

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 27 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2015～2016

課題番号：15H05575

研究課題名(和文) ユビキチン化酵素Fbxw7が癌ニッチで果たす転移抑制メカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanisms for Fbxw7 to suppress cancer metastasis in cancer niches

研究代表者

弓本 佳苗 (Yumimoto, Kanae)

九州大学・生体防御医学研究所・特任助教

研究者番号：30596838

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,100,000円

研究成果の概要(和文)：癌転移のメカニズムは癌細胞自身の特性として研究されてきたが、近年、癌細胞を取り巻くニッチが癌転移に大きな影響を与えることが明らかになってきた。著名な癌抑制遺伝子Fbxw7もまた長らくの間、腫瘍細胞内での癌抑制因子としての観点から解析されてきた。しかし、Fbxw7は癌細胞だけでなくニッチを構成する骨髄由来細胞においても、癌転移を抑制する重要な因子であることが判明した。また、B型肝炎治療薬であるプロパゲルマニウムを様々ながん転移マウスモデルに投与し、薬が効く例と効かない例が存在することを発見した。

研究成果の概要(英文)：Although the mechanisms of cancer metastasis have been studied as a characteristic of cancer cells, it has become clear that cancer niches surrounding tumor cells have a great influence on metastasis in recent years. A prominent tumor suppressor gene Fbxw7 has also long been analyzed from the viewpoint of cancer suppressor in tumor cells. However, it was found that Fbxw7 is an important factor suppressing cancer metastasis not only in cancer cells but also in bone marrow derived cells constituting a cancer niche. In addition, we administered propagermanium, a therapeutic agent for hepatitis B, to various cancer metastasis mouse models. We discovered that propagermanium is effective in some cases.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：がん転移 がんニッチ

1. 研究開始当初の背景

(1) 癌ニッチ研究の重要性

癌転移は癌患者の最大の死因であり、転移の分子機構の解明は治療戦略に重要な知見をもたらす。近年、癌転移は癌細胞の遺伝的变化だけではなく、宿主環境との関係性が注目されるようになった。特に骨髄由来細胞が腫瘍の周りに集積してニッチを形成し、原発腫瘍の成長を促進するのみならず異なる臓器への転移拡散を促進すること、また転移先の臓器においても転移ニッチが形成され転移を促進することが明らかになってきた。

(2) Fbxw7 は著名な癌抑制遺伝子である

Fbxw7 は SCF 型ユビキチンリガーゼの構成因子であり、特異的に基質を認識するアダプタータンパク質である。Fbxw7 は、Myc、Notch、Cyclin E などの増殖促進因子を分解する。癌全体の約 6% で Fbxw7 に変異が見られ、複数の癌腫で癌部における Fbxw7 の発現量と予後に相関があることが示された。一方、マウスを用いた解析からも、胸腺等複数の臓器で Fbxw7 の欠損により癌が発症することが報告された。このように Fbxw7 は癌細胞において増殖因子を分解する著名な癌抑制因子であり、必然とその研究対象は癌細胞自体に限られていた。

(3) 新たな発見：骨髄細胞で Fbxw7 が低下した乳がん患者は予後不良となる

乳癌患者における骨髄の Fbxw7 mRNA 量と予後との相関を調べたところ、予期せぬことに末梢血の Fbxw7 mRNA が低い患者は予後不良となることを発見した。悪性度の高い ER-PgR-Her2- (トリプルネガティブ) の乳癌患者に限るとさらにその差は顕著になった。

2. 研究の目的

以上より、Fbxw7 はがん細胞のみならずがんニッチ細胞 (骨髄由来細胞) においてもがんの進行を抑制する機能があることが推測された。本課題では、癌患者の予後不良の最大の原因は転移であることから特にがん転移に焦点を絞り、がん転移マウスモデル系を用いて、骨髄由来細胞の Fbxw7 が転移巣において癌の生着を抑制する分子メカニズムを明らかにすることを目標とした。

3. 研究の方法

Fbxw7 のがんニッチ細胞 (骨髄由来細胞) における影響を調べるために、Mx1-Cre/Fbxw7^{F/F} マウスを作製して骨髄特異的に Fbxw7 を欠損させた。このマウスに様々な由来のがん細胞を移植することにより、実際にがん転移促進がみられるか、またそのメカニズムについて検証した。

