

令和 5 年 5 月 17 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16192

研究課題名（和文）がん組織の生体イメージングを用いた浸潤メカニズムおよび責任因子の解明

研究課題名（英文）Research for cancer invasion mechanism and responsible factor with intravital imaging technology

研究代表者

松井 崇浩（Matsui, Takahiro）

大阪大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：50747037

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）：悪性腫瘍の進行の過程で、腫瘍細胞の浸潤に関する特性は極めて重要な因子であるとの認識は以前からなされてきたが、従来の組織標本からは、浸潤という腫瘍細胞の動態に関する情報を取得するのは困難であった。本研究では、生体イメージング技術を用いてモデル動物を観察し、悪性新生物の進行過程における腫瘍細胞の動態を可視化することを試みた。そして腫瘍の浸潤を早期に検出でき、臨床医学におけるがん組織診断にも応用できるような因子の抽出を試みた。さらに、確立した評価系がヒトの腫瘍組織においても実際に適用できることを検証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

悪性腫瘍（がん）の早期発見については、現在の本邦の医療状況において最重要課題といえる課題であり、本研究で見出された成果の社会的意義は極めて大きい。また、組織病理学に立脚した基礎研究成果と光学イメージング技術とを融合した学際的な研究が、悪性腫瘍の理解に大きな意義があることを示すものでもある。現時点では国際的にも同様の研究の報告例はなく、世界的にも独自性の高い内容であり、学術的に大きな意義がある。

研究成果の概要（英文）：Although it has long been recognized that the characteristics of tumor cell dynamics are extremely important factors in the progression of malignant tumors, it has been difficult to obtain information on cell dynamics from conventional tissue specimens. In this study, we observed model animals using intravital imaging technology and visualized the dynamics of tumor cells during tumor growth and invasion. As a result, we extracted the factors that can detect the tumor invasion at early stage and can be applied to the cancer diagnosis in clinical medicine. Moreover, we found that the established evaluation system can be actually applied to human tissue samples.

研究分野：人体病理学

キーワード：生体イメージング

1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍は、遺伝子変異によって生じた良性腫瘍や前がん病変のような微小な病変から、遺伝子変異の蓄積や他の細胞との相互作用などによって進展し、進行性の病変に至るまで、形状やふるまいを変化させてダイナミックに進行していく。この進行の過程を詳細に理解するうえで、とりわけ「浸潤」や「転移」といった腫瘍細胞の動態に関する特性は極めて重要な因子であると認識されてきた。しかし臨床医学の病理診断の領域や実験医学のほとんどの領域で使用されている組織標本は、ある一時点のがん組織を切離して細胞の状態を固定したものを観察している。そのため、腫瘍細胞の動態に関わる詳細な情報をこの固定した組織標本から取得するのは困難であった。

本研究者はこれまで、動物や組織を生かしたまま細胞の動態を観察する生体イメージング技術を駆使して、迅速かつ客観的な悪性腫瘍の診断方法を開発し報告してきた(Matsui et al., Sci Rep 2017)。そして生体イメージング技術を用いて腫瘍細胞の動態に関わる情報を取得することで、腫瘍細胞の解析や臨床医学におけるがん診断に新たな知見が得られることを見出してきた。

2. 研究の目的

本研究では申請者が応用してきた生体多光子励起イメージング技術を用いて、腫瘍細胞が生体内で浸潤能を獲得して動き出す過程を可視化することにより、腫瘍細胞の動態の観点から腫瘍浸潤のメカニズムを解明する。そして腫瘍細胞の浸潤能や動態を制御する分子メカニズムをヒト病理検体でも検証し、病理組織診断の分野でがんの進行に関わる腫瘍細胞の浸潤を早期に検出できるような、原因因子の抽出を行うことを目標とする。

3. 研究の方法

(1) 自然発がんマウスを用いた経時的なイメージング系の確立

雌性生殖器官の上皮細胞(重層扁平上皮)に発現している KRT14 のプロモーター配列の制御下に、HPV16 の遺伝子配列を発現する自然発がんマウスを用いた。ホルモン徐放剤の投与下において、マウスの成長後に多光子励起イメージング技術を用いた観察を行い、経時的・連続的な観察を可能とするイメージング系の最適条件を決定した。

(2) 腫瘍の浸潤に伴う膠原線維の配向性の定量的評価

扁平上皮癌では、腫瘍細胞は上皮下の間質に向かって浸潤するため、浸潤により間質の膠原線維の配列が不規則になる。また多光子励起イメージングでは、膠原線維を非線形光学現象(第二高調波発生; second harmonic generation<SHG>)により無染色で描出できる。そこでイメージング画像の SHG シグナルの画像解析を行い、膠原線維の配向度と配向角度の算出を試みるとともに、非浸潤がんと浸潤がんのイメージング画像で比較して、浸潤に伴う膠原線維の配向性を定量的に評価する方法を検証した。さらに、配向度を用いない他の画像解析でも両者を定量的に分類する方法を検討した。

