

令和 5 年 4 月 28 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16384

研究課題名(和文) 胃癌間質細胞による新しい血行性転移メカニズムの解明

研究課題名(英文) To elucidate of new mechanism of hematogenous metastasis by stromal cells in gastric cancer

研究代表者

内原 智幸 (Uchihara, Tomoyuki)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・特定研究員

研究者番号：60835172

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は循環血液中のがん関連線維芽細胞(circulating CAF; cCAF)が、胃癌の血行性転移に関わるという仮説のもと行った。胃癌遠隔転移モデルマウス・胃癌患者さんの血液中におけるcCAFの存在を確認、さらに複数のがん細胞とcCAFから構成される循環血液中腫瘍細胞(Circulating Tumor Cells; CTC)クラスターを検出し、CTCクラスターが血行性転移に関わることを示した。さらにCTCクラスターの形成に血小板が関与していると考え、胃癌血行性転移モデルマウスに抗血小板薬を投与したところCTCクラスター・遠隔転移が顕著に減少す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

がん細胞をとりまく腫瘍微小環境(腫瘍間質)において線維芽細胞は、がん細胞やその他の免疫細胞等により活性化され、CAFsとして様々な物質を分泌しがん進展に関与することが知られている。一方で、検査および治療法の進歩に関わらず、進行胃癌患者に対しては転移・再発のため依然として満足できる遠隔成績は得られていない。今回、胃癌におけるcCAF・CTCクラスターに注目することで、これまで明らかになっていない新たな血行性転移形成メカニズムの解明や新規薬剤開発につながる可能性を有する。

研究成果の概要(英文)：We made the hypothesis that circulating cancer associated fibroblasts (cCAFs) are involved in hematogenous metastasis of gastric cancer. We confirmed cCAFs in the blood of gastric cancer distant metastasis model mice and gastric cancer patients, and detected CTC (Circulating Tumor Cells) clusters consisting of multiple cancer cells and cCAFs, indicating that CTC clusters are involved in hematogenous metastasis. Furthermore, we hypothesized that platelets are involved in the formation of CTC clusters. We found that administration of antiplatelet drugs to hematogenous metastasis of gastric cancer mouse model markedly reduced CTC clusters and metastasis.

研究分野：腫瘍生物学

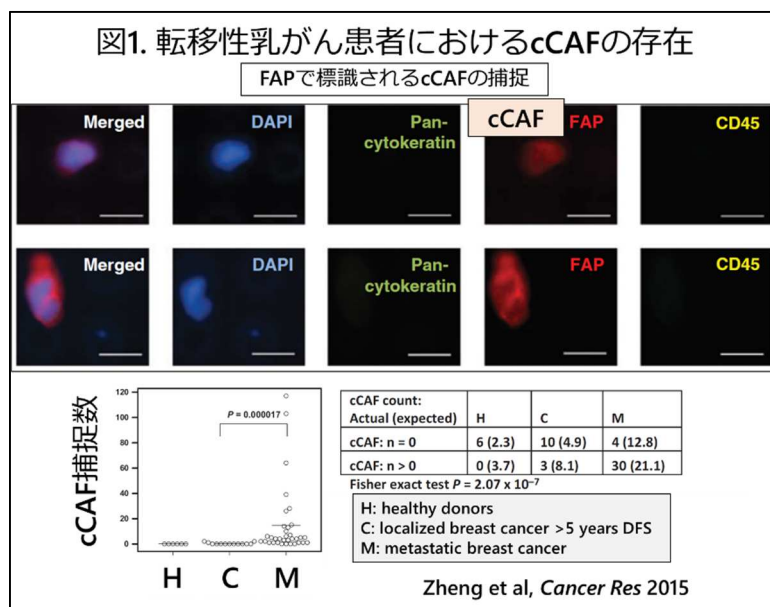
キーワード：腫瘍微小環境 胃癌 cCAF CTC クラスター 抗血小板療法

1. 研究開始当初の背景

がん細胞をとりまく腫瘍微小環境において線維芽細胞は、がん細胞やその他の免疫細胞等により活性化され、がん関連線維芽細胞 (Cancer associated fibroblast: CAFs)として様々な液性因子を分泌しがん進展に関わることが知られている。一方、胃がんはスクリーニングおよび治療法の進歩に伴い予後改善が認められるようになったが、進行胃がん患者に対しては転移・再発のため依然として満足できる遠隔成績は得られていない。CAFs が癌の進展や浸潤・転移を促進していることは世界中の研究者により立証されていたが、循環血液中の CAFs (circulating CAF; cCAF)にはほとんど注目されておらず、胃がん転移との関連も明らかではなかった。

