we showed that the expression of CXCR4 is upregulated in the radiation-resistant pancreatic cancer cell line, and that CXCL12 / CXCR4 signal is involved in the invasion ability of the radiation-resistant pancreatic cancer cell line. And we also showed that suppression of this signal suppressed the invasion ability of the radiation-resistant strain. It has been suggested that suppression of CXCL12 / CXCR4 signal using a CXCR4 antagonist may have an antitumor effect on radiation-resistant pancreatic cancer, but further functional analysis is required for clinical application.

研究分野：消化器外科学

キーワード：膵癌 放射線耐性 CXCL12/CXCR4シグナル 浸潤 CXCR4阻害剤

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

局所進行切除不能膵癌に対する治療として化学放射線療法が行われているが、その治療効果は十分とは言えない。局所制御を行うとともに遠隔転移病巣の出現をいかに防止するかが生命予後の改善には重要であり、有効性の高い治療薬の開発は重大な課題である。われわれは膵癌の放射線耐性化のメカニズムを解明し新たな分子標的薬剤を発見することを目的に、放射線耐性膵癌細胞株を樹立することに成功した。さらに、耐性株の解析から、膵癌の癌幹細胞マーカーである CXCR4 の発現が増強していることを発見した。これまでにわれわれは、CXCL12/CXCR4 シグナルが膵癌の増殖、浸潤、血管新生に重要な役割を持つこと、CXCR4 阻害剤が抗腫瘍効果を持つことを報告してきた。⁽¹⁻³⁾

参考文献

1. Matsuo Y, et al. International Journal of Cancer, 2009;125: 1027-1037.
2. Matsuo Y, et al. International Journal of Cancer, 2009;124: 853-861.
3. Sung B, Matsuo Y, Guha S, et al. Cancer Res. 2008; 68: 8938-44.

2. 研究の目的

上記の背景をもとに放射線耐性化に伴って CXCR4 発現が増強した膵癌に対し、このシグナルを制御することが新たな分子標的薬剤の役割を果たすと考え、この機構を解析し臨床応用を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

放射線耐性化によって発現が増強した膵癌細胞の CXCR4 を制御し、これにともなう腫瘍抑制効果を検討した。今までにわれわれが報告してきた CXCL12/CXCR4 シグナルの働きを踏まえて、以下の研究を行った。

(1) 放射線耐性化に伴う膵癌細胞株の CXCR4 発現増加の検討

(1-) CXCR4 mRNA 発現の比較検討

放射線耐性株、通常株に対して RT-PCR を行い、CXCR4 mRNA の発現を比較した。

(1-) タンパクレベルでの CXCR4 発現の比較検討

膜タンパクを抽出し、CXCR4 ELISA でタンパク発現を比較した。

(1-) 細胞膜上での CXCR4 発現の比較検討

免疫細胞染色を行い、細胞膜上での CXCR4 の発現を比較した。

(2) 放射線耐性化に伴う膵癌細胞株の生物学的特徴の変化の検討

(2-) 増殖試験(WST-1 assay)による細胞増殖能の比較検討

耐性株、通常株に対して細胞増殖試験を行い、放射線耐性化にともなう差異を検討した。

(2-) 浸潤実験(Matrigel invasion assay)による細胞浸潤能の比較検討

膵癌細胞は CXCL12/CXCR4 axis を介して浸潤能が亢進することが報告されている。放射線耐性株では CXCR4 発現が亢進しているため浸潤能も高いと考えられる。浸潤実験を行い評価した。CXCL12 投与および CXCR4 阻害剤を用いて CXCL12/CXCR4 axis の関与を検討した。CXCL12 は線維芽細胞が分泌することが報告されているおり、線維芽細胞との共培養を行い、同様に CXCR4 阻害剤を用いる検討も行った。

4. 研究成果

(1) 放射線耐性に伴う膀胱癌細胞株の CXCR4 発現増加の検討

(1-) CXCR4 mRNA 発現の比較検討(Figure1-A)

