

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462064

研究課題名(和文) 転移臓器における播種性癌細胞のセレクション機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of selection mechanism of disseminated cancer cells in metastatic organs

研究代表者

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌肝転移の機序を解明するため、膵癌におけるトロンボポエチン(TPO)とその受容体であるCD110に着目した。膵癌切除標本において、CD110高発現は独立した予後不良因子であり、また肝転移の独立予測因子であった。膵癌細胞でのCD110発現の抑制によって膵癌細胞の遊走・浸潤能が有意に低下した。CD110陽性膵癌細胞はTPO投与でERK、MYCが活性化し、細胞増殖が促進した。以上の結果より、膵癌においてTPO-CD110-ERK-MYC シグナルが肝転移に関わる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the mechanism of liver metastasis of pancreatic cancer, we focused on thrombopoietin (TPO) and its receptor CD 110 in pancreatic cancer.

In resected specimens of pancreatic cancer, high expression of CD110 was an independent poor prognostic factor and independent predictor of liver metastasis. Inhibition of CD110 expression in pancreatic cancer cells significantly reduced migration / invasion ability of pancreatic cancer cells. In CD110-positive pancreatic cancer cells, ERK and MYC were activated by TPO administration, and cell proliferation was increased. These results suggested that TPO - CD110 - ERK - MYC signal might be involved in liver metastasis in pancreatic cancer.

研究分野：医歯薬学

キーワード：膵癌 肝転移 CD110 トロンボポエチン(TPO)

1. 研究開始当初の背景

膵癌は我が国における癌死の第5位であり、現在100人中3人しか治癒しないという難治性疾患である。早期に局所浸潤や遠隔転移をきたすため、診断時には切除不能である症例が多く、その予後は極めて不良である。最近、転移巣における微小環境が転移の成立と転移癌細胞の選択に関わっている可能性が示されている。

膵癌の肝転移に関しては、当研究室では、独自に膵癌肝転移株を膵癌細胞株から樹立し、その生物学的特徴や遺伝子発現解析をマイクロアレイなどの手法などを用いて、膵癌の肝転移メカニズムを癌細胞の側から解明してきた (Eguchi, Surgery, 2013.)。この研究のマウスを用いた実験で、膵癌高転移株の中にも転移をきたさないものがあることに我々は注目し、癌細胞自身がたとえ転移に必要な条件を満たしていたとしても、それだけでは肝転移を引き起こすのに十分ではなく、転移先臓器である肝臓側の要因に転移成立の鍵があるのではないかと考えた。

トロンボポエチン (TPO) とは血小板の前駆細胞の増殖および分化に関与する造血因子であり、受容体である CD110 は大腸癌肝転移の特異的なマーカーとして報告されている。しかし、膵癌における TPO-CD110 発現の意義やその役割については未だ明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究は、膵癌の肝転移において膵癌細胞が原発巣から血行性に肝臓へと到達した後、どのような選択機構が働くことによって癌細胞が淘汰され、生着する癌細胞がセレクトされるのかを明らかにし、膵癌の肝転移抑制および、新規治療法を開発することを目的とする。その中で、今回膵癌における CD110 発現とその臨床的意義を検討し、また、肝転移における TPO-CD110 シグナル経路の生物学的意義を明らかにすることとした。

3. 研究の方法

(1) 免疫組織化学染色を用いて膵癌切除症例における CD110 発現を検討し、生存期間及び肝転移との相関の解析を行う。

(2) ヒト膵癌細胞株における CD110 の発現を定量的 RT-PCR と Western blotting によって評価する。

(3) 膵癌細胞の CD110 発現を RNAi にて抑制し、遊走・浸潤・増殖能に与える影響について検討する。

(4) TPO 投与が膵癌細胞に与える影響を検討するとともに CD110 発現を抑制した細胞における TPO の作用を検討する。

4. 研究成果

(1) 膵癌切除組織での CD110 発現の臨床的意義

免疫組織化学染色で、CD110 は正常膵組織の膵管上皮には発現せず、膵癌原発巣と肝転移巣で発現していた。膵癌切除症例 (n=86) において、CD110 発現陽性群は陰性群よりも

全生存期間 (P=0.003) (図1) と無病生存期間 (P<0.0001) とともに有意に短かった。また、肝転移との相関性が認められ、CD110 発現陽性群がより早く肝転移巣を形成して (P=0.0015)、肝転移の独立予測因子となった。

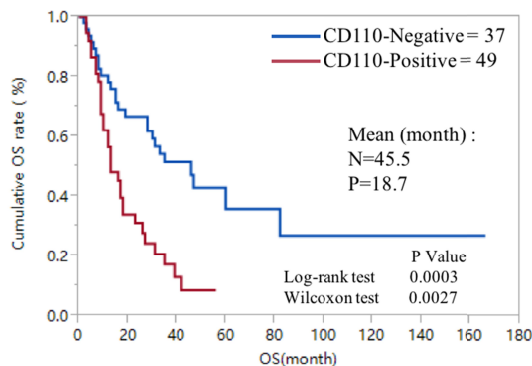


図1

(2) 膵癌細胞株において、CD110 の mRNA と蛋白質の発現レベルの検討。(図2)

