

令和 5 年 4 月 28 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09038

研究課題名（和文）RNF43遺伝子異常によるWNTシグナルネットワークを介した膵発癌機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of pancreatic carcinogenesis mechanism via WNT signaling by RNF43 gene abnormalities

研究代表者

杉原 栄孝（Sugihara, Hidetaka）

熊本大学・病院・非常勤診療医師

研究者番号：10608863

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：WNTシグナル異常によって形成された膵癌の微小環境を構成する細胞群の中でCancer associated fibroblasts(CAFs)に焦点を当て、がん細胞との代謝機構の解明を行った。膵癌細胞はLDHAを介して乳酸を産生しており、産生された乳酸がCAFsの増殖を促すことで、癌の増殖・進展にかかわってくることを明らかにした。CAFsは癌細胞が産生する乳酸を栄養として再利用して共生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

膵癌は予後不良な難治がんであり、新たな治療戦略の構築が喫緊の課題である。膵癌細胞に有効な薬剤は少なく、腫瘍細胞のみならず、腫瘍微小環境に存在する細胞群にも有効に作用することで高い治療効果を得ることができる。Cancer associated fibroblasts(CAFs)と呼ばれる線維芽細胞が癌促進に重要な働きをしており、CAFsに着目することで新たな治療戦略を構築しうる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We focused on cancer-associated fibroblasts (CAF) among the various cell types that form cancer tissue, and evaluated the metabolic system of CAFs. Pancreatic cancer cells produced lactate through LDHA, and it was clarified that the lactate produced promotes the growth and progression of CAFs. It was found that CAFs live in symbiosis with cancer cells by reusing lactate produced by cancer cells as nutrients.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：膵癌 LDHA CAFs 乳酸

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦においても膵癌は予後不良の疾患であり、有効な薬物治療の開発が喫緊の課題である。膵癌は一般的に乏血性の腫瘍であるにも関わらず、糖代謝が亢進していることが特徴的であり、他癌に比較し、独自の代謝変容を確立していることが推測される。癌における解糖系の亢進であるワーバーグ効果が強く関係していることは明らかであったが、特定の遺伝子変異(シグナル活性化)とがん代謝の関連性については不明であった。

2. 研究の目的

癌における解糖系に関する Lactate dehydrogenase A(LDHA)と産生される乳酸に焦点をあて腫瘍微小環境中に存在する CAFs(Cancer-Associated Fibroblasts)への影響を解析し、新規の治療ターゲットや予後予測因子を創出する。

3. 研究の方法

(1)ヒト膵癌組織の LDHA の免疫染色を行い、LDHA 発現の意義を検討した。

(2)膵癌細胞における LDHA の KD を行い、癌細胞における影響を検討した。

(3)マウス膵癌細胞の LDHA の KO を行い、癌の増殖の評価を行った。また間質細胞が豊富な膵癌細胞での評価も行うため膵癌細胞とともにマウスから樹立した線維芽細胞を共移植し、癌増殖の評価を行った。

(4)膵癌細胞と間質細胞を共移植しグルコース競合を評価した。

(5)グルコース飢餓培地で CAFs を培養し乳酸刺激による増殖能を評価した。

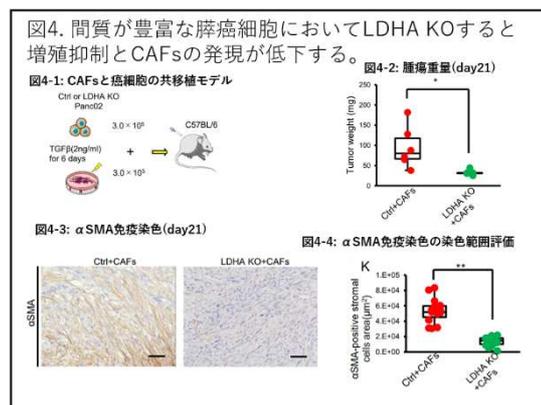
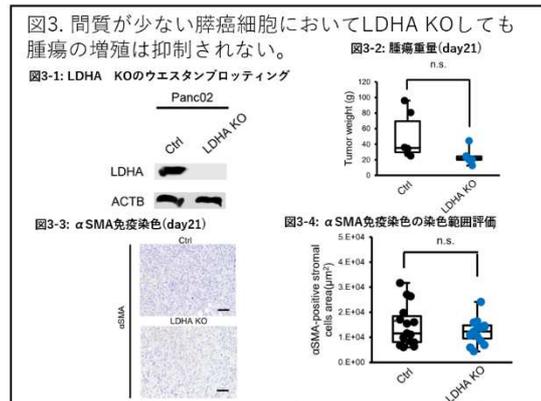
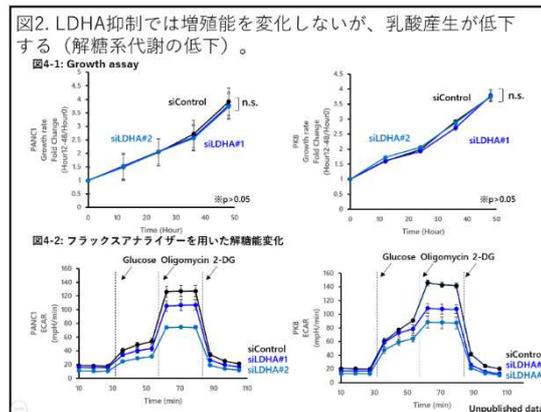
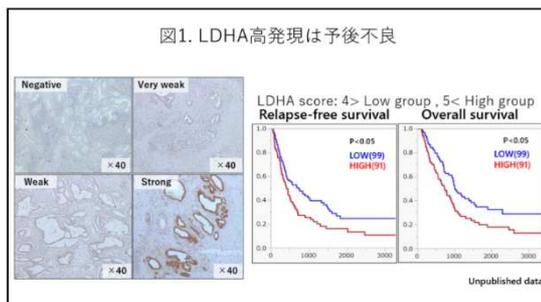
(6)CAFs に乳酸刺激を行いメタボローム解析を行った。

