

研究助成 2022 – がん領域 –
研究成果報告書（最終） <概要>

現 所 属	信州大学医学部医学科 循環病態学教室
氏 名	田中 愛
研究テーマ	アドレノメデュリン-RAMP2、3 系の選択的制御による癌転移抑制法の開発
<ul style="list-style-type: none"> ● 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。 ● 構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果等 1 ページにまとめること。 (図表、写真等の貼付を含む) 	
<p>【研究背景・目的】</p> <p>アドレノメデュリン(AM)は全身で広く産生され、多彩な生理活性を有するペプチドである。AM の活性は、主として、AM の受容体に結合する受容体活性調節タンパク RAMP2 および RAMP3 により制御されている。我々はこれまで、「RAMP2 が血管の恒常性を制御するのに対し、RAMP3 はリンパ管の恒常性を制御する」という、機能分化が存在することを明らかとしてきた。一方、AM は様々な癌においても産生されている。本研究では癌転移における AM-RAMP2 系および、AM-RAMP3系の意義を検討した。</p> <p>【研究手法・成果】</p> <p>PAN02 膵癌細胞を脾臓に移植し、肝臓への転移を検討した。RAMP2 ノックアウトマウス(RAMP2^{-/-})は胎生致死のため、成体での解析が不可能である。そこで本研究では、誘導型の血管内皮細胞特異的 RAMP2 ノックアウトマウス (DI-E-RAMP2^{-/-})を用いた。DI-E-RAMP2^{-/-}では、原発巣サイズが縮小するのに対し、肝臓への転移は亢進していた。DI-E-RAMP2^{-/-}では、転移巣における血管の傷害と共に炎症が生じ、癌細胞が転移する前の段階で、癌細胞が定着しやすい環境、すなわち転移前土壌が形成されていると考えられた。さらに DI-E-RAMP2^{-/-}の転移巣では、癌周囲の線維化亢進と、α SMA 陽性の癌関連線維芽細胞(CAF)の増加を認め、これらの CAF はポドプラニン(PDPN)陽性であった。さらに DI-E-RAMP2^{-/-}では、RAMP2 発現低下と共に RAMP3 発現が代償性に亢進していた。</p> <p>一方、RAMP3 ノックアウトマウス(RAMP3^{-/-})は成体が得られた。RAMP3^{-/-}では、DI-E-RAMP2^{-/-}とは逆に肝転移が有意に抑制され、転移巣の癌周辺領域の CAF が減少していた。さらに RAMP3^{-/-} CAF では、PDPN 発現が低下しており、ストレスファイバーの形成が抑制されている一方で、細胞膜直下のアクチンリングの形成が亢進しており、間葉上皮転換(MET)を生じていると考えられた。そこで、PDPN が AM-RAMP3 系のシグナル下流に存在することを検証するため、RAMP3 ノックダウン線維芽細胞を樹立した。その結果、RAMP3 発現低下に伴って、PDPN 発現低下が確認された。さらに RAMP3^{-/-}の初代培養 CAF では、PDPN 発現制御に関わる p-Src、Cas 活性が低下していた。マイクロアレー解析では、RAMP3^{-/-} CAF では、腫瘍増殖因子の発現低下と抑制因子の発現亢進が認められ、悪性度が低下していると考えられた。実際に、共培養系で、RAMP3^{-/-}-CAF は Pan02 膵癌細胞の増殖、遊走を抑制すると共に、RAMP3^{-/-}-CAF を Pan02 膵癌細胞と混合してマウスに移植すると、癌の増殖および転移は抑制された。このことから、RAMP3^{-/-}-CAF は、癌増殖や転移を抑制する、いわば良性の CAF に表現型が変化していると考えられた。最後に RAMP3^{-/-}に対して AM を持続投与することで、AM-RAMP2 系を選択的に活性化したところ、癌転移は RAMP3^{-/-}よりもさらに抑制された。</p> <p>【考察】</p> <p>以上の結果から、「AM-RAMP2 系は、血管恒常性を維持し、転移前土壌形成を抑制することで、転移を抑制する」のに対し、「AM-RAMP3 系は、癌関連線維芽細胞(CAF)の悪性度を増悪させ、転移を促進する」ことが明らかとなった。選択的な RAMP2 活性化と RAMP3 阻害が癌転移抑制の新たな治療法になることが期待される。</p>	

