

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16310

研究課題名（和文）肺癌関連線維芽細胞のTensin1を介する生理機能活性化機序の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of the physiological functions via Tensin1 in lung cancer-associated fibroblasts

研究代表者

本間 裕一郎 (Honma, Yuichiro)

順天堂大学・医学部・非常勤助教

研究者番号：70869247

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）：がん関連線維芽細胞（CAF）は、がんの進行に重要な役割を果たしている。tensin1とtensin3はCAFにおいて発現が増加し、癌間質のtensin1の増加は、非小細胞肺癌術後患者の再発と関連していた。さらに、tensin3はCAFのc-Metの発現増加と肝細胞増殖因子（HGF）の産生を介する癌進展に関与する可能性を示唆した。TGF- β 1は、Srcシグナルを介してtensin1の発現が増加し、Src阻害剤であるダサチニブは、tensin1を抑制し、CAFの生理機能活性を阻害した。ダサチニブは、tensin1+/ tensin3+ CAF を標的とする新しい癌間質治療戦略として期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、CAFの生理機能活性制御因子としてtensin1/3に着目し、新たな視点から癌と癌間質における各種相互作用からも検討した。tensin1/3を介するCAFを標的とした創薬へと繋げることで、従来とは全く異なった新たな治療戦略に発展する可能性が高い。ダサチニブがtensin1/3を介したCAFの生理活性機能を抑制するという、既存の直接癌細胞を標的とする治療法とは全く異なり”癌間質のtensin1/3陽性CAFを標的とした新たな治療戦略”の可能性を提唱した。

研究成果の概要（英文）：Cancer-associated fibroblasts (CAF) play a crucial role in cancer progression. Here, we identified and focused on the role of tensin family member, TNS1 (tensin1) and TNS3 (tensin3), mediated CAF bioactivities as the new CAF specific marker. CAFs increase the expression of tensin1 and 3 and increased tensin1 expression in cancer stroma was associated with tumor recurrence resected from non-small cell lung cancer patients. Furthermore, increased expression of c-Met and its ligand hepatocyte growth factor (HGF) release in CAFs suggested over-expressed tensin3 CAFs may lead to the cancer development. Transforming growth factor (TGF)- β 1 profoundly up-regulates tensin1 expression in fibroblasts through Src signaling and dasatinib, Src inhibitor disrupted TGF-induced CAFs-mediated contraction of collagen gels and migration by suppressed tensin1. Dasatinib may be a promising as a novel anti-cancer stroma strategy, by targeting the TNS1+/TNS3+ CAF.

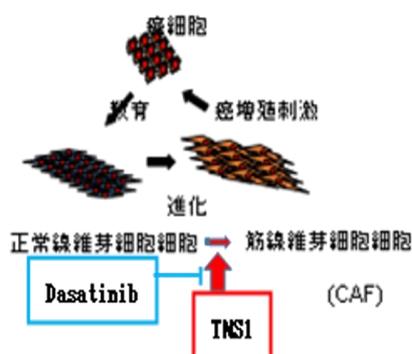
研究分野：肺がん

キーワード：がん関連線維芽細胞 肺がん tensin1 tensin3

1. 研究開始当初の背景

近年、非小細胞肺癌は分子標的治療の導入で奏率が改善されたが、ほぼ全例が治療耐性化し再発するため、依然国内におけるがん死第1位の予後の悪いがん種であり、より効果的な治療法の解明が急務である。そこで生体内におけるがん細胞の増殖、浸潤、転移に関する生物学的多様性が、がん細胞のみならず近接するがん間質によって規定されていることが示唆されてきており、実際にはがん間質の主な構成細胞であるがん関連線維芽細胞(CAF)の病理形態

癌内微環境における癌細胞-CAF相互作用(表 1)



