

**京都大学教育研究振興財団助成事業  
成 果 報 告 書**

平成 28 年 5 月 9 日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団  
会 長 辻 井 昭 雄 様

所属部局・研究科 京都大学大学院医学研究科 呼吸器外科学

職 名・学 年 博士課程 4年

氏 名 祢 里 真 也

助 成 の 種 類	<b>平成28年度 ・ 若手研究者在外研究支援 ・ 国際研究集会発表助成</b>	
研 究 集 会 名	アメリカ癌学会学術集会2016 American Association for Cancer Research Annual Meeting 2016	
発 表 題 目	EMT in cancer cells promotes the extracellular matrix remodeling by cancer-associated fibroblasts that drives cancer cell invasion	
開 催 場 所	アメリカ合衆国 ニューオーリンズ	
渡 航 期 間	平成 28年 4月 17日 ～ 平成 28年 4月 23日	
成 果 の 概 要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有( )	
会 計 報 告	交付を受けた助成金額	300,000円
	使用した助成金額	300,000円
	返納すべき助成金額	0円
	助 成 金 の 使 途 内 訳	航空券代 133,580円
		ホテル代 124,149円
		学会参加登録費 31,108円
		自宅-空港間 空港-ホテル間 交通費 11,659円
当財団の助成について	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。)	

## EMT in cancer cells promotes the extracellular matrix remodeling by cancer-associated fibroblasts that drives cancer cell invasion

京都大学大学院医学研究科呼吸器外科学分野  
柰里真也

アメリカ合衆国ルイジアナ州ニューオーリンズで開催された米国癌学会 2016 年次集会以 poster 発表を行った。

報告概要：我々はコラーゲンで構築したがん微小環境モデルにおけるがん細胞の浸潤形式として、CAF(cancer-associated fibroblasts, がん関連線維芽細胞)が初めに浸潤し、それによって出来たトンネルの中をがん細胞が浸潤していく形態を観察した(CAF 依存性がん細胞浸潤)。上記の知見から、トンネル内をより選択的に浸潤できるがん細胞は、EMT(Epithelial-Mesenchymal Transition, 上皮間葉移行)によって個々の遊走能が亢進したがん細胞ではないかと仮説を立て、EMT を誘導した A549 肺がん細胞株を用いて検討したところ、仮説通りがん細胞浸潤の上昇を確認できただけでなく、興味深い事に CAFs の浸潤能の亢進をも認めた。

まず、EMT を起こしたがん細胞が直接または間接的に CAFs の浸潤能を刺激しているのかを調べたところ、EMT を起こしたがん細胞の培養上清で CAFs 単独の浸潤能の上昇を確認した。

次に、EMT を誘導したがん細胞と誘導していないがん細胞で cDNA microarray を行い、発現に差を認めた遺伝子を抽出し、EMT を起こしたがん細胞で著明に発現が上昇している分泌蛋白関連の遺伝子を 7 個同定できた。

その内、PDGF-BB を添加すると、著明に CAFs の浸潤能を濃度依存性に上昇させる事を確認した。

PDGF-B を shRNA でノックダウンしたがん細胞に EMT を誘導したところ、がん細胞および CAFs の浸潤能の亢進はキャンセルされ、機能遺伝子である事を確認できた。CAFs 単独の浸潤能をみるアッセイにおいて、リコンビナント PDGF-BB および蛋白 A の受容体阻害薬を同時に添加して実験を行ったところ、リコンビナント PDGF-BB で上昇した浸潤能が、PDGF 受容体阻害薬により抑制される事を確認できた。

EMT 誘導がん細胞と CAFs の浸潤能をみるアッセイにおいて、PDGF 受容体阻害薬を添加したところ、上昇していたがん細胞及び CAFs の浸潤能が抑制される事を確認できた。

以上の *in vitro* の実験結果より、EMT を起こしたがん細胞は PDGF-BB の分泌を亢進させる事により、paracrine signaling で CAFs のコラーゲン浸潤能を上昇させ、CAF 依存性がん細胞浸潤を促進していると考えられた。

さらに実験をすすめ、EMT 誘導がん細胞単独での浸潤能をみるアッセイを行った。

PDGF-B を shRNA でノックダウンしたがん細胞に EMT を誘導したところ、がん細胞の浸潤能の亢進はキャンセルされた。しかし、PDGF 受容体阻害薬を添加したところ、上昇していたがん細胞の浸潤能は低下する傾向がみられたものの統計学的に有意な差ではなかった。

以上の *in vitro* の結果より、EMT を起こしたがん細胞は PDGF-BB の分泌を亢進させる事により、autocrine signaling でがん細胞自身の浸潤能をある程度は上昇させ、さらに paracrine signaling で CAFs のコラーゲン浸潤能を上昇させ、CAF 依存性がん細胞浸潤を促進していると考えられた。

以上を発表し、様々な施設の研究者と有意義なディスカッションができた。議論を交わした研究者の中には、我々とよく似た実験条件で研究をしている方がおり、非常に細かい所の設定に関して多くの有意義な情報交換ができた。また、治療標的として薬剤の開発をしている企業の方など、普段は話をする機会のない分野の方とも議論ができ有用であった。

今回の発表で得られた情報も活かして、今後は *in vivo* において EMT を起こしているがん細胞と CAFs を SCID マウスの皮下に注射し、浸潤が促進されるか検討する。さらに臨床検体を用いて、がん細胞が EMT を起こしている浸潤先進部において、PDGF-BB の分泌が促進され、CAFs の PDGF 受容体のリン酸化が亢進しているか確認し、その陽性症例の転移・再発割合、予後を解析する予定である。