

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月17日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659652

研究課題名（和文）薬剤送達改善を目指した星細胞標的化 desmoplasia 制御と膵癌治療への応用

研究課題名（英文）The development of pancreatic cancer therapy based on regulating pancreatic cancer desmoplasia by targeting pancreatic stellate cells to improve drug delivery

研究代表者

永井 英司（NAGAI EISHI）

九州大学・医学研究院・准教授

研究者番号：30264021

研究成果の概要（和文）：

膵癌の desmoplasia 形成を、特発性線維症治療薬であるピルフェニドンが抑制することを同定した。ピルフェニドンは膵星細胞の生物学的活性を抑制し、膵星細胞と膵癌細胞における癌間質相互作用を抑制した。膵癌細胞株と膵星細胞を共移植した膵癌マウスモデルにおいても、ピルフェニドンはその腫瘍形成を抑制し desmoplasia 形成を抑制した。ジェムシタビンとの併用により、相乗的な抗腫瘍効果を確認した。ピルフェニドンとジェムシタビンの併用療法は膵癌における有効な治療戦略として期待される。

研究成果の概要（英文）：

We indentified that the antifibrotic agent pirfenidone could suppress desmoplasia and exert anti-tumor effects against pancreatic cancer. In vitro, pirfenidone inhibited the proliferation, invasiveness, and migration of pancreatic stellate cells and tumor-stromal interaction between pancreatic stellate cells and pancreatic cancer cells. Oral administration of pirfenidone to the mice, which implanted with pancreatic cancer cells and pancreatic stellate cells, significantly reduced tumor growth. Pirfenidone also decreased the proliferation of pancreatic stellate cells, and inhibited the deposition of collagen type I and periostin in tumors. Pirfenidone in combination with gemcitabine more effectively suppressed tumor growth compared with pirfenidone or gemcitabine alone. Our findings indicate that pirfenidone is a promising antitumor agent for pancreatic cancer, owing to its suppression of desmoplasia through regulating pancreatic cancer cells.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：膵癌、膵星細胞、ピルフェニドン、desmoplasia

1. 研究開始当初の背景

従来の膵癌研究は腫瘍細胞自体を中心として進められてきたが、いまだ革新的な治療法の開発には至っていない。近年、膵癌が抵抗性を示す一因として、腫瘍細胞とその周囲

に存在する間質細胞や間質細胞から産生される細胞外器質による癌間質に注目が集まっている。特に、膵癌は豊富な細胞外基質を伴う desmoplasia が病理学的な特徴で、この desmoplasia が癌細胞の刺激により活性化し

た線維芽細胞様の腭星細胞 (activated PSCs) により形成されると報告された (Gastroenterology, 2005, Bachem)。この desmoplasia の主成分であるコラーゲン等は腫瘍栄養血管と腭癌細胞の間隙を増大させ腭癌細胞への薬剤到達効率を低下させ、腭癌の治療抵抗性を高めている (Science, 2009, K Olive)。この様に腭癌組織における desmoplasia 形成機序が明らかとなり、新たな腭癌治療標的としての可能性が探られている。腭癌細胞を標的とした新規抗癌剤開発が進まない現況において、既存抗癌剤の薬剤伝達効率増強を目的とした desmoplasia を標的とした治療法の確立は、斬新的で挑戦的であるが、腭癌治療の進歩は社会的急務であることよりその重要度は高いと考えられる。

申請者らはこれまで癌間質相互作用の検討を進め、放射線治療が間質細胞による癌細胞浸潤を増強することを Cancer Res 誌などに報告し、(Nature review cancer 誌 (2009) や Cell 誌 (Hill, 2005) 等)にも紹介・引用) さらに、腭星細胞の放射線治療後の癌細胞への関与を報告した。また、近年腭癌自然発生マウスモデルでヘッジホッグを抑制することにより、desmoplasia 増生が抑えられ癌への薬剤到達濃度が上昇、抗腫瘍効果が増強されると報告された (Science, 2009, K. Olive)。これまでに癌間質相互作用研究で培った知見をもとに腭星細胞による desmoplasia 産生を標的とし腭癌細胞への薬剤到達効率を改善させる新しい治療を開発することは、腭癌治療においてブレイクスルーとなると考え本研究構想に至った。