4. 研究成果

(1) 骨髄特異的な Fbxw7 欠損マウスにお

けるがん転移促進効果の解析

まず初めに、われわれは B16F10 メラノーマ細胞を骨髄特異的 Fbxw7 欠損マウスに尾静脈より移植した。その結果、Fbxw7 欠損マウスにおいて、コントロールマウスと比較して肺へのメラノーマ細胞の転移が著明に亢進した。また、このマウスの生存曲線を描くと、コントロールマウスと比較して早期に死亡することが判明した。また、転移能が低いとされている B16F1 細胞でも同様の実験をおこなった結果、こちらも、Fbxw7 欠損マウスにおいて、コントロールマウスと比較して肺へのメラノーマ細胞の転移が著明に亢進した。

真に骨髄細胞ががん転移促進の原因かを探るため、Fbxw7 骨髄欠損マウスの骨髄を野生型マウスに移植して、90%以上の骨髄細胞が置き換わったことを確認したのちに、B16F10 メラノーマ細胞を移植した。その結果、骨髄移植マウスにおいてもがん転移の亢進が見られた。一方、Fbxw7 骨髄欠損マウスに野生型の骨髄を移植したマウスにおいては、肺転移の亢進は見られなかった。

次に、ルイス肺がん細胞 (LLC) を骨髄特異的 Fbxw7 欠損マウスに尾静脈より移植した。その結果、メラノーマ細胞と同様に肺転移の亢進が見られた。

また、E0771 乳がん細胞を骨髄特異的 Fbxw7 欠損マウスの乳腺脂肪体に移植し、肺への転移を観察した。その結果、骨髄特異的 Fbxw7 欠損マウスでは肺への転移数および転移腫瘍の大きさが亢進していることが分かった。

最後に、Pan02 膵がん細胞を骨髄特異的 Fbxw7 欠損マウスの膵臓及び脾臓に移植し、肝臓への転移を観察した。その結果、膵がん細胞はいずれの移植系においても肝転移の亢進は見られなかった。骨髄特異的 Fbxw7 欠損マウスにおいて、メラノーマ細胞 (B16F10, B16F1) は尾静脈より移植すると肺転移が亢進することは先ほど述べたが、同じ細胞を脾臓より移植しても肝転移は亢進しなかった。

以上より、種々のがん種において Fbxw7 の骨髄での欠損はがん細胞の肺転移を促進するが、肝転移は促進しないことが明らかとなった。

(2) 骨髄特異的な Fbxw7 欠損マウスにおけるがん転移促進効果メカニズムの解明

(1) より Fbxw7 の骨髄での欠損が肺転移を亢進させることが明らかになった。そこで、われわれは肺に形成されるがんニッチ細胞の解析をおこなった。がん細胞の周りには多数の骨髄由来細胞が集まり、がんニッチを形成していることが明らかとなった。その中でも、骨髄特異的 Fbxw7 欠損マウスにおいては、癌細胞の周囲に monocytic myeloid-derived suppressor cells (Mo-MDSCs) および tumor associated macrophages (TAMs) が

数多く集積していた。また、FACS による解析においては、骨髄細胞中のミエロイド前駆体細胞の割合には変動がなかったものの、血中の Mo-MDSCs や macrophages の割合が亢進していることがわかった。以上より、血液へ何らかの理由で Mo-MDSCs や macrophages のリクルートが亢進していることが示唆された。

Mo-MDSCs や macrophages の血中での増加の原因を調べるため、がん細胞移植時における血漿中のサイトカインの変動を調べた。その結果、がん細胞を移植した骨髄特異的 Fbxw7 欠損マウスでは、CCL2、CCL12、CXCL13、CXCL16、IFN- γ 、MMP-8、PAI-1、TREM-1 の上昇が見られ、AR、CXCL1、CXCL2、EGF、HB-EGF、IL-1ra、IL-1 α 、KGF、Leptin、OPN、PDGF-AA、PDGF-AB/PDGF-BB の減少が見られた。この中から、われわれは、Mo-MDSC や macrophage を骨髄より誘引するケモアトラクタントである CCL2 に注目した。