2. 研究の目的

転移性乳がん患者中の cCAF の存在が示唆されているが、転移に関するメカニズムは明らかではなかった (図1)。今回、胃がん由来 cCAF に焦点をあて、cCAF が血中に存在していること・血管内外浸潤の有無・転移形成メカニズムに注目することで、これまで明らかになっていない新たな



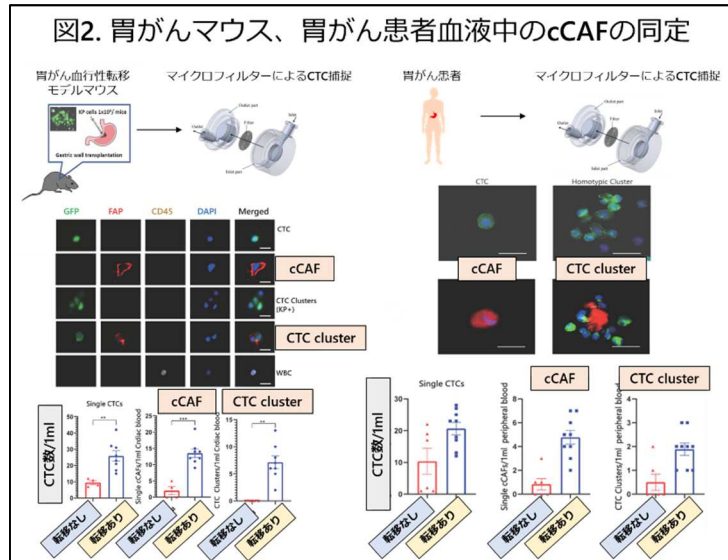
な血行性転移形成メカニズムの解明や新規薬剤開発へ繋げることを目的とした。

3. 研究の方法

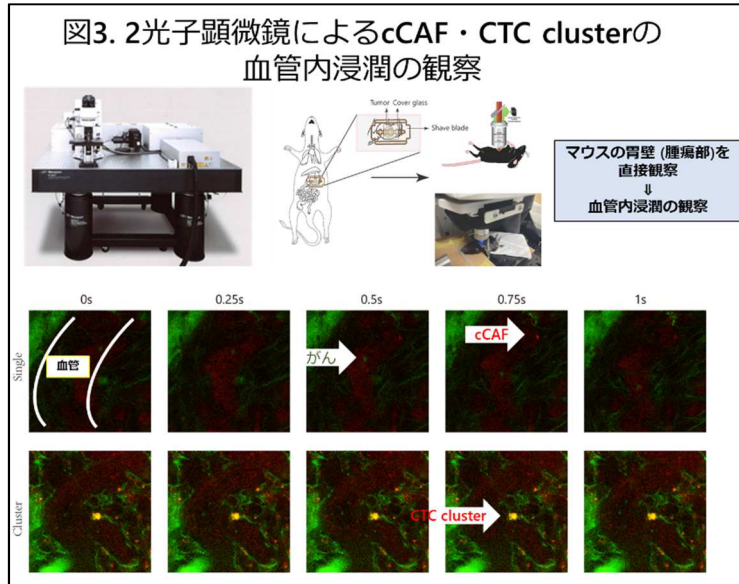
- (1) 胃がん血行性転移マウスモデル・胃がん患者血液中の cCAF を同定し、転移能との関連を評価した。この際に観察された、複数のがん細胞と cCAF から構成される循環血液中腫瘍細胞 (Cirulating Tumor Cells; CTC) cluster にも注目した。
- (2) 2光子顕微鏡を用いて、cCAF・CTC cluster の血管内浸潤を観察した。
- (3) CTC cluster と血小板の関連に注目し、血小板投与による cluster 形成能を *in vitro* で評価した。
- (4) 胃がん血行性転移マウスモデルに抗血小板治療をおこない、cluster 形成能を評価した。