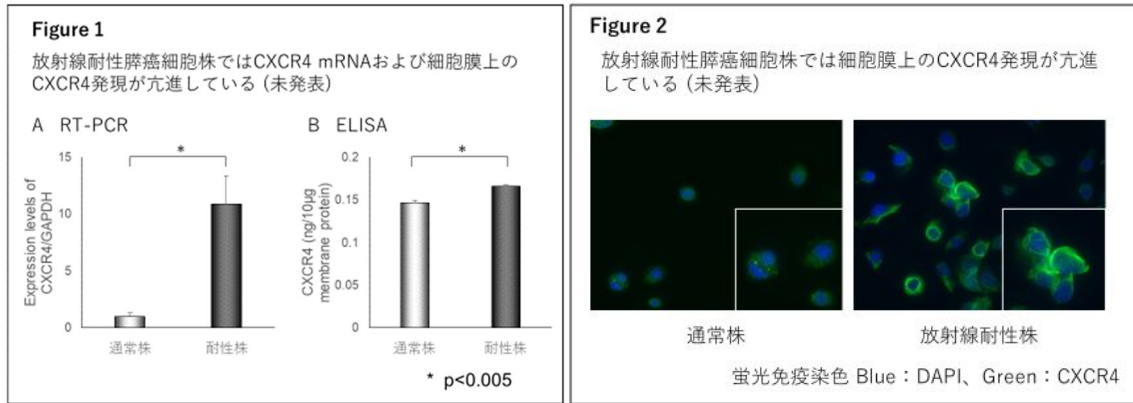
通常株に比較して、耐性株で CXCR4 mRNA の発現亢進を認めた。

(1-) タンパクレベルでの CXCR4 発現の比較検討(Figure1-B)

通常株に比較して、耐性株で細胞膜タンパク内の CXCR4 発現は亢進していた。

(1-) 細胞膜上での CXCR4 発現の比較検討(Figure2)

通常株と比較して耐性株では、細胞膜上で CXCR4 の発現が亢進していることを確認した。



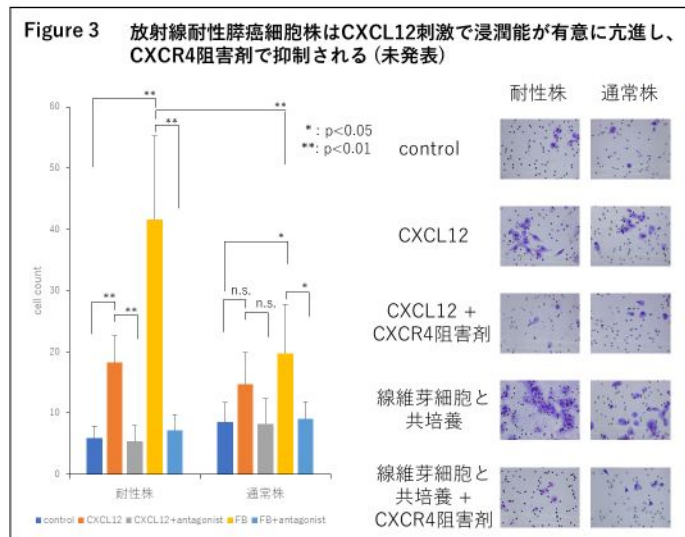
(2) 放射線耐性に伴う膀胱癌における生物学的特徴の変化の解明 :

(2-) 細胞増殖能の比較検討

感受性株と耐性株の増殖能に有意差を認めなかった。

(2-) 浸潤能の比較検討(Figure3)

CXCL12 を投与することで通常株、耐性株共に浸潤能の亢進を認めた。線維芽細胞との共培養下に浸潤実験を行うと浸潤能は亢進し、この変化は通常株に比較して耐性株でより顕著であった。CXCL12 の投与および線維芽細胞との共培養で亢進した浸潤能は CXCR4 阻害薬を投与することで有意に抑制された。



