

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16319

研究課題名(和文) 膵オルガノイドを用いた微小環境再現による癌進展抑制性膵星細胞の解明

研究課題名(英文) Elucidation of pancreatic stellate cells that suppress cancer progression by reproducing the microenvironment using pancreatic organoids.

研究代表者

千々岩 芳朗 (CHIJIWA, Yoshiro)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：60783701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト膵癌由来のactive PSCと、All Trans Retinoic Acid(ATRA)を用いて誘導した静止期状態のPSC(Quiescent PSC; qPSC)をマイクロアレイで解析し、qPSCに特異的なマーカーを検索したところ、いくつかの候補遺伝子が挙げられた。しかし、その候補遺伝子のover expression、またはdown regulationによるPSCの機能的変化において有意な結果が得られなかった。また、ヒト膵癌切除組織の腫瘍浸潤部と非浸潤部のPSCをマイクロダイセクションによって採取し、マイクロアレイによる解析を行って腫瘍抑制性に働く可能性のあるPSCを同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵癌の特徴として豊富なdesmoplasiaが良く知られており、膵癌の悪性度の高さとの関連が示唆されている。近年、膵癌間質をターゲットとした治療アプローチが多く研究されてきたが、膵癌間質が腫瘍支持性に機能するのみならず腫瘍抑制性に機能している可能性が考えられ、本研究において、腫瘍抑制性PSCをfocusとした研究を行った。しかし、膵癌抑制性のPSCに関して、その存在を示唆する結果は得られたが、その状態を誘導したり、抑制性PSC特異的なマーカーとなり得る因子の同定には至らなかった。アプローチを再検討し、抑制性PSCマーカーの同定が可能となれば、抑制性機序の解明につながると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We analyzed active PSCs derived from human pancreatic cancer and quiescent PSCs (Quiescent PSCs; qPSCs) induced using All Trans Retinoic Acid (ATRA) by microarray and searched for markers specific to qPSCs. Although some candidate genes were listed, overexpression or down regulation of those candidate genes did not give a significant result regarding the functional change of PSC.

In addition, the tumor infiltrated and non-infiltrated PSCs of human pancreatic cancer excised tissue were collected by laser microdissection and analyzed by microarray. As a result, we identified a PSC that may act as a tumor suppressor.

Induction of inhibitory PSCs by a compound library was tried, but morphological changes like qPSCs could not be achieved.

研究分野：医歯薬学

キーワード：膵癌 腫瘍微小環境 癌間質相互作用 腫瘍抑制性 膵星細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

膵癌は予後不良の疾患であり、積極的な研究にもかかわらず、ここ 10 年で生存率の改善はほとんどみられていない。早期から浸潤、転移をきたす生物学的悪性度が高いこと、さらには放射線、化学療法にも抵抗性を示すことが多い点が、生存率に改善が見られない原因として考えられており、膵癌の新規治療法の開発は社会的要請度・貢献度・緊急性が高い。

膵癌は desmoplasia と呼ばれる過剰な癌間質増生を特徴としており、膵癌の間質において主要な成分の 1 つが膵星細胞 (Pancreatic stellate cells; PSC) である。PSC と膵臓癌細胞との間のクロストークによって腫瘍増殖、転移および薬剤耐性を促進すること (A.Vonlaufen et al., Cancer Res, 2008)、局所および遠隔腫瘍増殖を刺激する腫瘍促進環境を作り出すことが知られており (Bachem MG et al., Gastroenterology, 2005)、こういった面が臨床結果に乏しい原因と考えられ、膵癌間質は新たな治療ターゲットとして注目されている。

しかし、膵癌の desmoplasia の減少させることは薬剤送達効率を改善するが、間質の防御壁としての役割を損なうために癌細胞を拡散させる可能性があるという指摘 (Erkan M, Pancreatology, 2013) した報告等もあり、膵癌間質が腫瘍支持性に機能するのみならず腫瘍抑制性に機能している可能性が考えられ、膵癌 desmoplasia 標的治療の有効性が臨床試験で示せていない一因と考えた。

つまり、PSC および膵間質全体をターゲットとするのではなく、腫瘍抑制性 PSC や膵間質をターゲットとした、PSC の heterogeneity に特異的な治療戦略が求められているといえる。

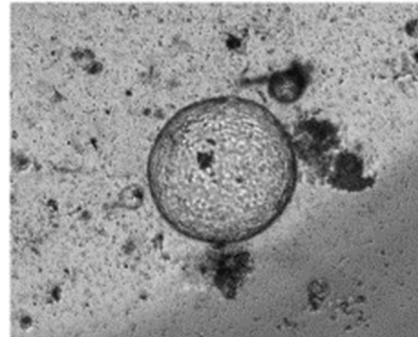
2. 研究の目的

PSC や癌間質の多様性の観点から、腫瘍支持・進展性の PSC から腫瘍抑制性の PSC を誘導するスイッチング機構を解明し、癌微小環境の初期化いわゆる reprogramming により膵癌進展を制御する、新たな膵癌治療戦略を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

