

受賞対象論文

Mitsui Y, Tomonobu N, Watanabe M, Kinoshita R, Sumardika IW, Youyi C, Murata H, Yamamoto KI, Sadahira T, RodrigoC AGH, Takamatsu H, Araki K, Yamauchi A, Yamamura M, Fujiwara H, Inoue Y, Futami J, Saito K, Iioka H, Kondo E,C Nishibori M, Toyooka S, Yamamoto Y, Nasu Y, Sakaguchi M : Upregulation of Mobility in Pancreatic Cancer Cells byC Secreted S100A11 Through Activation of Surrounding Fibroblasts. Oncol Res (2019) 27, 945-956.C

ハイライト

- ・ すい臓がん細胞とがん関連線維芽細胞における遊走／浸潤のメカニズムの解明.
- ・ S100A11-RAGE-TPL2-COX2-PGE2 経路による遊走／浸潤の亢進.
- ・ In vivo における RAGE-Fc による腫瘍抑制効果を認め、治療薬としての可能性.

光井 洋介
Yosuke MitsuiC



岡山大学病院 泌尿器科

Department of Urology, Okayama University HospitalC

<プロフィール>

平成25年3月 徳島大学医学部医学科卒業
 平成25年4月 岡山赤十字病院 初期研修医
 平成27年4月 岡山大学病院 泌尿器科 後期研修医
 平成28年4月 岡山大学大学院医歯薬総合研究科博士課程入学
 平成29年4月 岡山大学病院 泌尿器科 医員
 令和元年9月 岡山大学大学院医歯薬総合研究科博士課程早期修了
 現在に至る

研究の背景と経緯

最近の知見では、がん細胞の増殖・浸潤・転移・化学療法抵抗性にはがん細胞そのものの動態だけでなく、がん細胞を取り巻く微小環境、その中でも特にがん関連線維芽細胞(CAF : cancer-associated fibroblast)が重要とされている。すい臓がんは豊富な間質を特徴としており、それらメカニズムの解明の臨床的意義は大きい。

S100たんぱく質は、ヒトでは20種あるS100たんぱく質ファミリーに属するCa結合性の低分子量たんぱく質である。種々がん細胞から分泌されオートクラインにてがん細胞の増殖を促進することが知られていた。細胞外S100たんぱく質が、がん細胞に機能するためには細胞膜受容体が必要であり、それがRAGE (receptor for Advanced Glycation endproducts) (糖化たんぱく質受容体、イムノグロブリンスーパーファミリーに属するI型のG回膜貫通型受容体)である。しかし、すい臓がんに至ってはS100A11たんぱく質の活発な産生分泌があるものの、RAGEの発現が低くS100A11たんぱく質がオートクラインで働いている事象が得られて

いなかった。すい臓がんにおいてS100A11たんぱく質に関する報告は多数あるが、すべてがん細胞とS100A11たんぱく質の関連を解析したものばかりであり、一定の見解を得られていないのが現状である¹⁾。他の間質が豊富ながん種において、がんの浸潤に先立ちCAFが増殖・遊走し、がんの進展を促すことが報告されている。さらにCAFは、薬物のがん到達を制限する厄介者と認識され、近年、がん間質を効果的に抑制する手法の開発が切望されている。しかし、これが何に起因するのか、そして増大した間質のがん進展への真の深い理解が頓挫しているため、革新となりうる医療への応用が成されていない。この理由の一端が分泌S100A11たんぱく質とCAFで説明がつけば、S100A11たんぱく質経路を標的とした新しいすい臓がん間質制御の医療創成につながる。

研究成果の内容

我々は過去の研究成果より、間質線維芽細胞側にRAGEが発現しており、がん細胞側のS100A11たんぱく質をパラクラインとして受け取ることで線維芽細胞

の増殖が活発となること、そしてさらにS100A11-RAGE 経路がすい臓がんにおける遊走・浸潤・転移に重要である可能性を見出している²⁾。つまり、すい臓がんから分泌されるS100A11たんぱく質とRAGE におけるRAGE のクロストークががんの進展に関与している可能性を考え、今回の研究を行った。