今回、われわれは、独自に樹立した放射線耐性膀胱癌細胞株において CXCR4 の発現が亢進していること、放射線耐性株において CXCL12/CXCR4 シグナルが膀胱癌細胞株の浸潤能に関与しており、このシグナルを抑制することで浸潤能も抑制されることを明らかにした。CXCR4 阻害剤を用いて CXCL12/CXCR4 シグナルを抑制することが放射線に耐性化した膀胱癌に対して抗腫瘍効果をもたらす可能性が示唆されたが、臨床応用につなげるためには更なる機能解析が必要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 今藤裕之, 松尾洋一, 前田杏梨, 上田悟郎, 大見関, 林祐一, 齊藤健太, 坪井謙, 森本守, 小川了, 高橋広城, 瀧口修司
2. 発表標題 膵癌の放射線耐性化と癌幹細胞マーカーCXCR4の関与
3. 学会等名 第119回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今藤裕之, 松尾洋一, 上田悟郎, 大見関, 林祐一, 齊藤健太, 坪井謙, 森本守, 小川了, 高橋広城, 瀧口修司
2. 発表標題 Enhancement of the CXCL12/CXCR4 signaling axis with acquisition of radiation resistance in pancreatic cancer cells
3. 学会等名 第57回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今藤裕之, 松尾洋一, 上田悟郎, 林祐一, 斎藤健太, 社本智也, 坪井謙, 森本守, 坂本宣弘, 高橋広城, 石黒秀行, 瀧口修司
2. 発表標題 放射線耐性膵癌における CXCL12/CXCR4シグナルの関与
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 今藤裕之, 松尾洋一, 上田悟郎, 林祐一, 斎藤健太, 社本智也, 坪井謙, 森本守, 高橋広城, 石黒秀行, 瀧口修司
2. 発表標題 Role of cancer stem cell marker CXCR4 in radiation resistant pancreatic cancer cells
3. 学会等名 第30回日本肝胆膵外科学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今藤裕之, 松尾洋一, 上田悟郎, 大見関, 林祐一, 齊藤健太, 社本智也, 坪井謙, 森本守, 高橋広城, 石黒秀行, 瀧口修司
2. 発表標題 放射線耐性膵癌におけるCXCL12/CXCR4シグナルの役割
3. 学会等名 第27回日本がん転移学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今藤裕之, 松尾洋一, 上田悟郎, 大見関, 林祐一, 齊藤健太, 坪井謙, 森本守, 高橋広城, 石黒秀行, 瀧口修司
2. 発表標題 Role of CXCL12/CXCR4 signaling axis in radiation resistant pancreatic cancer cells
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今藤裕之, 松尾洋一, 前田杏梨, 上田悟郎, 大見関, 林祐一, 齊藤健太, 坪井謙, 森本守, 小川了, 高橋広城, 瀧口修司
2. 発表標題 放射線耐性膵癌に対するCXCR4アンタゴニストの効果の検討
3. 学会等名 第52回制癌剤適応研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今藤裕之, 松尾洋一, 前田杏梨, 上田悟郎, 大見関, 林祐一, 齊藤健太, 坪井謙, 森本守, 小川了, 高橋広城, 瀧口修司
2. 発表標題 膵癌の放射線耐性化と癌幹細胞マーカーCXCR4の関与
3. 学会等名 第119回日本外科学会定期学術集会
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	上田 悟郎 (Ueda Goro) (00811720)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・臨床研究医 (23903)	
研究分担者	齋藤 健太 (Saito Kenta) (10770240)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・助教 (23903)	
研究分担者	松尾 洋一 (Matsuo Yoichi) (40381800)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授 (23903)	
研究分担者	林 祐一 (Hayashi Yuichi) (60811726)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・助教 (23903)	

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