ヒト由来の膵癌オルガノイドとともに、活性化と静止状態を調整した PSC をマウスに同所移植し、癌の進展を分析し、腫瘍抑制性 PSC を同定する。

腫瘍支持・進展性 PSC と腫瘍抑制性 PSC のスイッチング機構を解明する。具体的にはヒト膵切除組織から樹立したオルガノイドとで同定した PSC のマウス膵同所移植によってより生理的に近い状態で癌微小環境を再現し、腫瘍支持・進展性 PSC と腫瘍抑制性 PSC を in vivo で機能的に同定する。



当研究室で樹立した膵癌患者由来の膵癌オルガノイド

それぞれの PSC によって形成される間質の違いを解析し、抗癌剤に対する薬剤耐性を検討する。

最終的には、腫瘍促進性 PSC の機能を初期化し、膵癌間質 reprogramming を誘導するという新たなアプローチによる癌制御法の開発を目指し、予後を改善しうる治療法を開発する。

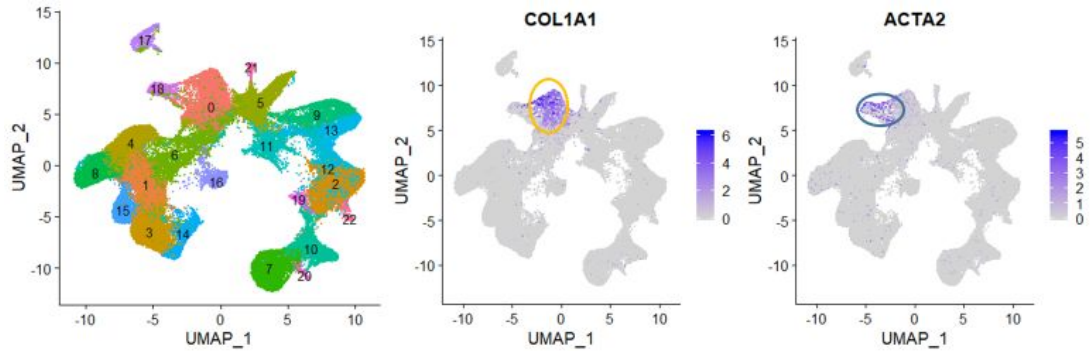
4. 研究成果

ヒト膵癌由来の active PSC と、All Trans Retinoic Acid (ATRA) を用いて誘導した静止期状態の PSC (Quiescent PSC; qPSC) をマイクロアレイで解析し、qPSC に特異的なマーカーを検索した。いくつかの候補遺伝子が挙げられたため、その候補遺伝子に関しての in vitro・in vivo 実験を行った。しかし、その候補遺伝子の over expression、または down regulation による PSC の機能的変化において有意な結果が得られなかった。また、ヒト膵癌切除組織の腫瘍浸潤部と非浸潤部の PSC をマイクロダイセクションによって採取し、マイクロアレイによる解析を行って腫瘍抑制性に働く可能性のある PSC を同定した。腫瘍促進性の PSC を腫瘍抑制性の PSC へと誘導する薬物を同定するために、化合物ライブラリーを用いた薬物スクリーニングを行ったが、ATRA を用いて作成した qPSC のような形態的变化 (紡錘形から類円形への変化、脂肪滴の出現) を起こす化合物は発見することができなかった。

そこで、腫瘍抑制性PSCを検索するアプローチを変更し、固形癌切除検体を用いてSingle cell mRNA seq による transcriptome 解析を行い、CAFs の heterogeneity を検討した。その結果、COL1A1 などのコラーゲンを産生する遺伝子を多く発現する CAFs と、SMA 陽性の CAFs との二つに大別されることが分かった。SMA 陽性のCAFはmyCAFと呼称され、腫瘍抑制性のものであるとの報告があるが、当研究室のデータにおいて同様の傾向となるかどうか、現在解析を進めているところである。

また、ヒト由来膵癌オルガノイドを用いた実験において、膵癌オルガノイドにPSCを加え、共培養実験を行うと、オルガノイドの形成促進や形態変化(浸潤など)を認めるが、やはり、抑制性の反応は認められなかった。

総じて、抑制性のPSCの存在は示唆されたが、その誘導、特定因子などの解明には至らなかった。



ヒト癌組織のsingle cell発現解析の図

ACTA2(α SMA)陽性のFibroblastと陰性のFibroblastが存在する

(自験例)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----