4. 研究成果

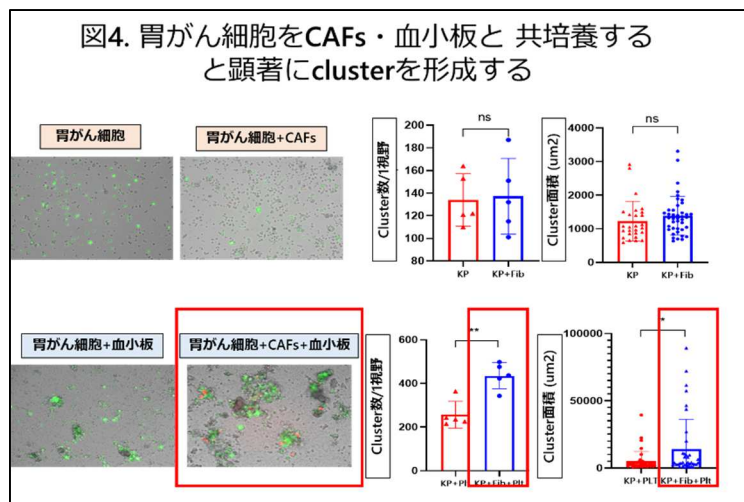
(1) 慶應義塾大学医学部（佐谷研究室）との共同研究にて樹立したマウス胃癌細胞を胃壁へ移植し、肝転移を形成する系を独自に確立し、移植から28日後に肝転移を起こしたマウス循環血液中に cCAF が存在することを確認した。同様に胃癌患者血液にも cCAF が存在することを確認した。この際、複数のがん細胞と cCAF から構成される CTC cluster も捕捉、cCAF・CTC cluster ともに転移を有する症例で有意に存在することが分かった (図2)。



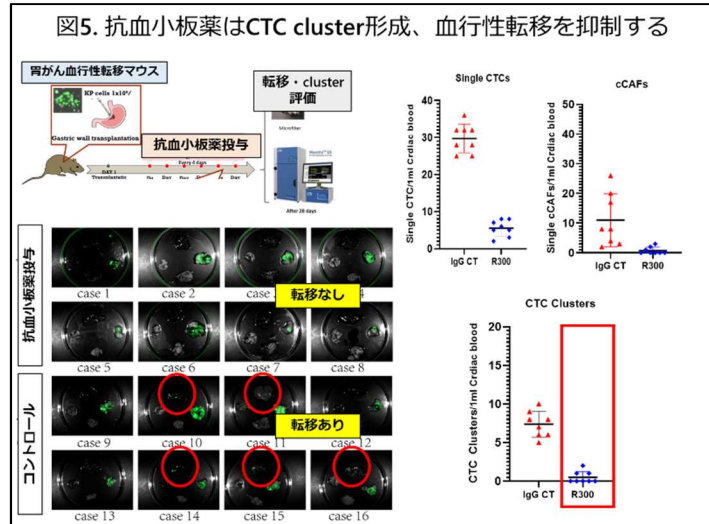
(2) 一般的な蛍光顕微鏡より組織深部の観察に適している2光子顕微鏡を用いてマウス胃壁部の腫瘍における cCAF・CTC cluster の血管内浸潤を評価したところ、がん細胞・cCAF とともに CTC cluster が血管内に浸潤する様子を観察することができた (図3)。



(3) CTC cluster 形成に血小板が関与するという報告をもとに血小板に注目した。通常、in vitro でマウス胃癌細胞を培養しても cluster を形成することはないが、血小板を加えると有意に cluster を形成し、さらに CAF・血小板と共培養することでより多数かつ巨大な CTC cluster となることが明らかになった (図4)。



(4) 胃癌血行性転移モデルマウスに抗血小板薬を投与し、遠隔転移の有無とCTCを評価したところ、CTC・cCAF・CTC clusterが顕著に減少するとともに、抗血小板投与マウスでは遠隔転移を認めなかった(図5)。



5. 主な発表論文等

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

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 -

1. 著者名 Yasuda T, Koiwa M, Yonemura A, Miyake K, Kariya R, Kubota S, Yokomizo-Nakano T, Yasuda-Yoshihara N, Uchihara T, Itoyama R, Bu L, Fu L, Arima K, Izumi D, Iwagami S, Eto K, Iwatsuki M, Baba Y, Yoshida N, Ohguchi H, Okada S, Matsusaki K, Sashida G, Takahashi A, Tan P, Baba H, Ishimoto T	4. 巻 34
2. 論文標題 Inflammation-driven senescence-associated secretory phenotype in cancer-associated fibroblasts enhances peritoneal dissemination	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 108779 ~ 108779
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2021.108779	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

〔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 内原 智幸
2. 発表標題 Annexin A6 in Extracellular Vesicles from Cancer-associated Fibroblasts Induces Drug Resistance
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会、ポスター
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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			
シンガポール	Duke-NUS Medical School			
米国	MD-Anderson Cancer Center			