

「腓星細胞」新規マーカーの発見 — 腓臓線維化のメカニズム解明の鍵に

【ポイント】

・腓星細胞(注※1)に存在する膜タンパク質メフリン(注※2)(Meflin、遺伝子名 *Islr*) が、腓星細胞のマーカー(細胞を特定するための目印)として使えることを発見し、この新しいマーカーを利用して、腓臓の中での腓星細胞のふるまいを詳しく解析することに成功しました。

・慢性腓炎や腓がんでは、病気を進行させ、治療を困難にする線維化(注※3)とよばれる現象が起こりますが、その原因である線維芽細胞の起源や働きについて、解明されていない点が多く残されています。

・今回の研究の結果、腓星細胞が線維芽細胞を生み出す源となっていることがわかりました。また、慢性腓炎では、腓星細胞が腓臓を修復しようとする働きを持っている可能性が示されました。

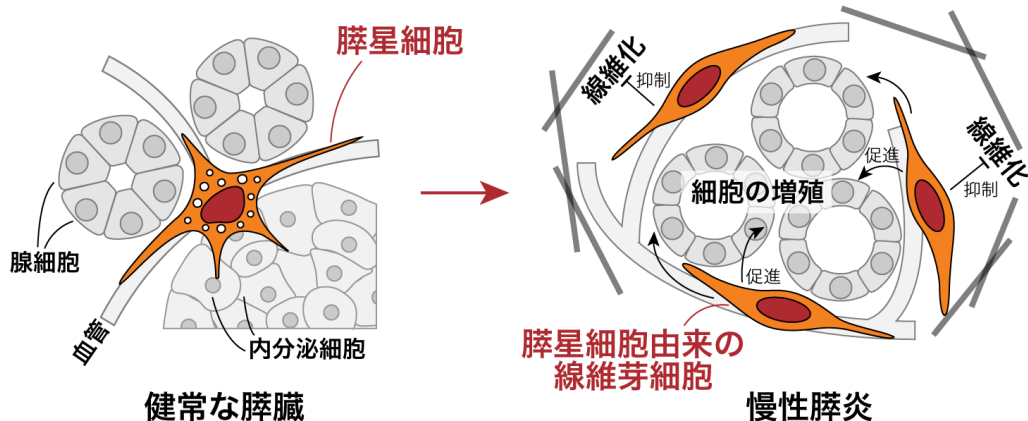
【要旨】

名古屋大学大学院医学系研究科の安藤良太 研究員、榎本篤 教授、藤田医科大学国際再生医療センターの高橋雅英 センター長らの研究グループは、腓臓に存在する腓星細胞が、慢性腓炎や腓がんなどの腓臓病における線維化、および腓臓の修復に重要な役割を担っていることを明らかにしました。

腓星細胞は、腓臓病における線維化との関わりで近年注目されている細胞ですが、生体内での形や性質、働きについては詳しくわかっていません。安藤研究員らは、腓星細胞に存在する膜タンパク質メフリン(Meflin、遺伝子名 *Islr*) が、この細胞を特定するためのマーカー(目印)として利用できることを発見しました。これにより、慢性腓炎や腓がんといった腓臓病で、腓星細胞がどのようなふるまいをしているのか、詳しく解析することが可能となりました。

慢性腓炎や腓がんといった腓臓の病気では、病気を進行させ、治療を困難にする線維化とよばれる現象が起こります。しかし、線維化を引き起こす線維芽細胞の起源や機能について、まだ多くの点が未解明です。今回の研究では、腓星細胞が、慢性腓炎や腓がんが線維芽細胞を生み出す源となっていることがわかりました。さらに、慢性腓炎では、腓星細胞が腓臓の修復(線維化の抑制や細胞増殖のサポート)に関わっている可能性も見えてきました。これらの発見は、腓星細胞や線維芽細胞の研究の突破口となり、線維化のメカニズムの解明に向けた今後の研究の基盤となることが期待されます。

この研究成果は、国際科学雑誌「The Journal of Pathology」電子版(2023年10月5日付)に掲載されました。



1. 背景

慢性膵炎(注※4)や膵がん(注※5)などの膵臓病では、線維化とよばれる特徴的な現象が起こります。線維化とは、膵臓を構成する上皮細胞(消化酵素をつくる腺細胞やインスリンなどをつくる内分泌細胞)のまわりにある間質(注※6)とよばれる空間に、コラーゲンなどの物質がたまっていき、膵臓が硬くなってしまう現象です。この現象は、慢性膵炎や膵がんなど重大な膵臓病において、病気の進行をもたらす、さらには治療に対する抵抗性を強めてしまうことが知られています(参考文献[1]–[3])。このため、本研究グループは、線維化に着目して、がんなどの病気を研究してきました(参考文献[4]–[7])。

