

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 29 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2013

課題番号：25670584

研究課題名(和文) 癌間質のnormalizationによる薬剤送達改善と新規膵癌治療への応用

研究課題名(英文) The improvement of drug delivery based on the normalization of cancer stroma and its application for the treatment of pancreatic cancer

研究代表者

大内田 研宙 (OHUCHIDA, KENOKI)

九州大学・先端医療イノベーションセンター・講師

研究者番号：20452708

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では膵癌細胞の膵星細胞による癌間質形成に及ぼす影響とその癌間質のremodelingによるnormalizationの2つに着目し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膵癌治療抵抗性を克服し、新たな膵癌治療戦略を開発することを目的とし膵星細胞と膵癌細胞の細胞外基質を通じた癌間質相互作用を中心に検討を進めた。その結果、膵星細胞の作りだす細胞外マトリックスは膵癌細胞の遊走や浸潤に影響を与えることが明らかになった。今後この機序を詳細に解析し、関連分子の同定からこの機序をコントロールする手法を明らかにし、in vivoモデルでの薬剤送達効率の検討を進めていく。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we focused on tumor-related stroma and its remodeling and normalization and mainly investigated the mechanism of cancer-stromal interaction between cancer cells and pancreatic stellate cells. Then, we identified the several molecules, which are related with the extracellular matrices derived from pancreatic stellate cells and found that such matrices affect the invasion and migration of pancreatic cancer cells. These data suggest that the remodeling of cancer stroma by normalization based on the novel molecules may lead to the development of new therapy for pancreatic cancer.

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：膵がん 膵星細胞 細胞外基質

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、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、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、この癌間質は癌細胞の刺激により活性化した線維芽細胞様の膵星細胞 (activated PSCs) により形成されると報告された (Gastroenterology, 2005, Bachem)。この癌間質は腫瘍栄養血管と膵癌細胞の間隙を増大させ膵癌細胞への薬剤到達効率を低下させ、膵癌の治療抵抗性を高めている (Science, 2009, K Olive)。この様に膵癌における癌間質形成機序が明らかとなり、新たな膵癌治療標的としての可能性が探られている。癌細胞を標的とした新規抗癌剤開発が進まない現況で、既存抗癌剤の薬剤伝達効率増強を目的とした癌間質の normalization の確立は斬新的で挑戦的であるが、革新的であり、新規膵癌治療の確立は社会的急務であり、その重要度は高い。申請者はこれまで癌間質の検討を進め、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 誌などに報告した (Nature review cancer 誌 (2009) や Cell 誌 (Hill, 2005) 等にも紹介・引用)。また、近年マウスモデルで SHH を抑制し desmoplasia 増生が抑えられ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)。我々は2010年には Gastroenterology 誌に膵星細胞の中に特に癌の浸潤に関与する特定の subpopulation が存在することを報告した。さらに癌間質は癌細胞の影響下で特有の形質をもって形成され、これが癌の悪性度に関与することが近年報告されている (2012, Cell)。今回、上記の我々の知見をもとに膵星細胞により形成される癌間質を標的としその remodeling などによる制御つまり癌間質の正常間質への転換いわゆる normalization によって膵癌細胞への薬剤到達効率を改善させようと考え、本研究構想に至った。

2. 研究の目的

本研究では、膵癌細胞の膵星細胞による癌間質形成に及ぼす影響とその癌間質の remodeling による normalization 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、癌間質がもたらす膵癌治療抵抗性を克服し、新たな膵癌治療戦略を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

現在すでに、膵癌患者より得られる手術切除標本を用いて、Bachem や Apte らにより報告された方法によりヒト膵星細胞株を50株以上作成した (Gastroenterology, 1998, Max G. Bachem、

Gut, 1998, M V Apte)。作成された細胞株は、膵星細胞の特徴とされる Myofibroblast 様の形態を呈し、 α -SMA が陽性であることを確認した。

4. 研究成果

これら当研究室で樹立した膵星細胞から三次元細胞外マトリックスを作成し、膵星細胞の phenotype と細胞外マトリックスの硬度や配列といった質的特性を評価し、膵星細胞も一様な細胞集団でなく、それぞれが産生する細胞外マトリックスに相違があることが明らかになった。また、膵星細胞が細胞外マトリックスの質的特性に与える影響とそのメカニズムの解明を進めるために細胞外マトリックスの特性によって膵星細胞を分類化し、focal adhesion の構成要素である integrin 及びその細胞内シグナル伝達経路についての発現解析を進め、いくつかの関連分子を同定した。次に、膵星細胞由来の三次元細胞外マトリックス上で膵癌細胞を培養し、その形態変化や機能変化を調べ、膵がん細胞の浸潤能や遊走能、あるいはそのスピードと方向に影響をあたえることが明らかになった。今後、培養実験だけでなく、膵がん自然発生マウスモデルである GEMM を用いて癌間質の normalization を誘導する方法を検討し、薬剤送達効率の変化も含めて解析していく。

