

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670585

研究課題名(和文)膵癌carcinogenesisにおける間質ニッチの関与の検討とその制御法の確立

研究課題名(英文)Biological and clinical significance of niche during carcinogenesis in pancreatic cancer

研究代表者

水元 一博(MIZUMOTO, Kazuhiro)

九州大学・大学病院・准教授

研究者番号：90253418

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトと類似した膵発癌過程や病理組織学的特徴を持つ遺伝子改変膵癌モデルマウスの検討では、初期のPanIN病変の周囲にも間質増生を認めた。膵癌微小環境において癌細胞を支持し、間質増生の形成主体である膵星細胞に着目し、膵星細胞の中でも間葉系幹細胞マーカーの一つであるCD90や、接着分子として知られるCD146陽性細胞集団が、膵癌carcinogenesisにおける特徴的役割を有する細胞集団であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We have identified desmoplastic reaction around early PanIN lesion of the genetically engineered mouse model of pancreatic cancer which resembles human pancreatic cancer in pathological characteristic, as well as in disease progression. Pancreatic stellate cells, which are implicated in desmoplastic reaction, have been investigated because of the strong ability to increase malignant potential of cancer cells. Our data suggested that subpopulation of stellate cells had the role in carcinogenesis of pancreatic cancer, which were profiled by CD90, one of the mesenchymal stem cell markers, and CD146 which is known as adhesion molecule.

研究分野：医歯薬学

キーワード：膵癌 ニッチ 膵星細胞 carcinogenesis

1. 研究開始当初の背景

膵臓癌はわが国において癌死の5位を占め現在でも100人中3人しか根治しない疾患で、膵癌の治療法/診断法の開発は社会的緊急性・重要度が高い。しかし他の消化器癌と異なり、その5年生存率はここ30年間でほとんど改善がない。この原因として膵臓癌が他の固形癌に比べて、極めて生物学的悪性度が高く、早期診断が困難なうえ、早期から浸潤、転移をきたし、さらには補助治療である放射線、化学療法にも抵抗性である事が多いという特徴による。この点から、膵臓癌の予後改善には早期診断を可能とする新たな診断マーカーの発見、さらには補助治療抵抗性の原因解明および新たな分子標的治療薬の開発が急務であり、そのためには新たな癌制御メカニズムの解明が必要である。近年、癌の発癌過程や癌の進行において、間質ニッチが非常に重要な役割を担っていることが認識されるようになった(Nature medicine, 2011, Bissell)。ヒトの体を司る細胞数はおおよそ10兆個とされ、これらの細胞は胚細胞の発生段階から様々なストレスに曝されている。その中には一定の確率で、腫瘍発生につながる有害な遺伝子変異が含まれるが、大多数のヒトは数10年の間生命を脅かす腫瘍の発生を認めることはない。これは、細胞自身のapoptosisが関与しているからに他ならないが、自己制御能力を失った細胞に関しては、その間質ニッチに存在する様々なニッチ細胞により排除されているからである。しかしながら、一方で、間質ニッチに炎症や線維化が存在する臓器においては、腫瘍の発生が有意に増加することが知られる(Nature medicine, 2011, Bissell)。膵癌においても、慢性膵炎がリスクファクターとして認識されている(Gastroenterology, 1999, Dimagano)。間質ニッチは変異細胞を排除する役割を担う一方で、その性質によっては変異細胞からのcarcinogenesisを誘導する

もろ刃の剣というべき役割を果たしているのである。しかしながら、carcinogenesisの抑制と誘導という相反する間質ニッチの形質がコンバートする詳細な機序や、carcinogenesis誘導におけるメカニズムは不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究では、膵癌のcarcinogenesisにおける間質ニッチの関与の詳細なメカニズムを明らかとすることで、膵癌のcarcinogenesisを同定・制御する新たな診断治療戦略の開発を目指す。これらの機序が明らかとなれば、早期診断や発癌抑制を目的とした新規の診断・治療戦略の提供が可能となる。