2. 研究の目的

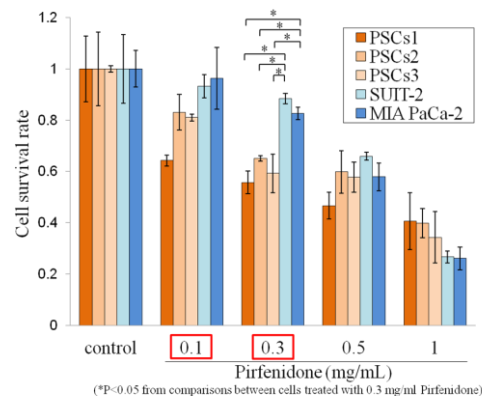
本研究では、腭癌細胞と腭星細胞の癌間質相互作用と腭星細胞による desmoplasia の形成の2つに着目して、それらを制御する薬剤を同定し、既存の抗癌剤を併用することで、癌間質がもたらす腭癌治療抵抗性を克服し、新たな腭癌治療戦略を開発することを目的とする。本研究においては以下の4つの項目を明らかとする。

- ①腭星細胞と desmoplasia を抑制する新たな治療薬の同定およびその分子生物学的作用の解析
- ②腭癌細胞株と腭星細胞株の共培養モデルを用いた間質標的治療薬の分子生物学的作用の解析
- ③腭癌マウスモデルへの間質標的治療薬投与による腭癌組織における desmoplasia 抑制評価
- ④マウスモデルを用いた間質標的治療薬と抗癌剤併用による腭癌治療効果の解析

3. 研究の方法

本研究では初めに切除された腭癌組織よ

Pirfenidone投与によるPSCsの増殖能評価



➤PSCsの増殖を濃度依存性に抑制。

➤低濃度でPSCsに特異的な抑制効果を示す。

り腭星細胞を樹立し、desmoplasia を抑制する候補薬剤を腭星細胞に投与し desmoplasia 抑制薬剤(以後、抗線維化薬)の選択とヒト腭星細胞への in vitro での分子生物学的作用を明らかとする。腭癌細胞および腭星細胞の共培養モデルの実験系において抗線維化薬を投与し、腭癌細胞と腭星細胞における癌間質相互作用の分子生物学的変化を明らかとする。続いてヌードマウスを用いて腭癌細胞と腭星細胞の同所移植による腭癌マウスモデルを作成、抗線維化薬を投与し、in vivo で腭癌組織中の desmoplasia 抑制効果を検討する。マウスモデルを用いて腭癌の代表的な抗癌剤である Gemcitabine と抗線維化薬を併用し、腭癌細胞への抗癌剤の到達効率を測定し、抗腫瘍効果を検討する。

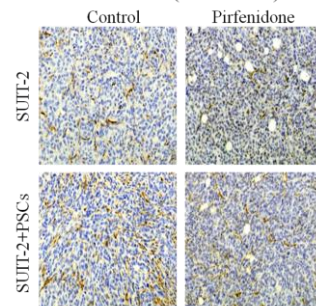
4. 研究成果

①腭星細胞と desmoplasia を抑制する新たな治療薬の同定およびその分子生物学的作用の解析

我々は特発性肺線維症治療薬であるピルフェニドンに着目し実験を行った。ピルフェニドンは腭星細胞の増殖能、浸潤能、遊走能を抑制することを明らかとした。

②腭癌細胞株と腭星細胞株の共培養モデルを用いた間質標的治療薬の分子生物学的作用

α-SMA発現細胞(腭星細胞)数評価

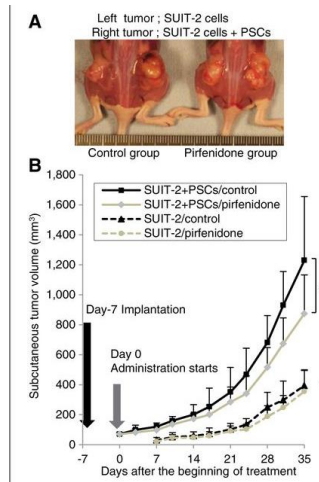


ピルフェニドンは、腭星細胞の増生を抑制した。

用の解析

膵癌細胞株の上清で、膵星細胞を培養するとその増殖能、浸潤能、遊走能が増強されるが、ピルフェニドンを加えるとその効果が減弱した。一方、逆に膵星細胞の上清で癌細胞を培養するとその増殖能、浸潤能、遊走能が増強されるが、ピルフェニドンで処理された膵星細胞の上清ではその効果が減弱していることを明らかとした。