像の検討において、CAFの存在様式ががん悪性度と強く相関していることが数多く報告されている(Cancers (Basel). 2013 Jan 31;5(1):149-69)。さらにマウスへの混合移植モデルを用いた研究等によって、CAFががんの進展を多面的に促進させる事が実証されつつある。これらの研究より、がん治療の新たな標的としてCAFが世界的な注目を集めているが、肺癌における機能解明は未だ不十分である。抗VEGF抗体(ベバシズマブ)は、直接がん細胞を標的とするものではなくがん間質内に豊富に存在する腫瘍血管の分子生物学的特性を選択的に修飾させ殺細胞性抗がん剤との併用で非小細胞肺癌の治療成績を飛躍的に向上させた。この事実は、肺癌治療領域においてもがん間質を制御する事の紛れもない重要性を示している。線維芽細胞は、がん細胞の教育・影響下、活性化された筋線維芽細胞の特性を持ち(=CAF)、がん内で共に進化し密接な連携のもとに相乗的にがん進展を誘導する。がん細胞-CAFの相互作用を解明し、これを標的とする治療法を探索することで、従来とは全く異なった新たな治療戦略や診断法に発展する可能性が期待される(表1)。Tensin familyは4つのアイソフォームを持ち、細胞の接着や遊走に関わる接着タンパク質である。これらのうち特にTNS1とTNS3が線維化に関わることが示唆されており、TNS1は線維化肺において筋線維芽細胞への分化や細胞外マトリックスの構成に必須であると言われてる。近年Tensin1(TNS1)が肺線維症における肺の線維化に強く関係していることがわかり、TNS1をノックダウンすることで、TGF-βによる正常線維芽細胞から活性型筋線維芽細胞への分化を抑制し、肺の線維化を抑えることができると報告された(Am J Resp Cell Mol Biol. 2017 Apr;56(4):465-476.)。そこで申請者は、CAFが活性型筋線維芽細胞の特徴を持つことから、肺線維症のみならず肺癌領域においてもTNS1を介するシグナルがCAFの生理機能活性に影響を与えている可能性があると考えた。またがん細胞を標的とする抗がん剤であるダサチニブはがん細胞に影響を及ぼすだけでなく、CAFを正常線維芽細胞の表現型に戻すことや、CAFに高感度に作用させることが期待されている(Mol Cancer. 2010 Jun 27;9:168.)が、詳細な機序は不明である。そこで本研究では実際の肺癌組織中のCAFを分離培養し正常肺線維芽細胞との生物学的特性を比較検討することで、TNS1を介するCAFの生理機能活性の変化が肺癌の進展にどのように関与しているかを解明するとともに、ダサチニブを含めた新規がん間質TNS陽性CAF標的治療薬の基盤研究を行った。

2. 研究の目的

新たな CAF の制御標的因子として TNS1 を介する CAF の活性化の機序を解明し、さらにダサチニブの CAF に対する作用に着目することで、新たな CAF 標的治療候補薬としての効果を検討する事を目的とする。本研究では独自の手法を用いて肺がん患者由来の肺線維芽細胞 (CAF) を生体外分離培養し直接肺がん治療薬の感受性を検証するため、直接臨床に反映する説得性を持つ。またダサチニブが TNS 陽性 CAF の生理活性機能をも制御するという、既存の効果発現経路とは全く異なる”CAF を標的としたがん間質治療薬”としても有用であることを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) TNS1 を介する CAF の生理機能解析

同一手術肺組織から採取した CAF と正常肺線維芽細胞を用いて、両群間での生理機能活性①コラーゲンゲル収縮能、②FN に対する遊走能の比較検討を行う。本研究では既に、理化学研究所との共同研究において転写プロモーター解析 (CAGE 解析) を行った結果、CAF における TNS1/3 の高発現を確認し、タンパクレベルにおいても CAF で TNS1/3 の高発現を確認している。

(2) TNS1 陽性 CAF の肺がん相互作用の解析とダサチニブの抑制効果検証

CAF において、Src 阻害剤であるダサチニブのゲル収縮能、FN に対する遊走能の抑制効果を検証した。また、CAF 活性化促進因子である TGF- β 1 が誘導するゲル収縮能、遊走能、細胞外基質 (ECM) 産生能に対するダサチニブの抑制効果を検討も行った。CAF におけるダサチニブ投与下の TNS family や Src 関連シグナル発現制御をタンパクレベルで測定した。CAF と肺がん細胞の共培養系を構築し肺がん細胞-CAF の相互作用の検討も行った。CAF を含むコラーゲンゲルと肺がん細胞 (A549) との共培養を行う。CAF の Conditioned media を遊走・上皮間葉転換などの分化誘導・増殖刺激因子と想定して用い A549 の遊走能及び増殖能を検討した。