この診断・治療戦略により、膵癌リスクファクターを有する患者に対しても、スクリーニングも含めた個別化診断/治療を行うことで、膵癌発生の早期同定、予防や癌進行の鈍化が期待される。

これは、膵癌の発生を間質ニッチの観点から同定・制御するという、世界に類を見ない全く新しい膵癌の診断と治療法に関する研究である。

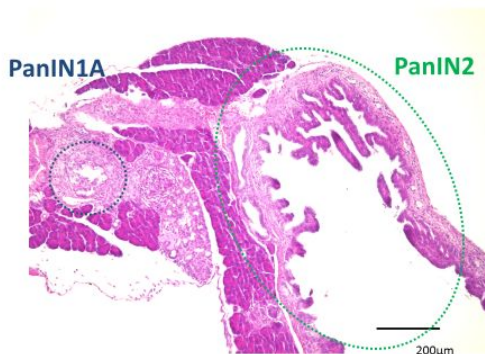
3. 研究の方法

ヒト膵切除組織を使用して、前癌病変であるPanIN周囲間質の免疫染色を行い、膵癌の発癌過程における間質の特異的マーカーを検索する。また、ヒト膵癌病理組織像に特徴的な過剰な間質増生と類似した像を呈する膵癌自然発生モデルマウスを作製し、同様の検討を行う。膵発癌過程における間質の標的分子が分かれば、当科で樹立した膵切除組織由来膵星細胞を使用して、膵癌細胞との共培養系における機能実験を行う。

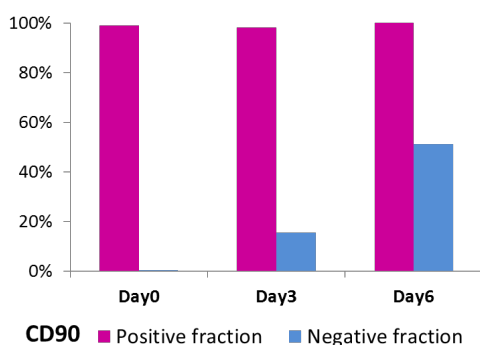
4. 研究成果

ヒト膵癌切除組織の検討では、前癌病変であるPanINの段階から、異形細胞周囲には細

胞外基質に富む間質増生を認めた。また、段階的な発癌過程を示す遺伝子改変膵癌モデルマウスの組織像の検討でも、初期の PanIN 病変の周囲に間質増生を認め、前癌病変と間質ニッチ間の発癌過程における相互作用の存在が示唆された（下図）。

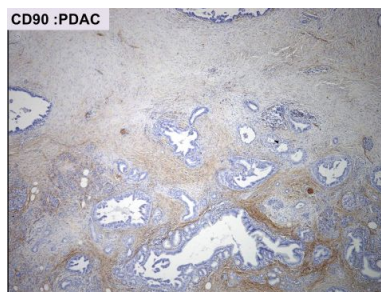


我々は、まず、間葉系幹細胞の表面マーカーの一つとして知られる CD90 に着目した。膵癌切除組織より樹立した培養膵星細胞をフローサイトメトリーで解析すると、CD90 陽性細胞の割合は 90% 以上であった。CD90 陰性細胞をセル・ソーターで分取して培養すると、経時的に CD90 陽性細胞の割合が増加することが明らかとなった。



膵癌間質では CD90 発現が強く（下図）、正常膵間質では CD90 発現が著名に弱いことから、膵発癌過程で CD90 陽性膵星細胞が増加し、前癌病変との相互作用により、何らかの影響を与えていることが示唆された。

CD90 による免疫組織化学染色では、CD90 高発現群は、低発現群と比較して予後が不良な傾向にあり、間質の CD90 陽性細胞による癌進展促進作用が示唆された。