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14件)

全て査読有

1. Prawej Mahawithitwong, Kenoki Ohuchida, Naoki Ikenaga, Hayato Fujita, Ming Zhao, Shingo Kozono, Koji Shindo, Takao Ohtsuka, Shinichi Aishima, Kazuhiro Mizumoto and Masao Tanaka Kindlin-1 expression is involved in migration and invasion in pancreatic cancer, International Journal of Oncology 42: 1360-1366, 2013
2. Daiki Eguchi, Naoki Ikenaga, Kenoki Ohuchida, Shingo Kozono, Lin Cui, Fujiwara Kenji, Koji Shindo, Takao Ohtsuka, Shunichi Takahata, Kazuhiro Mizumoto and Masao Tanaka. Pancreatic stellate cells in hypoxia enhance pancreatic cancer invasiveness via secretion of connective tissue growth factor. Journal of Surgical Research, 181:225-33, 2013
3. Shingo Kozono, Kenoki Ohuchida, Daiki Eguchi, Naoki Ikenaga, Kenji Fujiwara, Ming Zhao, Lin Cui, Koji Shindo, Kazuhiro Mizumoto, and Masao Tanaka Pirfenidone inhibits desmoplasia of pancreatic cancer by regulating stellate cells. Cancer Research, 73:2345-56, 2013

4. Prawej Mahawithitwong, Kenoki Ohuchida, Naoki Ikenaga, Hayato Fujita, Ming Zhao, Shingo Kozono, Koji Shindo, Takao Ohtsuka, Shinichi Aishima, Kazuhiro Mizumoto, Masao Tanaka Kindlin-2 expression in peritumoral stroma is associated with poor prognosis in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pancreas*,42:663-9, 2013
 5. Riki Toita, Masaharu Murata, Kana Abe, Sayoko Narahara, Jing Shu Piao, Jeong-Hun Kang, Kenoki Ohuchida, Makoto Hashizume Biological evaluation of protein nanocapsules containing doxorubicin, *International Journal of Nanomedicine*, 8:1989-1999, 2013
 6. Ana Ines Cases, Takao Ohtsuka, Minoru Fujino, Noboru Ideno, Shingo Kozono, Ming Zhao, Kenoki Ohuchida, Shinichi Aishima, Masatoshi Nomura, Yoshinao Oda, Kazuhiro Mizumoto, Masao Tanaka Expression of Glucagon-Like Peptide 1 Receptor and Its Effects on Biological Behavior in Pancreatic Neuroendocrine Tumors, *Pancreas*, 43(1) 1-6, 2014
 7. Nobuhiro Torata, Kenoki Ohuchida, Shin Akagawa, Lin Cui, Shingo Kozono, Kazuhiro Mizumoto, Shinichi Aishima, Yoshinao Oda, Masao Tanaka, Tissue Tablet Method: An Efficient Tissue Banking Procedure Applicable to Both Molecular Analysis and Frozen Tissue Microarray, *Human Pathology*, 45(1) 143-52, 2014
 8. Kenji Fujiwara, Kenoki Ohuchida, Takao Ohtsuka, Kazuhiro Mizumoto, Koji Shindo, Naoki Ikenaga, Lin Cui, Shunichi Takahata, Shinichi Aishima, and Masao Tanaka Migratory activity of CD105+ pancreatic cancer cells is strongly enhanced by pancreatic stellate cells, *Pancreas*, 42(8)1283-90, 2013
 9. Shingo Kozono, Kenoki Ohuchida, Takao Ohtsuka, Lin Cui, Daiki Eguchi, Kenji Fujiwara, Ming Zhao, Kazuhiro Mizumoto, Masao Tanaka S100A4 mRNA expression level is a predictor of radiosensitivity of pancreatic cancer cells, *Oncology Reports*, 30(4) 1601-8, 2013
 10. Daiki Eguchi, Kenoki Ohuchida, Shingo Kozono, Naoki Ikenaga, Koji Shindo, Lin Cui, Kenji Fujiwara, Shin Akagawa, Takao Ohtsuka, Shunichi Takahata, Shoji Tokunaga, Kazuhiro Mizumoto, Masao Tanaka MAL2 expression predicts distant metastasis and short survival in pancreatic cancer, *Surgery*, 154(3) 573-82, 2013
 11. Shindo Koji, Aishima Shinichi, Ohuchida Kenoki, Fujiwara Kenji, Mizumoto Kazuhiro, Tanaka Masao, Oda Yoshinao Fibroblasts expressing podoplanin enhance the tumor progression of invasive ductal carcinoma of pancreas, *Molecular Cancer*, 12(1):168, 2013
 12. Yoshinori Fujimura, Naoki Ikenaga, Kenoki Ohuchida, Daiki Setoyama, Miho Irie, Daisuke Miura, Hiroyuki Wariishi, Masaharu Murata, Kazuhiro Mizumoto, Makoto Hashizume and Masao Tanaka Mass Spectrometry-based Metabolic Profiling of Gemcitabine-sensitive and Gemcitabine-resistant Pancreatic Cancer Cells, *Pancreas*, in press
 13. 大内田研宙、大塚隆生、水元一博、田中雅夫 特集タイトル：臨床検体から導き出す消化器病研究テーマ：6) 膵液中バイオマーカーで膵疾患の診断、早期発見はできるか 分子消化器病 vol.11 no.1 (2014年3月1日発行)
 14. 大内田研宙 大塚隆生 水元一博 田中雅夫 腫瘍内 heterogeneity に着目した膵癌個別化治療の可能性 -腫瘍個別化から細胞個別化へ- 胆と膵 Vol.30(2), 165-9, 2013
- 〔学会発表〕(計9件)
1. Fujiwara K, Ohuchida K, Akagawa S, Ohtsuka T, Mizumoto K, Tanaka M CD166 Expression Characterized Tumorigenicity, and Invasive and Migratory Activities of Pancreatic Cancer Cell Lines, Ammerican Pancreatic Association, 44th Annual Meeting, Miami, 2013
 2. Cases A.I., Ohtsuka T, Fujino M, Ideno N, Kzono S, Zhao M, Ikenaga N, Ohuchida K, Oda Y, Mizumoto K, Tanaka M Expression of Glucagon-like Peptide 1 Receptor and Biological Behavior in Pancreatic Neuroendocrine Tumors, Ammerican Pancreatic Association, 44th Annual Meeting, Miami, 2013
 3. Ideno N, Ohtsuka T, Tamura K, Aso T, Ohuchida K, Takahata S, Oda Y, Mizumoto K, Tanaka M Clinical significance of GNAS mutation for invasive pancreatic carcinoma distinct from/derived from intraductal papillary mucinous neoplasm(IPMN) of the pancreas, Ammerican Pancreatic Association, 44th Annual Meeting, Miami, 2013
 4. Nakata K, Zhao M, Ohuchida K, Miyasaka Y, Maeyama R, Ohtsuka T, Nagai E, Mizumoto K, Tanaka M Salinomycin induced Autophagy and is Related with its Killing Effect for Pancreatic Cells Ammerican Pancreatic Association, 44th Annual Meeting, Miami, 2013
 5. Tamura K, Ohtsuka T, Ideno N, Aso T, Shindo K, Oda Y, Ohuchida K, Takahata S, Mizumoto K, Tanaka M Treatment Strategy for Main Duct Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreatic Based on the Assessment of Recurrence in the Remnant Pancreas after Resection: A