(3) 浸潤能獲得に関与する責任因子の同定およびヒト病理検体を用いた検証

子宮頸がんのヒト病理標本を用いて免疫組織染色を行い、浸潤病変の早期検出に対する臨床的な有用性を検証した。

4. 研究成果

(1) 自然発がんマウスを用いた経時的なイメージング系の確立

腫瘍細胞の動態を可視化するための生体イメージングを確立すべく様々な技術開発を行い、生きたままの状態のマウスの腫瘍組織とその周辺をリアルタイムで可視化するライブイメージング系を確立した。具体的には、血管は isolectin により細胞核は Hoechst33342 によりそれぞれ描出し、また腫瘍細胞周囲の膠原線維を非線形光学現象 SHG により可視化できる観察系を確立することができた。さらに本観察系を用いて、疾患モデル動物の組織を経時的・連続的に観察することができた。

(2) 腫瘍の浸潤に伴う膠原線維の配向性の定量的評価

上述した観察系を用いて、浸潤能を獲得した腫瘍細胞とそれ以前の腫瘍細胞との生体イメージングを行った。その結果、腫瘍細胞の浸潤に伴って、浸潤開始のごく早期から細胞周囲に膠原

線維の増生が認められることが分かった。増生する膠原線維の性状を免疫組織化学的に解析したところ、線維性コラーゲンの主要な分子である collagen type 1 分子の増生が主に認められることが分かった。そこで、さらにこの当該分子の増生を定量的に評価する方法を検討した結果、非線形光学現象 SHG の描出によって達成できることを見出した。浸潤がんと正常組織のイメージング画像のデータセットを用いて、SHG シグナルで定量的に浸潤ないし非浸潤を判断できる機械学習の分類系を、人工知能の画像解析システムで構築できた。

(3) 浸潤能獲得に関与する責任因子の同定およびヒト病理検体を用いた検証

手術残余検体から得られるヒト腫瘍組織及び対応する正常組織を用いて、同様の観察系によるイメージングを行って画像データを集積した。その結果、浸潤能を有した腫瘍細胞が観察できる組織では、上述した collagen type 1 分子の増生がみられ、ヒト組織のイメージング画像でも SHG シグナルの定量的な評価によって、浸潤がんと非浸潤病変とを分類できることが検証できた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計21件（うち査読付論文 21件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Hori Yumiko, Hirose Katsutoshi, Ozeki Michio, Hata Kenji, Motooka Daisuke, Tahara Shinichiro, Matsui Takahiro, Kohara Masaharu, Higashihara Hiroki, Ono Yusuke, Tanaka Kaishu, Toyosawa Satoru, Morii Eiichi	4. 巻 17
2. 論文標題 PIK3CA mutation correlates with mTOR pathway expression but not clinical and pathological features in Fibro-adipose vascular anomaly (FAVA)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Diagnostic Pathology	6. 最初と最後の頁 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13000-022-01199-3	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 -
1. 著者名 Kiyokawa Hiroki, Abe Masatoshi, Matsui Takahiro, Kurashige Masako, Ohshima Kenji, Tahara Shinichiro, Nojima Satoshi, Ogino Takayuki, Sekido Yuki, Mizushima Tsunekazu, Morii Eiichi	4. 巻 192
2. 論文標題 Deep Learning Analysis of Histologic Images from Intestinal Specimen Reveals Adipocyte Shrinkage and Mast Cell Infiltration to Predict Postoperative Crohn Disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The American Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 904 ~ 916
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajpath.2022.03.006	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 -
1. 著者名 Nojima Satoshi, Ishida Shoichi, Terayama Kei, Matsumoto Katsuhiko, Matsui Takahiro, Tahara Shinichiro, Ohshima Kenji, Kiyokawa Hiroki, Kido Kansuke, Ukon Koto, Yoshida Shota Y., Mitani Tomoki T., Doki Yuichiro, Mizushima Tsunekazu, Okuno Yasushi, Susaki Etsuo A., Ueda Hiroki R., Morii Eiichi	4. 巻 14
2. 論文標題 A Novel Three-Dimensional Imaging System Based on Polysaccharide Staining for Accurate Histopathological Diagnosis of Inflammatory Bowel Diseases	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology	6. 最初と最後の頁 905 ~ 924
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcmgh.2022.07.001	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 Matsui Takahiro, Iwasa Akio, Mimura Masafumi, Taniguchi Seiji, Sudo Takao, Uchida Yutaka, Kikuta Junichi, Morizono Hidetomo, Horii Rie, Motoyama Yuichi, Morii Eiichi, Ohno Shinji, Kiyota Yasujiro, Ishii Masaru	4. 巻 113
2. 論文標題 Label free multiphoton excitation imaging as a promising diagnostic tool for breast cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2916 ~ 2925
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15428	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 -