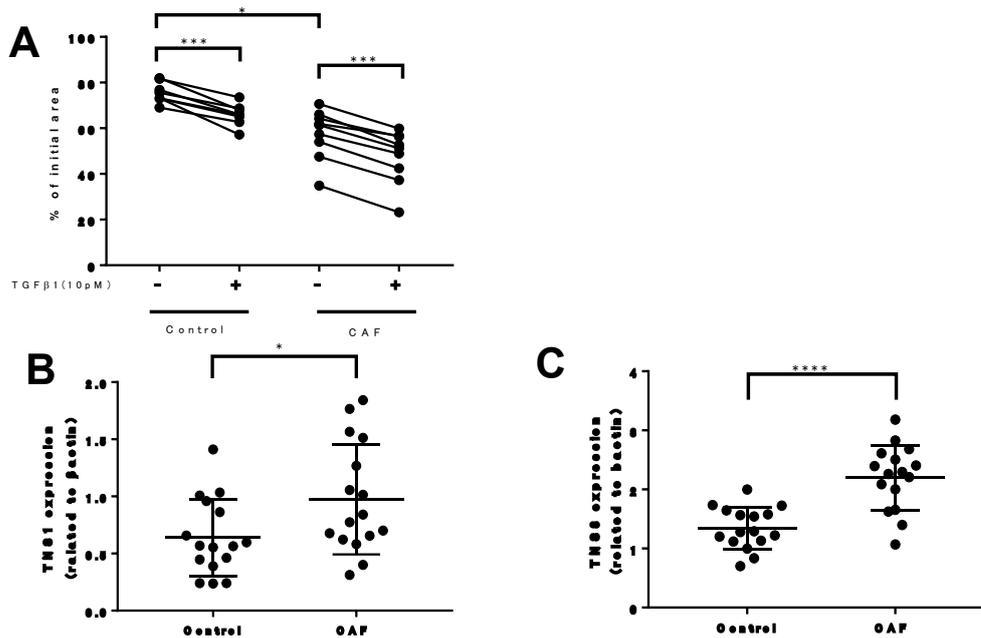
4. 研究成果

- (1) CAF は、正常肺線維芽細胞に比べ有意にゲル収縮能、FN に対する遊走能の促進を認めた (図 A)。
- (2) CAGE のプロモーター活性の発現変動遺伝子 (DEG) 解析結果及び蛋白発現量の解析では、TNS1 も TNS3 も、どちらも正常肺線維芽細胞に対して CAF で高発現していた (図 B, C)。
- (3) TNS1 は正常肺に比べて肺がん組織及びがん間質で高発現を認めた。再発例ではがん間質での TNS1 の発現が高かった。
- (4) TNS1 の siRNA により、ゲル収縮能、遊走能の抑制、更に FN、Src、 α SMA の発現低下を認めた。TNS3 の発現には影響を認めなかった。
- (5) CAF において、Src 阻害剤のダサチニブは CAF においてゲル収縮能の抑制を認めた。
- (6) TGF β 1 存在下で誘導されたゲル収縮能、遊走能及び TNS1 の発現量はダサチニブにより抑制された。
- (7) 肺がん細胞と CAF の相互作用をゲルの共培養系で検討しました。CAF と肺

がん細胞株 A549 の共培養ゲル収縮能は優位に増強させた。

- (8) BEAS2B に比べて A549 の培養上清液の添加により HFL-1 において TNS1 及び α SMA の上昇を確認した。
- (9) 正常肺線維芽細胞に比べ CAF で HGF の産生亢進を認めた。更に HGF の受容体である Met の発現は CAF で増強しており、CAF では TNS3-HGF-Met-Src 経路が活性化していることが示唆された。

これらの結果より TNS family の中の 2 つの経路、(1) TNS1-Src 経路 (2) TNS3-HGF-Met-Src 経路に対して Src 阻害剤のダサチニブは、これらを抑制し CAF を介するがん進展を抑制させることが示唆された。TNS1/TNS3 陽性 CAF は新たながん間質治療標的としてダサチニブが有効となることが期待された。



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

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