Retrospective Review. Ammerican Pancreatic Association, 44th Annual Meeting, Miami, 2013

6. Mizuuchi Y, Aishima S, Ohuchida K, Shindo S, Mizumoto K, Tanaka M Reduced Anterior Gradient 2 Expression is Induced by EMT and Correlated with Poor Outcome in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Ammerican Pancreatic Association, 44th Annual Meeting, Miami, 2013
7. Tanaka T, Ohuchida K, Mizumoto K, Kozono S, Tanaka M Histon Deacetylase 1 is Responsible for Radioresistance of Pancreatic Cancer cells Ammerican Pancreatic Association, 44th Annual Meeting, Miami, 2013
8. Akagawa S, Ohuchida K, Torada N, Eguchi D, Kozono S, Ohtsuka T, Mizumoto K, Tanaka M Comparisons of Characteristics of Peritoneal Fibroblasts in Dissemination with those of Mesothelial Cells and Pancreatic Stellate Cells in Pancreatic Cancer Ammerican Pancreatic Association, 44th Annual Meeting, Miami, 2013
9. Sada M, Ohuchida K, Fujiwara K, Horioka K, Tanaka T, Zheng B, Cases A.I., Akagawa S, Shindo K, Ohtsuka T, Takahata S, Oda Y, Mizumoto K, Tanaka M Clinical Significance of Stromal CD90 and alpha-SMA Expression in Pancreatic Cancer Ammerican Pancreatic Association, 44th Annual Meeting, Miami, 2013

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

該当なし

取得状況(計0件)

〔その他〕
ホームページ等

該当なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

大内田 研宙 (OHUCHIDA KENOKI)
九州大学・先端医療イノベーションセンター・講師
研究者番号：20452708

(2)研究分担者

前山 良 (MAEYAMA RYO)
九州大学・大学病院・助教
研究者番号：10611668

森山 大樹 (MORIYAMA TAIKI)
九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：70586859

(3)連携研究者
なし