研究助成 2022 – がん領域 –

研究成果報告書（最終）＜発表実績/予定一覧＞

現 所 属	信州大学医学部医学科 循環病態学教室
氏 名	田中 愛
<ul style="list-style-type: none"> ● 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。 ● 欄が足りない場合は増やして記入すること。 	
1. 論文発表実績	
<ul style="list-style-type: none"> ● 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成交付後のものに限る。 ● 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入すること。なお、著者名は省略せず全てを記入し、自分の名前に<u>下線</u>を引くこと。 ● 国内外雑誌を問わない。 ● 印刷中は in press と記入し、投稿中の論文および学会のアブストラクトは含めない。 	
1	Zhao Y, Sakurai T, Kamiyoshi A, <u>Tanaka M</u> , Ichikawa-Shindo Y, Kawate H, Matsuda Y, Zhang Y, Guo Q, Li Pe, Hoshiyama K, Hayashi M, Li J, Shindo T. Adrenomedullin 2/Intermedin Exerts Cardioprotective Effects by Regulating Cardiomyocyte Mitochondrial Function Hypertension 2025 in press 査読有
2	<u>Tanaka M</u> (co-first author), Kasahara T, Tanaka M, Zhao Y, Kamiyoshi A, Saurai T, Ichikawa-Shindo Y, Kawate H, Matsuda Y, Zhang Y, Guo Q, Li P, Hoshiyama K, Li J, Onishi N, Hayashi M, Sanjo H, Ishida K, Tanaka S, Kawanata M, Shindo T. Receptor activity-modifying proteins of adrenomedullin (RAMP2/3): Roles in the pathogenesis of ARDS. Peptides. 171:171118, 2023. 査読有
3	Kakihara S, Matsuda Y, Hirabayashi H, Imai A, Iesato Y, Sakurai T, Kamiyoshi A, <u>Tanaka M</u> , Ichikawa-Shindo Y, Kawate H, Zhao Y, Zhang Y, Guo Q, Li P, Onishi N, Murata T, Shindo T. Role of adrenomedullin-2/intermedin in the pathogenesis of neovascular age-related macular degeneration. Lab Invest. 103(4):100038, 2023. 査読有
4	Shindo T, <u>Tanaka M</u> , Kamiyoshi A, Ichikawa-Shindo Y, Kawate H, Sakurai T. Receptor activity modifying protein RAMP sub-isoforms and their functional differentiation, which regulates functional diversity of adrenomedullin. Biology. 11, 788, 2022. 査読有
5	
6	
7	
8	
9	

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成交付後のものに限る。 ● 発表学会名、発表者名、演題を記入すること。 ● 国内外を問わない。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2024年 3月8-10日	第88回日本循環器学会 Vascular homeostasis by the AM-RAMP2 system promotes T cell recruitment, prevents cancer cell migration, and suppresses lymph node metastasis. Tanaka M. , Sakurai T, Kamiyoshi A, Ichikawa-Shindo Y, Kawate H, Zhao Y, Matsuda Y, Zhang Y, Guo Q, Li P, Hoshiyama K, Li J, Onishi N, Hayashi M, Kasahara T, Shindo T
2	2024年 2月9-10日	第53回日本心臓血管作動物質学会 招待講演 アドレノメデュリンの受容体活性調節システムを標的とした癌転移の制御 田中愛 、新藤隆行
3	2023年 9月30日	第6回日本腫瘍循環器学会 AM-RAMP2系は、高内皮細静脈(HEV)の恒常性を制御し、リンパ節転移を抑制する 田中愛 、桜井敬之、神吉昭子、新藤優佳、河手久香、ZHAO YUNLU、松田順繁、ZHANG YAN、GUO QIANQIAN、星山健、LI PEIXUAN、LI JIAKE、大西菜穂、林真倫那、笠原智貴、甲斐健佑、新藤隆行
4	2023年 7月12日	日本心血管内分泌代謝学会 Keynote lecture アドレノメデュリン-RAMP2、RAMP3システムの機能分化とがん転移の制御への展開 田中愛
5	2023年 3月10-12日	第87回日本循環器学会 Vascular homeostatic function of the AM-RAMP2 system and its application to the regulation of lymph node metastasis. Tanaka M. , Sakurai T, Kamiyoshi K, Ichikawa-Shindo Y, Kawate H, Kakihara S, Zhao Y, Matsuda Y, Zhang Y, Guo Q, Li P, Onishi N, Kasahara T, Shindo T.
6	2023年 2月10-11日	第52回日本心臓血管作動物質学会 アドレノメデュリン-RAMP2系による、高内皮細静脈を介したリンパ節転移の制御 田中愛 、桜井敬之、神吉昭子、市川優佳、河手久香、柿原伸次、Zhao Yunlu、松田順繁、Zhang Yan、Guo Qianqian、Li Peixuan、大西菜穂、笠原智貴、新藤隆行
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	投稿中	Homeostatic regulation of high endothelial venules and suppression of lymph node metastasis by the adrenomedullin-RAMP2 system Nat. Commun.
2		
3		
4		
5		
6		
7		