1. すい臓がん細胞と線維芽細胞の共培養における遊走・浸潤能の亢進

まず初めに、すい臓がん細胞株と線維芽細胞における共培養下での細胞遊走/浸潤能を確認するために、Boyden chamber を用いたMigration/invasion assay をおこなった。共培養をすることで細胞の遊走/浸潤能は亢進し、S100A11を加えることでさらなる亢進を認めた。マウスを用いた*In vivo*による実験においても共培養群において腫瘍の増殖の亢進を認めた。これらより、すい臓がん細胞において線維芽細胞ががんの進展に重要な役割の一部を担っていると考えられた。

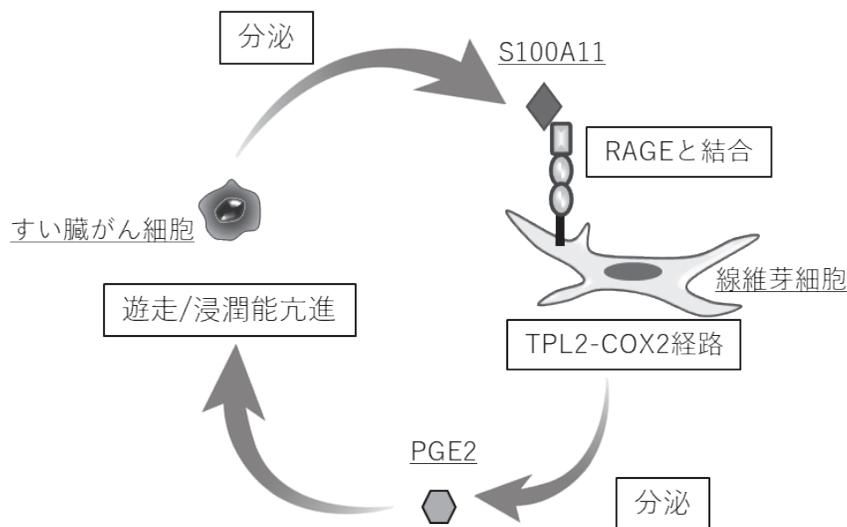
2. S100A11 とRAGE について

実際のがん患者における血清中のS100A11を調べたところ、健常者であるコントロール群と比べ血中のS100A11が上昇していることを確認した。次にS100A11とRAGE との関連をみるために、RAGE-Fc (分泌型のRAGE でありS100A11を補足して阻害薬様に働く)を用いて細胞の遊走/浸潤能を調べた。RAGE-Fc を加えることで、共培養で亢進していた遊走・浸潤能は抑制された。さらにRAGE への理解を深めるために、RAGE knock out (KO) 線維芽細胞を用いて共培養を行ったところ、RAGE KO 線維芽細胞と

共培養した群では細胞の遊走/浸潤能の亢進は認めなかった。これらよりすい臓がん細胞の遊走/浸潤には線維芽細胞が関与しており、特に線維芽細胞におけるRAGE が重要であることが示唆された。

3. RAGE 下流経路の検索

S100A11-RAGE 経路の線維芽細胞内の下流検索のために、RNA シーケンスを用いて網羅的な遺伝子発現の変化を検索し、RAGE wild type とRAGE KO では13の遺伝子に変化が認められた。しかし、S100A11の刺激によってこれらの遺伝子に変化は見られなかったため、細胞膜リン脂質のアラキドン酸カスケードに着目した。アラキドン酸カスケードの代謝産物であるプロスタグランジンE2 (PGE2) は様々ながんで過剰発現し、進展に関与すると報告されている³⁾。実際のすい臓がん患者由来の血清を調べたところ、PGE2の有意な亢進を認め、さらに、PGE2をすい臓がん細胞株に加えると遊走/浸潤能の亢進を認めた。過去の報告ではPGE2の産生にはMAPKKK 経路が関与されているとされたため、RAGE とMAPKKK の結合をみたところ、TPL2とASK1との結合を認めた。アラキドン酸カスケードの下流であるシクロオキシゲナーゼ2 (COX2) の発現は、S100A11刺激で亢進し、TPL2阻害薬によって亢進は抑制された。実際に、すい臓がん細胞の遊走/浸潤はTPL2阻害薬やCOX2阻害薬によって抑制されることも確認した。これらより、線維芽細胞のRAGE-TPL2-COX2経路によってPGE2の産生が促進され、PGE2ががん細胞に作用し遊走/浸潤能を亢進すると考えられた(図Q)。