4. 研究成果

(1)ヒト膵癌切除検体 190 例を用いて LDHA の免疫染色をおこなった。LDHA の発現強度と発現範囲でスコアリングを行い、高発現、低発現に分類し予後を検討した。LDHA 高発現症例は有意に予後不良であった。(図 1)

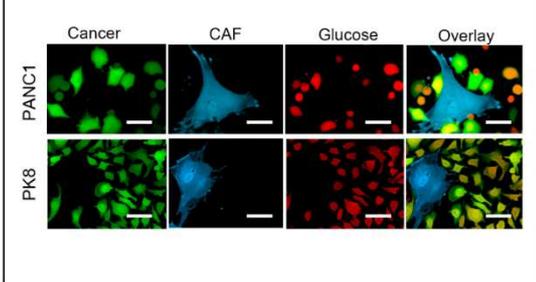
(2)膵癌細胞株の LDHA の発現抑制を行い、細胞の増殖能を検討した。LDHA を KD しても膵癌の増殖能に変化は認めなかった。そこでフラックスアナライザーを用いた解糖能の変化を検討したところ LDHA を KD することで有意に解糖能が低下した。

(3)マウスの膵癌細胞株の LDHA の KO を行いマウスの皮下へ移植した。LDHA KO することで細胞増殖が抑制される傾向があったが、有意差はなかった。もともとの腫瘍の間質量が少ないことが起因すると考え(図 3)、CAFs と癌細胞を共移植して LDHA 発現の影響を評価したところ、LDHA KO により腫瘍重量と CAFs 発現の低下を認めた。(図 4)



(4)膵癌細胞と膵癌患者検体より樹立した CAFs を *in vitro* で共培養し、蛍光グルコースを付加することでグルコース競合を評価した。癌細胞において有意にグルコースの取り込みが増加し、CAFs はグルコース飢餓状態であった。(図 5) さらにグルコース飢餓培地において CAFs に乳酸刺激を行い増殖能の検討を行ったところ乳酸刺激により有意に細胞増殖が亢進した。

図5. 蛍光色素付きグルコースを用いたがん細胞とCAFsの糖取り込みの検討



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Bu L, Yonemura A, Yasuda-Yoshihara N, Uchihara T, Ismagulov G, Takasugi S, Yasuda T, Okamoto Y, Kitamura F, Akiyama T, Arima K, Itoyama R, Zhang J, Fu L, Hu X, Wei F, Arima Y, Moroishi T, Nishiyama K, Sheng G, Mukunoki T, Otani J, Baba H, Ishimoto T	4. 巻 113
2. 論文標題 Tumor microenvironmental 15 PGDH depletion promotes fibrotic tumor formation and angiogenesis in pancreatic cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 3579 ~ 3592
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15495	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 該当する

1. 著者名 Fu L, Yonemura A, Yasuda-Yoshihara N, Umemoto T, Zhang J, Yasuda T, Uchihara T, Akiyama T, Kitamura F, Yamashita K, Okamoto Y, Bu L, Wei F, Hu X, Liu Y, Ajani JA, Tan P, Baba H, Ishimoto T.	4. 巻 25
2. 論文標題 Intracellular MUC20 variant 2 maintains mitochondrial calcium homeostasis and enhances drug resistance in gastric cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gastric Cancer	6. 最初と最後の頁 542 ~ 557
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10120-022-01283-z	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 該当する

1. 著者名 Itoyama R, Yasuda-Yoshihara N, Kitamura F, Yasuda T, Bu L, Yonemura A, Uchihara T, Arima K, Hu X, Jun Z, Okamoto Y, Akiyama T, Yamashita K, Nakao Y, Yusa T, Kitano Y, Higashi T, Miyata T, Imai K, Hayashi H, Yamashita YI, Mikawa T, Kondoh H, Baba H, Ishimoto T	4. 巻 523
2. 論文標題 Metabolic shift to serine biosynthesis through 3-PG accumulation and PHGDH induction promotes tumor growth in pancreatic cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Letters	6. 最初と最後の頁 29 ~ 42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.canlet.2021.09.007	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 北村 文優、石本 崇胤
2. 発表標題 膵癌が産生する乳酸が腫瘍微小環境に与える分子生物学的検討
3. 学会等名 日本外科学会
4. 発表年 2022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)	

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