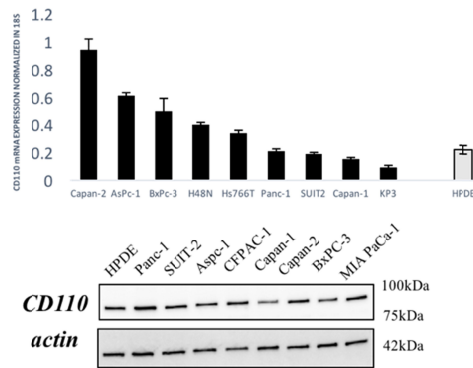


図2

(3) 膵癌細胞の CD110 発現を RNAi にて抑制し、遊走・浸潤・増殖能に与える影響の検討

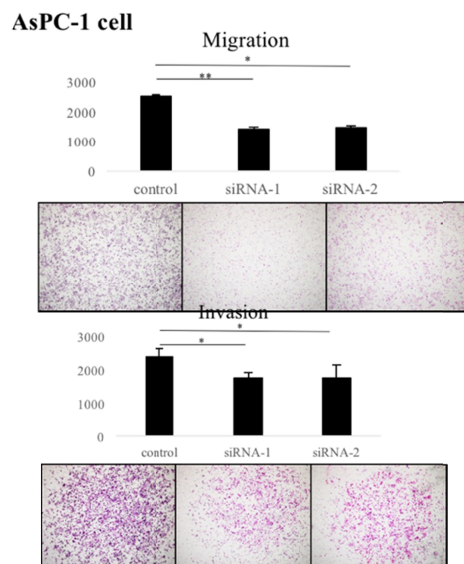


図3

膵癌細胞における CD110 発現の抑制によって膵癌細胞の遊走・浸潤能が有意に低下 ( $P < 0.05$ ) (図 3) を認めたと、増殖能には変化を認めなかった。

(4) TPO 投与が膵癌細胞に与える影響の検討

膵癌細胞において、CD110 発現を RNAi にて抑制することによって TPO の増殖促進作用は抑制された (図 4)。

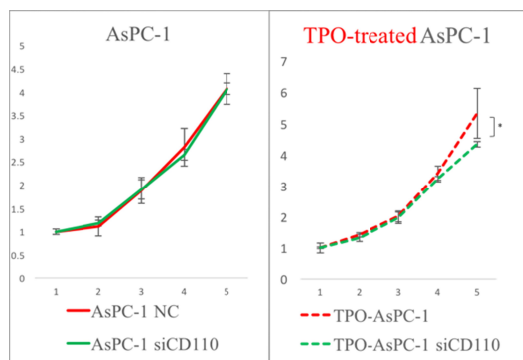


図 4

一方、TPO 添加によって ERK、MYC が活性化された (図 5)。

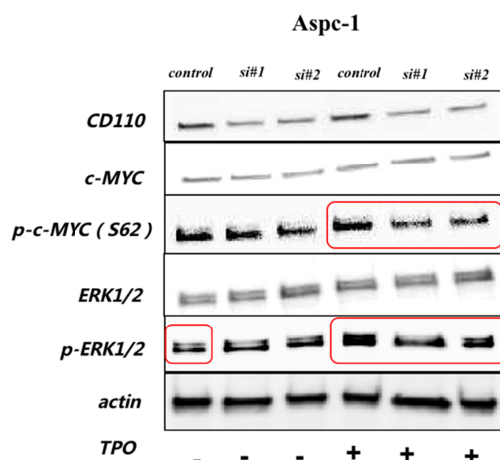


図 5

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 3 件)

Okumura T, Ohuchida K, Sada M, Abe T, Endo S, Koikawa K, Iwamoto C, Miura D, Mizuuchi Y, Moriyama T, Nakata K, Miyasaka Y, Manabe T, Ohtsuka T, Nagai E, Mizumoto K, Oda Y, Hashizume M, Nakamura M. Extra-pancreatic invasion induces lipolytic and fibrotic changes in the adipose microenvironment, with released fatty acids enhancing the invasiveness of pancreatic cancer cells. *Oncotarget*, 8(11)18280-18295, 2017, 査

読有, doi:10.18632/oncotarget.15430. Abe T, Ohuchida K, Koikawa K, Endo S, Okumura T, Sada M, Horioka K, Zheng B, Moriyama T, Nakata K, Miyasaka Y, Manabe T, Ohtsuka T, Nagai E, Mizumoto K, Hashizume M, Nakamura M. Cancer-associated peritoneal mesothelial cells lead the formation of pancreatic cancer peritoneal dissemination. *Int J Oncol*, 査読有, 50(2):457-467, 2017, doi:10.3892/ijo.2016.3829. Chijiwa Y, Moriyama T, Ohuchida K, Nabae T, Ohtsuka T, Miyasaka Y, Fujita H, Maeyama R, Manabe T, Abe A, Mizuuchi Y, Oda Y, Mizumoto K, Nakamura M. Overexpression of microRNA-5100 decreases the aggressive phenotype of pancreatic cancer cells by targeting PODXL. *Int J Oncol*, 査読有, 48(4):1688-1700, 2016, doi:10.3892/ijo.2016.3389.

[学会発表](計 2 件)

Zilong Yan、大内田研宙、Zheng Biao、堀岡宏平、佐田政史、奥村隆志、千々岩芳朗、吉田真樹、遠藤翔、肥川和寛、阿部俊也、中山宏道、武居晋、森山大樹、宮坂義浩、大塚隆生、植木隆、永井英司、水元一博、中村雅史、膵癌における CD110 の臨床意義と癌進展におけるその役割、第 116 回日本外科学会定期学術集会、2016/04/16、大阪国際会議場(大阪市) 千々岩 芳朗、大内田研宙、森山大樹、佐田政史、堀岡宏平、鄭彪、奥村隆志、吉田真樹、中村雅史、膵癌肝転移に関する microRNA とその標的分子の同定、第 116 回日本外科学会定期学術集会、2016/04/16、大阪国際会議場(大阪市)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：

番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

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

### (2) 研究分担者

江上 拓哉 (EGAMI Takuya)  
九州大学・医学研究院・共同研究員  
研究者番号：40507787  
(2014年度)

真鍋 達也 (MANABE, Tatsuya)  
九州大学・大学病院・講師  
研究者番号：60546464

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

( )