線維化の直接の原因となるのは、線維芽細胞という細胞です。実は、線維芽細胞は、健康な膵臓にはほとんど存在しません。慢性膵炎や膵がんになると、線維芽細胞が出現して、コラーゲンなどの物質を過剰につくり出し、膵臓に線維化をもたらします。しかし、線維芽細胞がどこからやってきて、どのようなメカニズムで病気にかかわっているのか、未解明な点が多く残されています(参考文献[8])。

近年、膵星細胞とよばれる間質細胞に、膵臓の線維化との関わりを示唆する報告が相次ぎ、注目を集めています(参考文献[9])。これまでの膵星細胞研究では、体から膵臓の一部を採取し、ばらばらにしてから、実験室で培養した膵星細胞を使ってさまざまなデータが収集されてきました。しかし、膵星細胞の働きをより正確に知るためには、実験室で培養した膵星細胞を調べるだけでなく、膵臓をそのままの状態を観察、解析する実験を行うことも必要です。そのためには、多くの細胞が混在する膵臓の中で、膵星細胞を特定するための目印(「マーカー」といいます)が必要となります。今回、本研究グループは、膵星細胞の表面に存在するメフリン(Meflin、遺伝子名 Islr)という膜タンパク質に着目し、この膜タンパク質をマーカーとして使うことで膵星細胞にアプローチしました。そして、膵星細胞の形や性質、働き、とくに線維化との関わりを探ろうと考えました。

2. 研究成果

最初に、メフリンが、膵星細胞に確かに存在することを確認した上で、膵臓を構成するそのほかの細胞、たとえば消化酵素やホルモンをつくる上皮細胞、血管の細胞などには存在しないことを確認しました。すなわち、メフリンをマーカー(目印)として、膵星細胞を特定することができるということです。この新しい膵星細胞マーカーを使って、次のような実験を行いました。

まず、膵星細胞の分布や形態を調べました。これは、遺伝子組み換えマウスを利用して、メフリンを持つ細胞だけに蛍光タンパク質を持たせることで、膵星細胞を蛍光観察するという方法を使っています。このマウスの膵臓に、組織透明化という特殊な技術を使用して、膵臓での膵星細胞を3Dで観察しました。すると、膵星細胞は主に膵臓内の毛細血管に沿って分布しており、その長い細胞突起が毛細血管に密着していることが示されました(図1)。

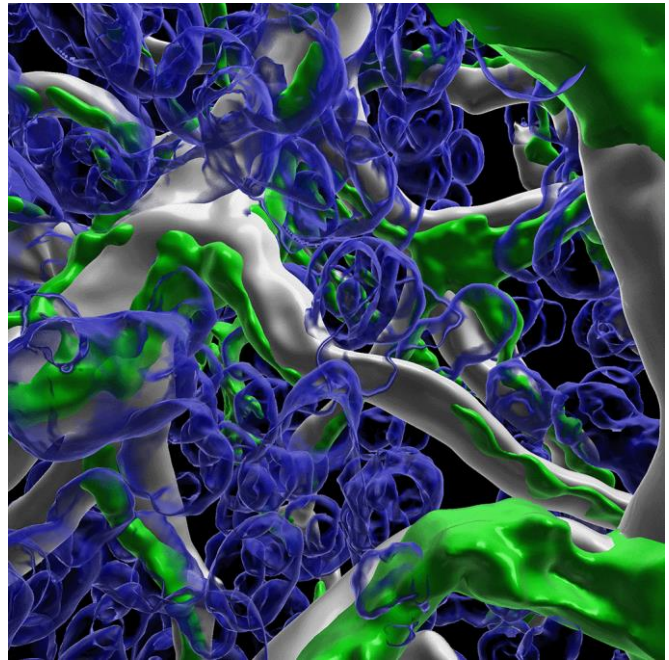


図1 3Dで見た膵星細胞。緑が膵星細胞、白が毛細血管。その他の細胞(膵腺房の上皮細胞など)は細胞核のみを青で示す。

次に、慢性膵炎や膵がんのマウスで、メフリンを目印に、膵星細胞の子孫の細胞がどうなったかを調べる系譜細胞追跡という実験を行いました。その結果、膵臓に線維化をもたらす線維芽細胞の一部が、膵星細胞の子孫であることがわかりました(図2)。過去の研究で、実験室で培養した膵星細胞を使った実験により膵星細胞が線維芽細胞に変化することはわかっていたのですが、今回の研究により、実際の動物の生体内で、この現象を証明することができました。