1. 著者名 Fukui Hideyuki, Onishi Hiromitsu, Nakamoto Atsushi, Tsuboyama Takahiro, Ota Takashi, Yano Keigo, Enchi Yukihiro, Yamada Daisaku, Takeda Yu, Kobayashi Shogo, Fukuda Yasunari, Eguchi Hidetoshi, Matsui Takahiro, Tatsumi Mitsuaki, Tomiyama Noriyuki	4. 巻 156
2. 論文標題 Pancreatic fibrosis by extracellular volume fraction using Contrast-enhanced computed tomography and relationship with pancreatic cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Radiology	6. 最初と最後の頁 110522 ~ 110522
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejrad.2022.110522	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 Kusumoto Shinya, Ikeda Jun-Ichiro, Kurashige Masako, Maeno-Fujinami Etsuko, Tahara Shinichiro, Matsui Takahiro, Nojima Satoshi, Okuzaki Daisuke, Morii Eiichi	4. 巻 25
2. 論文標題 Tumor cell plasticity in endometrioid carcinoma is regulated by neuronal membrane glycoprotein M6-b	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2022.13631	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 Hori Yumiko, Hirose Katsutoshi, Ozeki Michio, Hata Kenji, Motooka Daisuke, Tahara Shinichiro, Matsui Takahiro, Kohara Masaharu, Higashihara Hiroki, Ono Yusuke, Tanaka Kaishu, Toyosawa Satoru, Morii Eiichi	4. 巻 17
2. 論文標題 PIK3CA mutation correlates with mTOR pathway expression but not clinical and pathological features in Fibro-adipose vascular anomaly (FAVA)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Diagnostic Pathology	6. 最初と最後の頁 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13000-022-01199-3	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 -

1. 著者名 Kiyokawa Hiroki, Abe Masatoshi, Matsui Takahiro, Kurashige Masako, Ohshima Kenji, Tahara Shinichiro, Nojima Satoshi, Ogino Takayuki, Sekido Yuki, Mizushima Tsunekazu, Morii Eiichi	4. 巻 192
2. 論文標題 Deep Learning Analysis of Histologic Images from Intestinal Specimen Reveals Adipocyte Shrinkage and Mast Cell Infiltration to Predict Postoperative Crohn Disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The American Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 904 ~ 916
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajpath.2022.03.006	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 -

1. 著者名 Nojima Satoshi, Ishida Shoichi, Terayama Kei, Matsumoto Katsuhiko, Matsui Takahiro, Tahara Shinichiro, Ohshima Kenji, Kiyokawa Hiroki, Kido Kansuke, Ukon Koto, Yoshida Shota Y., Mitani Tomoki T., Doki Yuichiro, Mizushima Tsunekazu, Okuno Yasushi, Susaki Etsuo A., Ueda Hiroki R., Morii Eiichi	4. 巻 14
2. 論文標題 A Novel Three-Dimensional Imaging System Based on Polysaccharide Staining for Accurate Histopathological Diagnosis of Inflammatory Bowel Diseases	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology	6. 最初と最後の頁 905 ~ 924
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcmgh.2022.07.001	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 Matsui Takahiro, Iwasa Akio, Mimura Masafumi, Taniguchi Seiji, Sudo Takao, Uchida Yutaka, Kikuta Junichi, Morizono Hidetomo, Horii Rie, Motoyama Yuichi, Morii Eiichi, Ohno Shinji, Kiyota Yasujiro, Ishii Masaru	4. 巻 113
2. 論文標題 Label free multiphoton excitation imaging as a promising diagnostic tool for breast cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2916 ~ 2925
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15428	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 -