(3) CCL2 阻害剤であるプロパゲルマニウムのがん転移抑制効果の検証

プロパゲルマニウムは B 型肝炎の治療薬として 1994 年に認可された薬であり、CCL2 レセプターである CCR2 の阻害剤としての効果を持つことが示されている。(2)での発見から、CCL2-CCR2 を介した Mo-MDSCs や macrophages のリクルートが骨髄特異的 Fbxw7 欠損マウスの肺転移亢進の理由ではないかと考え、がん細胞移植マウスにプロパゲルマニウムの投与を試みた。その結果、B16F10 細胞の尾静脈移植系において、プロパゲルマニウムの投与が著明にがん転移を抑制することが明らかになった。また、E0771 乳がん細胞の同所性移植実験系では、がん細胞の転移先での増殖が著明に抑制された。一方で、がん細胞の肺への到達自身を阻害する効果は見られなかった。このとき、がんニッチ細胞中の Mo-MDSCs や macrophages の量が減少していることを確認した。

一方、Pan02 隣がん細胞や B16F10 メラノーマ細胞の脾臓への移植系においては、プロパゲルマニウムが肝転移を抑制する効果は見られなかった。これは、先に述べた骨髄特異的な Fbxw7 欠損マウスの解析結果と一致した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計3件)

Yumimoto, K., and Nakayama, K. I.
Fbxw7 suppresses cancer metastasis by inhibiting niche formation.
Oncoimmunology. 4 e1022308 (2015)
doi: 10.1080/2162402X.2015.1022308

【査読有】

Nishiyama M., Nita A., Yumimoto K., and Nakayama, K. I.
FBXL12-mediated degradation of ALDH3 is essential for trophoblast differentiation during placental development.
Stem Cells, 33(11), 3327-3340 (2015).
doi: 10.1002/stem.2088.

【査読有】

Watanabe, K., Yumimoto, K., and Nakayama, K. I.
FBXO21 mediates the ubiquitylation and proteasomal degradation of EID1.
Genes Cells, 20(8), 667-74. (2015)
doi: 10.1111/gtc.12260.

【査読有】

[学会発表](計6件)

弓本 佳苗, 中山 敬一、Keap1 の「弱い」ユビキチン化活性は迅速なストレス応答に重要である、2016.12.2、第39回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜(神奈川)【ポスター発表】

Shogo Nakayama, Kanae Yumimoto, Keiichi I. Nakayama, MyRF is a novel substrate for Fbxw7, 2016.12.1, The 39th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Pacifico Yokohama (Kanagawa)

弓本 佳苗、非がん細胞の Fbxw7 はがんニッチ形成を抑制する、2016.6.1、第20回日本がん分子標的治療学会学術集会、別府国際コンベンションセンター(大分)【招待講演】

弓本 佳苗、秋吉 清百合、上尾 裕紀、小野山 一郎、上尾 裕昭、大野 真司、森 正樹、三森 功士、中山 敬一：非がん細胞の Fbxw7 はがんニッチ形成を抑制する、2015.12.3、第38回日本分子生物学会年会・第88回日本生化学会大会合同大会、神戸ポートアイランド。(兵庫)【招待講演】

弓本 佳苗、ユビキチン化酵素 Fbxw7 のがんニッチにおける転移抑制メカニズムの解明、2015.9.9、がん支援シンポジウム、一橋講堂(東京)【招待講演】

Kanae Yumimoto, Sayuri Akiyoshi, Hiroki Ueo, Yasuaki Sagara, Ichiro

Onoyama, Hiroaki Ueo, Masaki Mori, Koshi Mimori, Keiichi I. Nakayama, Fbxw7 inhibits cancer metastasis in a non-cell-autonomous manner 、2015.7.24 、 The 10th International Symposium of the Institute Network "Towards the next generation research for cancer and Immunology"、Hokkaido University (Sapporo) 【ポスター発表・ポスター賞受賞】

〔図書〕(計2件)

弓本 佳苗, 中山 敬一、がん抑制因子のがんニッチ細胞における機能 がん分子標的治療 14(1): 82-86 (2016).

弓本 佳苗, 中山 敬一、ユビキチンリガーゼ Fbxw7 はがんニッチ形成を抑制する、実験医学 33(8): 1303-1306 (2015).

6. 研究組織

(1)研究代表者

弓本 佳苗 (YUMIMOTO, Kanae)
九州大学・生体防御医学研究所・特任助教

研究者番号：30596838

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

中山 敬一 (NAKAYAMA, Keiichi)
九州大学・生体防御医学研究所・教授

研究者番号：80291508

(4)研究協力者

なし