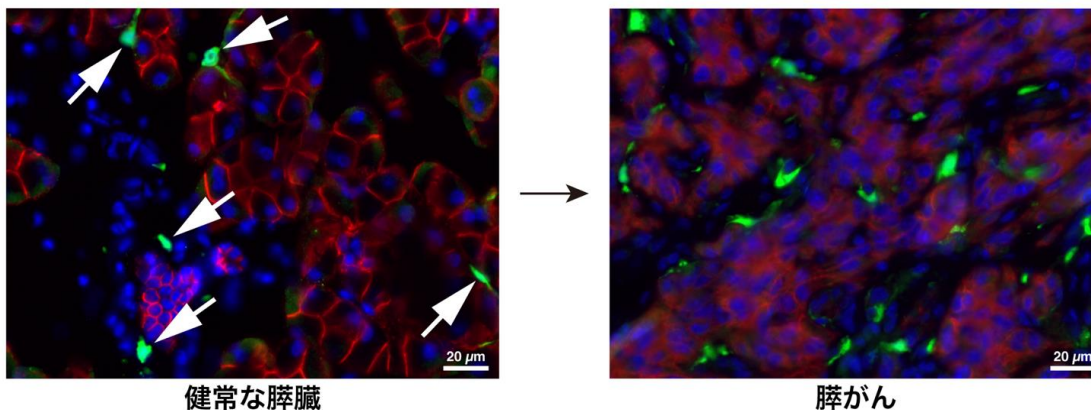


図2 遺伝子組み換えマウスを使用し、健常な膵臓(左図)で、メフリンを持つ膵星細胞を蛍光タンパク質(緑色)でラベルした(矢印)。このマウスに、膵がん細胞を移植して膵がんを発生させると(右図)、緑色の膵星細胞の子孫が、線維芽細胞(がん関連線維芽細胞)となっていた。(赤色は膵臓の上皮細胞およびがん細胞、青色は細胞核。)

さらに、膵星細胞が、病気の膵臓を修復しようとする働きをもっている可能性を示す、2つの重要な知見が得られました。1つ目としては、慢性膵炎のマウスで、メフリンを目印として使い、膵星細胞を人為的に無くしてしまう細胞枯渇実験を行ったところ、線維化がより強くなることがわかりました。この結果は、膵星細胞が線維化の原因である線維芽細胞を生み出すという働きと一見矛盾するようにみえますが、膵星細胞や線維芽細胞の一部が、病態の経過の中で、ある時期には線維化を抑制する役割を持っている可能性があることを示しており、今後の研究展開が期待されます。2つ目としては、膵星細胞が産生する R-spondin 3 という物質に着目しました。R-spondin 3 は、細胞増殖刺激の一つ Wnt シグナルを強化する物質です。慢性膵炎では、炎症による破壊から回復するために上皮細胞が増殖しようとしませんが、膵星細胞を人為的に無くしてしまうと、この細胞増殖が妨げられることがわかりました。このことから、膵星細胞は R-spondin 3 を産生して、細胞増殖をサポートしている可能性があると考えられます。

3. 今後の展開

今回の研究成果は、膵臓病の病態に深く関わっている膵星細胞にアプローチするための重要な手がかりとなる可能性があります。膵星細胞の研究を通して、膵臓病における線維化のメカニズムを解き明かし、将来的には新たな治療戦略の提供へとつなげていくことが期待されます。

4. 用語説明

※1 膵星細胞(すいほしさいぼう):膵臓の間質に存在する細胞で、細胞突起を持ち、細胞の形状が星形に見えることから膵星細胞とよばれます。膵星細胞の役割は完全にはわかっていませんが、正常な膵臓では、間質の恒常性を保つ働きがあります。膵炎や膵がんでは、膵臓の線維化に深くかかわっていると考えられており、病態をつかさどる細胞として注目されています。

※2 メフリン(Meflin、遺伝子名 *Islr*):膜タンパク質(細胞膜に付着するタンパク質)の一種です。詳しい機能はまだわかりませんが、これまでに、本研究グループは、メフリンを間葉系幹細胞や線維芽細胞の特異的マーカーとして報告しています(参考文献[10][11])。

※3 線維化:線維芽細胞の産生したコラーゲンなどの物質(線維)が、臓器の間質に蓄積してしまう現象です。病気による傷害を修復しようとする現象ですが、病気をより悪化させてしまうことがあります。

※4 慢性膵炎:飲酒などの原因により、膵臓に持続的な炎症が生じ、正常な膵臓の細胞が徐々に破壊されて膵臓が線維化してしまう病気です。

※5 膵がん:膵がんは、早期発見が難しく、治療が効きにくいことも多いため、現在でも予

後不良のがんの1つです。他の臓器のがんと比べて、線維化が目立つのが特徴です。

※6 間質:各臓器で固有の機能を担う上皮細胞(膵臓では腺細胞や内分泌細胞)に対し、上皮細胞の周囲を取り囲み、サポートしている組織を間質といいます。間質には、線維芽細胞、免疫細胞、血管内皮細胞などの細胞と、コラーゲンなどの細胞外基質が存在し、上皮細胞の機能をサポートしています。

5. 参考文献

[1] Conwell DL, Lee LS, Yadav D, Longnecker DS, Miller FH, Morteale KJ, et al. American Pancreatic Association Practice Guidelines in Chronic Pancreatitis. *Pancreas* 2014;43:1143-62.