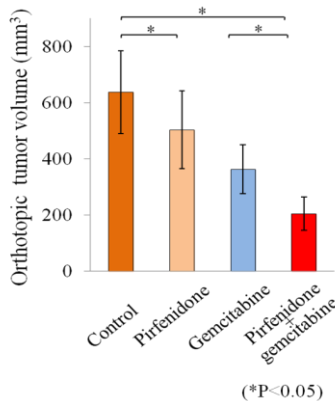
③膵癌マウスモデルへの間質標的治療薬投与による膵癌組織における desmoplasia 抑制評価



膵癌皮下移植マウスモデル（左側腹部に膵癌細胞株のみを移植し、右側腹部に膵癌細胞株と膵星細胞を共移植したマウスモデル、左図）を作成し、pirfenidone 投与実験を行った。

Pirfenidone を投与しないコントロール群において、膵星細胞と共移植された腫瘍の形成は著明に促進された。一方、

腫瘍形成能評価



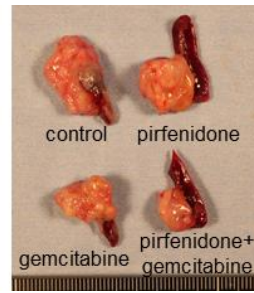
pirfenidone 投与群ではその腫瘍形成は抑制された。膵星細胞を共移植しない膵癌細胞のみの群では pirfenidone

による腫瘍形成抑制効果は認めなかった。組織レベルでも pirfenidone により膵星細胞の増殖や、コラーゲン、ペリオスチンといった間質器質の増生沈着が抑制されていることを明らかとした。

④マウスモデルを用いた間質標的治療薬と抗癌剤併用による膵癌治療効果の解析

膵癌同所移植マウスモデルを用いて pirfenidone と gemcitabine の併用実験を行った。2剤の併用に

より単剤投与よりも著明な腫瘍抑制効果を認めた（下図）。また、pirfenidone は同所移植マウスモデルにおいて認められる、腹膜播種や肝転移の頻



度抑制した。組織レベルにおいても pirfenidone は desmoplasia が抑制されることを確認したが、gemcitabine には desmoplasia 抑制効果は認められなかった。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計6件）

1. Miyasaka Y, Nagai E, Ohuchida K, Fujita H, Nakata K, Hayashi A, Mizumoto K, Tsuneyoshi M, Tanaka M
Senescence in intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas
Human Pathology 42(12):2010-2017,2011

2. Sakai H, Ohuchida K, Mizumoto K, Cui L, Nakata K, Toma H, Nagai E, Tanaka M
Inhibition of p600 expression suppresses both invasiveness and anoikis resistance of gastric cancer
Ann Surg Oncol. 18(8):2381-2387, 2011

3. Onimaru M, Ohuchida K, Mizumoto K, Nagai E, Cui L, Toma H, Takayama K, Matsumoto K, Hashizume M, Tanaka M
hTERT-promoter-dependent oncolytic adenovirus enhances the transduction and therapeutic efficacy of replication-defective adenovirus vectors in pancreatic cancer cells
Cancer Sci. 101(3):735-742, 2011

4. Ohuchida K, Mizumoto K, Nagai E, Tanaka M et al. MicroRNA-10a is overexpressed in human pancreatic cancer and involved in its invasiveness partially via suppression of the HOXA gene Ann Surg Oncol. 2012;19(7):2394-402, 2011

5. Nakata K, Ohuchida K, Mizumoto K, Nagai E, Tanaka M. MicroRNA-10b is overexpressed in pancreatic cancer, promotes its invasiveness and is correlated with a poor prognosis. Surgery, 150: 916-22, 2011

6. Ohuchida K, Mizumoto K, Kayashima T, Ueda J, Nagai E, Tanaka M. MicroRNA expression as a predictive marker for gemcitabine response after surgical resection of pancreatic cancer. Ann Surg Oncol. 2011;18(8):2381-7.

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

永井 英司 (NAGAI EISHI)
九州大学・医学研究院・准教授
研究者番号：30264021

(2) 研究分担者

井上 重隆 (INOUE SHIGETAKA)
九州大学・医学研究院・共同研究員
研究者番号：00529802

鬼丸 学 (ONIMARU MANABU)
九州大学・医学研究院・共同研究員
研究者番号：80529876
(2011 年)

(3) 連携研究者

なし