図Q 本研究のシェーマ

4. *In vivo*におけるRAGE-Fcによる抗腫瘍効果

最後にマウスにおける*In vivo*においてRAGE-Fcによる抗腫瘍効果を確認した。すい臓がん細胞と線維芽細胞を同時にマウスに移植し、治療薬群としてRAGE-Fc, コントロールとしてマウスIgGを用いた。RAGE-Fc投与群で腫瘍の抑制効果を認め、さらに血中の循環腫瘍細胞数をフローサイトメトリーで調べたところ、コントロール群に比べRAGE-Fc群において少なかった。この結果よりRAGE-Fcは腫瘍の抑制だけでなく、転移も抑制する可能性が示唆された。

研究成果の意義

がん細胞でS100たんぱく質が過剰に産生され、癌の悪性度に関与する現象の報告は既になされていたが、これは現象論に留まるのみでS100たんぱく質の意義には迫っていなかった。2019年に至っても国内外での進展はなかったが、これまでの我々の精力的研究よりS100たんぱく質のすい臓がんの腫瘍進展における意義がようやく見出されつつある。間質細胞領域の占める割合の多いすい臓がんは、特に難治性である事が指摘されており、間質細胞を標的とした次世代型治療法の確立が望まれている。当計画の基礎研究成果は、まさにこのニーズに合致する新しい製剤開発 (S100たんぱく質とRAGEの連携を阻害する)の応用研究に将来的につながっていくと期待される。今回の研究においてS100A11-RAGE-TPL2-COX2-PGE2経路によるすい臓がん細胞の腫瘍増殖・転移促進メカニズムの一部を解明した。さらにRAGE-Fc投与による腫瘍縮小効果を確認し、RAGE-Fcの新薬としての可能性を見出すことができたと考える。

今後の展開や展望

今回の研究では癌の進展、転移のメカニズムの一部

を解明したが、CAFの役割は他にもあると考えられている。CAFは化学療法耐性の獲得やがんの発生の機序に関わっている可能性がある。それらのメカニズムの解明は化学療法併用薬の開発やがん発生の抑制といった面で役立つ可能性があり、今後さらなる研究が必要である。今回はS100A11をターゲットとしたがRAGEは他のS100たんぱく質やHMGB1などもリガンドとするため、それらをターゲットとした研究も進めていく必要がある。また、間質が豊富ながんとしては、すい臓がん以外にも膀胱がんなどが有名である。膀胱がんも間質の増生を伴いながら筋層浸潤することから、間質とがんとの関係が近年のトピックの一つである。今後は膀胱がんなどの他のがん種でも、がんと間質の関連に関する研究が進んでくれば、従来の治療との併用療法や従来の治療にとって代わる新しい治療法が見出される可能性がある。

文 献

- 1) JaiswalCJK,CLauritzenCSP,CSchefferCL,CSakaguchiCM,C Bunkenborg J, et al. : S100A11 Is Required for Efficient Plasma Membrane Repair and Survival of Invasive Cancer Cells. Nat Commun (2014) 5, 3795.
- 2) TakamatsuH,YamamotoKI,TomonobuN,MurataH,InoueC Y, et al. : Extracellular S100A11 Plays a Critical Role in Spread of the Fibroblast Population in Pancreatic Cancers. Oncol Res (2019) 27, 713-727.
- 3) EliopoulosCAG,DumitruCD,WangCC,ChoJ,TrichopoulosP,NGC Induction of COX-2 by LPS in Macrophages Is Regulated by Tpl2-dependent CREB Activation Signals. EMBO J (2002) 21, 4831-4840.

令和2年6月16日受稿
〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1
電話：086-235-7287 FAX：086-231-3986
E-mail：m28949825@gmail.com