[2] Kobayashi H, Enomoto A, Woods SL, Burt AD, Takahashi M, Worthley DL. Cancer-associated fibroblasts in gastrointestinal cancer. *Nat Rev Gastroentero* 2019;16:1.

[3] Ando R, Sakai A, Iida T, Kataoka K, Mizutani Y, Enomoto A. Good and Bad Stroma in Pancreatic Cancer: Relevance of Functional States of Cancer-Associated Fibroblasts. *Cancers* 2022;14:3315.

[4] Mizutani Y, Kobayashi H, Iida T, Asai N, Masamune A, Hara A, et al. Meflin-Positive Cancer-Associated Fibroblasts Inhibit Pancreatic Carcinogenesis. *Cancer Res* 2019;79:5367-81.

[5] Ichihara R, Shiraki Y, Mizutani Y, Iida T, Miyai Y, Esaki N, et al. Matrix remodeling-associated protein 8 is a marker of a subset of cancer - associated fibroblasts in pancreatic cancer. *Pathol Int* 2022;72:161-75.

[6] Iida T, Mizutani Y, Esaki N, Ponik SM, Burkel BM, Weng L, et al. Pharmacologic conversion of cancer-associated fibroblasts from a protumor phenotype to an antitumor phenotype improves the sensitivity of pancreatic cancer to chemotherapeutics. *Oncogene* 2022;41:2764-77.

[7] Miyai Y, Sugiyama D, Hase T, Asai N, Taki T, Nishida K, et al. Meflin-positive cancer-associated fibroblasts enhance tumor response to immune checkpoint blockade. *Life Sci Alliance* 2022;5:e202101230.

[8] Garcia PE, Scales MK, Allen BL, Magliano MP di. Pancreatic Fibroblast Heterogeneity: From Development to Cancer. *Cells* 2020;9:2464.

[9] Sherman MH. Stellate Cells in Tissue Repair, Inflammation, and Cancer. *Annu Rev Cell Dev Bi* 2018;34:333–55.

[10] Maeda K, Enomoto A, Hara A, Asai N, Kobayashi T, Horinouchi A, et al. Identification of Meflin as a Potential Marker for Mesenchymal Stromal Cells. *Sci Rep* 2016;6:22288.

[11] Hara A, Kato K, Ishihara T, Kobayashi H, Asai N, Mii S, et al. Meflin defines mesenchymal stem cells and/or their early progenitors with multilineage differentiation capacity. *Genes Cells* 2021;26:495–512.

【論文情報】

雑誌名: The Journal of Pathology

論文タイトル:

Meflin is a marker of pancreatic stellate cells involved in fibrosis and epithelial regeneration in the pancreas

著者名・所属名:

安藤 良太(名古屋大学大学院医学系研究科腫瘍病理学・分子病理学)

白木 之浩(名古屋大学大学院医学系研究科腫瘍病理学・分子病理学)

宮井 雄基(名古屋大学医学部附属病院化学療法部)

清水 啓紀(名古屋大学大学院医学系研究科腫瘍病理学・分子病理学)

古橋 和拡(名古屋大学大学院医学系研究科腎臓内科学)

湊口 俊(藤田医科大学医学部腎臓内科学)

加藤 勝洋(名古屋大学大学院医学系研究科循環器内科学)

加藤 彰(名古屋大学未来社会創造機構)

飯田 忠(名古屋大学大学院医学系研究科消化器内科学)

水谷 泰之(名古屋大学大学院医学系研究科消化器内科学)

伊藤 喜介(名古屋大学大学院医学系研究科腫瘍外科学)

浅井 直也(藤田医科大学医学部病理学)

三井 伸二(名古屋大学大学院医学系研究科腫瘍病理学・分子病理学)

江崎 寛季(名古屋大学大学院医学系研究科腫瘍病理学・分子病理学)

高橋 雅英(藤田医科大学国際再生医療センター)

榎本 篤(名古屋大学大学院医学系研究科腫瘍病理学・分子病理学)

DOI: 10.1002/path.6211

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/The_231006en.pdf