

様式(8)

## 論 文 内 容 要 旨

### 題 目

Cancer-associated adipocytes promote pancreatic cancer progression through SAA1 expression

(癌関連脂肪細胞は膵癌のSAA1発現を誘導して膵癌の進展を促進する)

### 著 者

Masanori Takehara, Yasushi Sato, Tetsuo Kimura, Kazuyoshi Noda, Hiroshi Miyamoto, Yasuteru Fujino, Jinsei Miyoshi, Fumika Nakamura, Hironori Wada, Yoshimi Bando, Tetsuya Ikemoto, Mitsuo Shimada, Naoki Muguruma, Tetsuji Takayama

令和2年度 Cancer Science掲載予定

### 内容要旨

膵癌は、我が国及び諸外国において悪性腫瘍死亡率の上位を占め、最も予後不良な癌の1つである。膵癌は、病理組織学的に豊富な間質細胞を有し、癌細胞と密接に相互作用することにより浸潤・転移能、抗癌剤耐性、Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT)を獲得すると考えられている。例えば、膵癌細胞は線維芽細胞やマクロファージと相互作用して悪性形質を獲得することが報告されているが、膵癌細胞と脂肪細胞の相互作用はほとんど知られていない。そこで本研究では、膵癌細胞株と脂肪細胞株を*in vitro*で共培養することにより脂肪細胞がどの様に変化するのかを検討した。また、形質の変化した脂肪細胞が癌細胞の悪性形質に及ぼす効果を調べるとともに、その機序をmicroarray解析により検討した。結果として膵癌細胞にはSAA1発現が誘導されることを見出したことから、ヒト膵癌の手術検体を用いて膵癌組織におけるSAA1発現を調べ、その生存期間に及ぼす効果を検討した。

まず初めに、膵癌細胞株と脂肪細胞をdouble chamber法で分離共培養したところ、脂肪細胞の脂肪滴は著明に減少し、線維芽細胞様の形態を呈した。また、Ppargなどの脂肪細胞マーカーが減少し、 $\alpha$ -SMAなどの線維芽細胞マーカーの発現を認めた。すなわち、脂肪細胞は癌関連脂肪細胞(Cancer-associated adipocytes: CAA)に脱分化したと考えられた。次いで、CAAのconditioned media(CM)を作成し、膵癌細胞株の細胞増殖能、遊走能・浸潤能、薬剤耐性、EMTに及ぼす効果を検討した。その結果、CAA-CMを添加した膵癌細胞株PANC-1細胞は、対照群に比べて細胞増殖能は有意な変化を認めなかったが、遊走能、浸潤能、及び5-FUに対する耐性は有意に亢進した。また、E-

cadherin発現は有意に減少し、N-cadherinなどの発現を認め、EMTの誘導を認めた。そこで、このようなCAA-CMの膵癌細胞に対する作用の機序を検討するために、CAA-CMを添加したPANC-1細胞からmRNAを抽出してmicroarray解析を行った。その結果、SAA1 mRNAが対照群の78.5倍に発現増加しており、CAA-CMはSAA1発現を誘導してPANC-1細胞の遊走能・浸潤能、薬剤耐性、EMTを高めることが示唆された。PANC-1細胞におけるSAA1遺伝子をsiRNAでノックダウンしたところ、CAA-CMの効果はいずれも有意に抑制された。さらに、ヒト膵癌手術検体を用いて、免疫染色によりSAA1発現を評価したところ、SAA1陽性群では陰性群に比べて生存期間が有意に短かった。また、多変量解析ではSAA1発現が生存期間に影響を及ぼす独立した予後不良因子であった。

以上より、膵癌組織では癌細胞と周囲の脂肪細胞が相互作用することにより脂肪細胞がCAAに脱分化することが示された。CAAは、膵癌細胞におけるSAA1発現を誘導し、遊走能・浸潤能、抗癌剤耐性、及びEMTを誘導することにより癌の進展を促進することが示唆された。さらに、ヒト膵癌組織におけるSAA1発現は独立した予後不良因子であることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 <b>1466</b> 号	氏名	武原 正典
審査委員	主査 金山 博臣 副査 安友 康二 副査 片桐 豊雅		

題目 Cancer-associated adipocytes promote pancreatic cancer progression through SAA1 expression

(癌関連脂肪細胞は膵癌の SAA1 発現を誘導して膵癌の進展を促進する)

著者 Masanori Takehara, Yasushi Sato, Tetsuo Kimura, Kazuyoshi Noda, Hiroshi Miyamoto, Yasuteru Fujino, Jinsei Miyoshi, Fumika Nakamura, Hironori Wada, Yoshimi Bando, Tetsuya Ikemoto, Mitsuo Shimada, Naoki Muguruma, Tetsuji Takayama  
 令和2年8月11日発行 Cancer Science 第111巻第8号  
 2883 ページから 2894 ページに発表済  
 (主任教授 高山哲治)

要旨 膵癌は、本邦及び諸外国において悪性腫瘍死亡率の上位を占め、最も予後不良な癌の1つである。膵癌組織では、癌細胞が周囲の線維芽細胞やマクロファージと相互作用して癌関連線維芽細胞や癌関連マクロファージに脱分化することが知られているが、癌細胞と脂肪細胞の相互作用は検討されていない。申請者らは、まずヒト培養膵癌細胞と脂肪細胞を共培養し、脂肪細胞が癌関連脂肪細胞 (Cancer-associated adipocyte: CAA) に脱分化するかどうかを検討した。また、CAA が膵癌細胞の浸潤能・遊走能、薬剤感受性、上皮間葉転換 (Epithelial mesenchymal transition: EMT) などに及ぼす効果を調べるとともに、その機序を検討した。さら

に、ヒト膵癌の手術検体を用いて免疫染色を行い、予後との関連を検討した。得られた結果は以下の通りである。

1. 膵癌細胞株と脂肪細胞を共培養したところ、脂肪細胞の脂肪滴は著明に減少し、線維芽細胞様の形質を認め、CAA に脱分化したと考えられた。
2. CAA の培養上清(CAA-conditioned media: CAA-CM)を膵癌細胞株に添加して培養したところ、浸潤能・遊走能及び5-FU に対する耐性が有意に亢進した。また、E-cadherin 発現の減少や N-cadherin 発現亢進などの EMT の誘導が確認された。
3. CAA-CM を添加して培養した膵癌細胞の microarray 解析を行ったところ、*SAA1* mRNA の発現が 78.5 倍に上昇していた。
4. 膵癌細胞株の *SAA1* 遺伝子を siRNA によりノックダウンしたところ、CAA-CM による浸潤能・遊走能及び薬剤耐性の亢進や EMT の誘導は有意に抑制された。
5. ヒト膵癌手術検体を用いて、免疫染色により *SAA1* 発現を調べたところ、*SAA1* 陽性群では陰性群に比べて生存期間が有意に短かった。また、多変量解析では *SAA1* 発現が独立した予後不良因子であった。

以上より、膵癌組織では癌細胞と周囲の脂肪細胞が相互作用することで脂肪細胞が CAA に脱分化することが示された。CAA は、膵癌細胞の *SAA1* 発現を誘導し、浸潤能・遊走能、抗癌剤耐性、及び EMT を誘導することにより癌の進展を促進することが示唆された。本研究は今後の膵癌診療に大きく寄与するものであり、学位授与に値すると判定した。