

課題番号 50

## 脱細胞化肺と腫瘍関連線維芽細胞相互作用の解明

### [1] 組織

代表者：井上 千裕

(東北大学大学院医学系研究科病理診断学  
分野、シンシナティ大学医学部)

対応者：鈴木 隆哉

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 112,820 円，旅費 17,180 円

### [2] 研究経過

#### ■目的

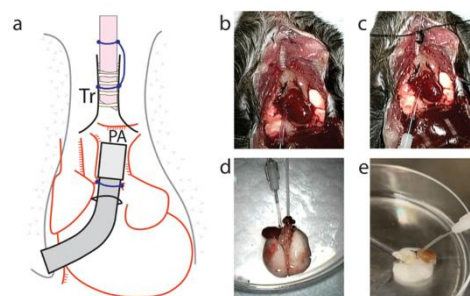
脱細胞化肺マトリックスがもたらす三次元環境を利用して CAF が ECM と相互作用する具体的な分子機構を明らかにする。さらに正常線維芽細胞が CAF へと変化するプロセスを明確にする。

#### ■概要

癌の進行および転移において、癌関連線維芽細胞 (Cancer-Associated Fibroblasts, CAF) は重要な役割を担うことが知られている。CAFs は腫瘍微小環境 (Tumor Microenvironment, TME) の主要な構成要素であり、細胞外マトリックス (Extracellular Matrix, ECM) の再構築を介して腫瘍細胞の増殖、血管新生、免疫抑制、および転移能に寄与する。これまでの研究により、CAF は乳癌、膵臓癌、肺癌などの多くの固形腫瘍においてその活性化状態が悪性度の上昇や予後不良と強く相関することが報告されている (Kalluri, 2016; Öhlund et al., 2017)。CAF の腫瘍促進作用には、特定のサイトカインや成長因子の分泌 (例: TGF- $\beta$ , IL-6)、ECM の改変 (例: コラーゲンの架橋や硬化)、および周囲細胞との相互作用が関与している。

CAF の振る舞いは、腫瘍組織内での癌細胞との相互作用によって大きく影響を受けるが、その一方で CAF 自体の能動的な性質や、TME 内での ECM の状態によっても左右されると考えられる。しかしながら、CAF が正常な線維芽細胞とどのように異なるか、特に三次元環境における挙動の違いや、ECM との直接的な相互作用を介してどのように腫瘍形成を促進するのかについては未解明の点が多い。また、CAF の役割を癌細胞から独立して評価する手法が限られており、これまでの臨床検体研究では CAF の作用を癌細胞依存的な変化

と独立的な作用に分離して理解することが困難であった。



加齢研担当教員の鈴木隆哉はこれまでの臓器再生研究から、マウス心肺を安定的に脱細胞化し、肺細胞の生理的三次元培養を可能とするシステムを確立している (Tomiyama, Suzuki, et al. 2024, 上図)。このシステムでは、臓器固有の細胞外マトリックスを保持しながら細胞を完全に除去する技術を用いることで、細胞が配置される自然な三次元構造を再現することに成功している。従来の二次元培養や形状を持たないゲル内三次元培養と比較して、より生体に近い環境を提供することが可能となり、この技術を用いることで CAF と ECM の相互作用を個別に解析する新たな道が開けた。

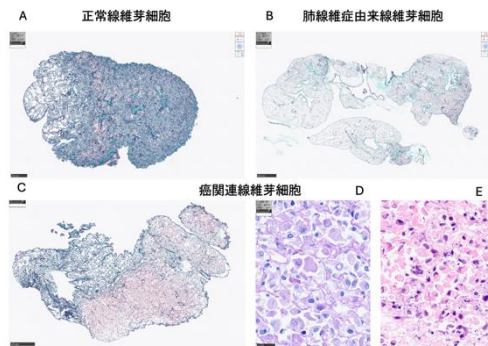
この培養系では正常肺マトリックス内に肺癌細胞と線維芽細胞または CAF を組み合わせて培養することで、CAF の行動をより生体に近い条件で観察することができる。この系により、正常線維芽細胞と CAF の違いを明確に解析できるだけでなく、ECM の物理的特性 (例: 硬度や弾性) が CAF の機能に及ぼす影響を評価することが可能である。CAF が分泌する因子が癌細胞や周囲の細胞に与える影響も詳細に調査することができる。

本研究では、スカフォールディングの技術をもつ加齢医学研究所呼吸器外科学分野の鈴木と、肺癌関連線維芽細胞に関する基礎的知見をもつ井上 (代表者) の共同で、三次元スカフォールドの相互作用メカニズムを明らかにする。スカフォールドは加齢医学研究所で準備をおこない、タイミングをあわせて東北大学病院病理部へ持ち込み、癌関連線維芽細胞を注入して培養した。1ヶ月に1回程度の定期的ミーティングをおこない、進捗状況を共有している。井上は2025年12月よりシンシナティ大学へ移動したため、オンラインでのミーティングを行っている。

### 〔3〕 成果

#### （3－1）研究成果

肺癌関連細胞を培養し、一つのマウス脱細胞化肺に対して 300 万個注入した。注入後、脱細胞化肺全体を 50mL のコニカルチューブへ投入し、15mL の培地で 24 時間培養を行った。翌日に脱細胞化肺をとりだし、1mm ほどの厚さに切断し、24 ウェルプレートに 2-3 枚ずつ投入して培養を継続した。培養 3 日目・7 日目にスライスを採取し、固定と RNA を抽出を行った。



興味深いことに、肺癌関連線維芽細胞は、正常肺線維芽細胞と 2 次元プラスチック培養では全く形態的な違いを見せなかったが、スカフォールド上の 3 次元下では著名な形態変化見せた。正常肺線維芽細胞では肺胞壁にそって網目状に増殖し、膠原線維の Deposit をつくたが、肺癌関連線維芽細胞はまるで癌細胞のようにクラスター上の増殖を見せた。現在 RNA の網羅的解析を行っている。

#### （3－2）波及効果と発展性など

本研究は名古屋市立大学との共同研究に発展しており、マウス肺障害モデルのスカフォールド上に正常線維芽細胞を撒いて異なる反応が見られるか検討している。この成果を踏まえて、科学研究費補助金への応募を検討している。

### 〔4〕 成果資料

なし