次に、接着分子として知られる CD146 に着目して、間質ニッチについて検討した。CD146 は、正常膵組織に比べて膵癌や膵癌前癌病変の間質で発現が高く、PanIN-1 より High grade PanIN (PanIN-2, PanIN-3) 周囲間質で高発現であった。また、間質の CD146 の発現は、癌の臨床病期や分化度と負の相関が認められた。膵癌切除組織より樹立した癌関連線維芽細胞の CD146 発現を抑制すると、癌細胞との共培養系において優位に癌細胞の遊走・浸潤を抑えることが明らかとなった。このことは、癌関連線維芽細胞における CD146 発現抑制によって NF- κ B が誘導され、癌促進性の液性因子の発現が亢進することによるものと明らかになった。今回の検討で、発癌段階では異形度が増すについて間質の CD146 発現も増加するが、逆に浸潤癌の段階では、分化度が増すについて間質の CD146 発現が減弱しており、発癌段階と浸潤癌の段階での間質の CD146 の相反的な作用が示唆された。

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 2 件)

1. Ohuchida K, Ohtsuka T, Mizumoto K, Hashidume M, Tanaka M Pancreatic Cancer: Clinical Significance of Biomarkers Gastrointestinal tumor 査読有 2014; 1:33-40 Doi:10.1159/000354996

2. Eguchi D, Ikenaga N, Ohuchida K, Kozono S, Cui L, Fujiwara K, Fujino M, Ohtsuka T, Mizumoto K, Tanaka M Hypoxia enhances the interaction between pancreatic stellate cells and cancer cells via increased secretion of connective tissue growth factor Journal of surgical research 査読有 181(2):225-233, 2013 doi: 10.1016/j.jss

〔学会発表〕(計 5 件)

1. 鄭彪、大内田研宙、崔林、水内祐介、藤原謙次、赤川進、堀岡宏平、田中友晴、佐田政史、仲田興平、前山良、大塚隆生、小田義直、水元一博、田中雅夫 膵癌関連繊維芽細胞におけるCD146発現と膵がんの進展抑制第 45 回日本膵臓学会大会 北九州市 2014/7/11
2. Sada M, Ohuchida K, Fujiwara K, Horioka K, Tanaka T, Zheng B, Cases AI, 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, United States of America 2013/10/30
3. Fujiwara K, Ohuchida K, Sada M, Akagawa S, Ohtsuka T, Takahata S, Mizumoto K, Tanaka M. Pancreatic Cancer Cells Induces Up-regulation of NPAS1 in Pancreatic Stellate Cells Joint Meeting of the International Association of Pancreatology & the Korean Pancreatobiliary Association Seoul 2013/9/4
4. Ouchida K, Mizumoto K, Tanaka M. Regulation of Pancreatic Stellate cells for Treatment of Pancreatic cancer The 6th International Conference and

Commemorative Lecture of Pin-Wen Lin of Pancreatic Cancer Tainan, Taiwan, 2013/6/15

5. 佐田政史、大内田研宙、藤原謙次、赤川進、江口大樹、小蘭真吾、趙茗、崔林、大塚隆生、水元一博、田中雅夫 膵癌間質における CD90 と α -SMA 発現の意義第 113 回日本外科学会定期学術集会 福岡市 2013/4/11

〔図書〕(計 1 件)

1. 佐田政史、水元一博、大内田研宙、大塚隆生、田中雅夫 「Annual Review 2014 消化器」 . 胆膵-膵臓- 9.膵癌の個別化治療を探る、査読無 page252-257、中外医学社、東京、2014年

〔その他〕
ホームページ等

- 6 . 研究組織
- (1)研究代表者
水元 一博 (MIZUMOTO Kazuhiro)
九州大学・大学病院・准教授
研究者番号：90253418
- (2)研究分担者
嶋本 正弥 (SHIMAMOTO Masaya)
九州大学・大学病院・助教
研究者番号：00457433

清水 祐紀子 (SHIMIZU Yukiko)
九州大学・大学病院・助教
研究者番号：10404021

坂井 寛 (SAKAI Hiroshi)
九州大学・医学研究院・共同研究員
研究者番号：80611665

大内田 研宙 (OHUCHIDA Kenoki)
九州大学・大学病院・助教
研究者番号：20452708
(2014年)

(3)連携研究者

なし