1. 著者名 Fukui Hideyuki, Onishi Hiromitsu, Nakamoto Atsushi, Tsuboyama Takahiro, Ota Takashi, Yano Keigo, Enchi Yukihiro, Yamada Daisaku, Takeda Yu, Kobayashi Shogo, Fukuda Yasunari, Eguchi Hidetoshi, Matsui Takahiro, Tatsumi Mitsuaki, Tomiyama Noriyuki	4. 巻 156
2. 論文標題 Pancreatic fibrosis by extracellular volume fraction using Contrast-enhanced computed tomography and relationship with pancreatic cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Radiology	6. 最初と最後の頁 110522 ~ 110522
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejrad.2022.110522	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 Kusumoto Shinya, Ikeda Jun-ichiro, Kurashige Masako, Maeno-Fujinami Etsuko, Tahara Shinichiro, Matsui Takahiro, Nojima Satoshi, Okuzaki Daisuke, Morii Eiichi	4. 巻 25
2. 論文標題 Tumor cell plasticity in endometrioid carcinoma is regulated by neuronal membrane glycoprotein M6-b	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2022.13631	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 Kusumoto Shinya, Kurashige Masako, Ohshima Kenji, Tahara Shinichiro, Matsui Takahiro, Nojima Satoshi, Hattori Satoshi, Morii Eiichi	4. 巻 10
2. 論文標題 An immature inhibin expressing subpopulation of ovarian clear cell carcinoma cells is related to an unfavorable prognosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 1485 ~ 1500
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.3801	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 -

1. 著者名 Sudo Takao, Motomura Yasutaka, Okuzaki Daisuke, Hasegawa Tetsuo, Yokota Takafumi, Kikuta Junichi, Ao Tomoka, Mizuno Hiroki, Matsui Takahiro, Motooka Daisuke, Yoshizawa Ryosuke, Nagasawa Takashi, Kanakura Yuzuru, Moro Kazuyo, Ishii Masaru	4. 巻 218
2. 論文標題 Group 2 innate lymphoid cells support hematopoietic recovery under stress conditions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 e20200817
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20200817	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 Kawagishi Sachi, Kogita Yuya, Nakamichi Itsuko, Matsui Takahiro, Tokunaga Toshiteru	4. 巻 34
2. 論文標題 A case of unusually persistent traumatic intrapulmonary hematoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Respiratory Medicine Case Reports	6. 最初と最後の頁 101507 ~ 101507
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.rmcr.2021.101507	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 Tahara Shinichiro, Nojima Satoshi, Ohshima Kenji, Hori Yumiko, Sato Kazuaki, Kurashige Masako, Matsui Takahiro, Okuzaki Daisuke, Morii Eiichi	4. 巻 10
2. 論文標題 Nicotinamide N methyltransferase is related to MELF pattern invasion in endometrioid carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 8630 ~ 8640
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.4359	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 -

1. 著者名 Matsui Takahiro, Nojima Satoshi, Morii Eiichi	4. 巻 14
2. 論文標題 Deep Vein Thrombosis as an Initial Symptom of Malignant Tumor: A Case Report of Angiosarcoma in the Iliac Vein	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Case Reports in Oncology	6. 最初と最後の頁 1542 ~ 1547
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000519598	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 -

1. 著者名 Kawasaki Keisuke, Nojima Satoshi, Hijiki Sachiko, Tahara Shinichiro, Ohshima Kenji, Matsui Takahiro, Horii Yumiko, Kurashige Masako, Umeda Daisuke, Kiyokawa Hiroki, Kido Kansuke, Okuzaki Daisuke, Morii Eiichi	4. 巻 111
2. 論文標題 FAM111B enhances proliferation of KRAS driven lung adenocarcinoma by degrading p16	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2635 ~ 2646
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14483	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 -

1. 著者名 Hori Yumiko, Hirose Katsutoshi, Aramaki-Hattori Noriko, Suzuki Sachi, Nakayama Robert, Inoue Masanori, Matsui Takahiro, Kohara Masaharu, Toyosawa Satoru, Morii Eiichi	4. 巻 15
2. 論文標題 Fibro-adipose vascular anomaly (FAVA): three case reports with an emphasis on the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diagnostic Pathology	6. 最初と最後の頁 98 ~ 98
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13000-020-01004-z	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 -

1. 著者名 Matsui Takahiro, Tamoto Ryo, Iwasa Akio, Mimura Masafumi, Taniguchi Seiji, Hasegawa Tetsuo, Sudo Takao, Mizuno Hiroki, Kikuta Junichi, Onoyama Ichiro, Okugawa Kaoru, Shiomi Mayu, Matsuzaki Shinya, Morii Eiichi, Kimura Tadashi, Kato Kiyoko, Kiyota Yasujiro, Ishii Masaru	4. 巻 80
2. 論文標題 Nonlinear Optics with Near-Infrared Excitation Enable Real-Time Quantitative Diagnosis of Human Cervical Cancers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 3745 ~ 3754
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.can-20-0348	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 Kusumoto Shinya, Kurashige Masako, Ohshima Kenji, Tahara Shinichiro, Matsui Takahiro, Nojima Satoshi, Hattori Satoshi, Morii Eiichi	4. 巻 10
2. 論文標題 An immature inhibin expressing subpopulation of ovarian clear cell carcinoma cells is related to an unfavorable prognosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 1485 ~ 1500
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.3801	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
---------------------------	-----------------------	----

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