

令和 5 年 5 月 11 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09106

研究課題名(和文) 脂肪細胞による腫瘍形成促進機構の統合的解析

研究課題名(英文) integrated analysis of mechanisms promoting tumorigenesis by adipocyte

研究代表者

前田 真男 (Maeda, Masao)

藤田医科大学・医学部・講師

研究者番号：00769614

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、脂肪組織ががんの形成を促進する分子機構を解明する。同意が得られた卵巣がん患者の手術検体からヒト異種移植腫瘍(PDX)と脂肪組織由来幹細胞(ADSC)を樹立し、これらの細胞を混合培養して解析を行った。ADSC細胞を用いたサイトカインアレイにより脂肪細胞から分泌される因子をいくつか同定した。また、PDX細胞とADSC細胞の共培養系を用いて既存の薬剤スクリーニングを行い、脂肪腫瘍関連を標的とする既存薬剤の同定を試みた。脂肪細胞の分泌因子のひとつとして同定されたDPP4は卵巣がんを進展させる働きがあり、DPP4阻害剤には卵巣がんの進展を抑制させる薬剤としての可能性があると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、脂肪細胞がDPP4を介して卵巣がんを進展させることを明らかにし、脂肪細胞の腫瘍間質としての脂肪細胞の学術的意義をより強固なものにできたと考えられた。また、既存の薬剤であるDPP4阻害剤が脂肪細胞による卵巣がん進展を抑制する可能性を示せたことは社会的意義が大きいと考えられた。今後、腫瘍間質である脂肪細胞を標的とした新たながんの治療法開発につなげたいと考えている。

研究成果の概要(英文)：This study elucidated the one of the molecular mechanisms by which adipose tissue promotes cancer formation. Patient-derived tumor xenografts (PDXs) and adipose tissue-derived stem cells (ADSCs) were established from the adipose cell-rich peritoneal tissue collected from surgical specimens of ovarian cancer patients who were given consent. These PDX cells and ADSC cells were co-cultured and analyzed. Using the established ADSC cells, we performed cytokine array and identified several factors secreted by adipocytes. And we attempted to identify existing drugs that target adipose-tumor associations by screening existing drugs using a co-culture system of PDX and ADSC cells. In addition, DPP4 was identified as one of the secreted factors of omental ADSC cells, adipocytes were shown to promote cancer progression via DPP4, and DPP4 inhibitor's potential as a drug to inhibit the progression of ovarian cancer was demonstrated.

研究分野：生化学

キーワード：脂肪細胞 がん 腫瘍間質 卵巣がん

1. 研究開始当初の背景

(1) 腫瘍間質は、間葉系幹細胞、免疫細胞、血管内皮細胞、神経細胞、線維芽細胞など多彩な細胞からなり、それぞれが腫瘍形成に重要な働きをすると考えられている[1]。がんの発生と進展には、がん細胞と相互作用する腫瘍間質の働きが極めて重要と考えられており、腫瘍間質の一つである脂肪細胞もがんの進展に関わっていると推測される[2]。肥満が乳がんや膵臓がん、肝臓がんなどの各種のがんの発症危険リスクとなっていることから、がんの進展に脂肪細胞が重要な働きをしていると考えられる。

(2) 乳がんは乳腺脂肪組織の中で発生・進展することから、脂肪細胞は乳がん間質の重要な構成因子と考えられる。乳がん進展の過程では、がん細胞は乳腺脂肪組織に浸潤し、さらにスキルス型乳がんでは強い線維化を伴うなど、乳腺脂肪組織はがんの進展とも強く関連する。私たちは、乳がん手術検体を用いた解析を通じて、乳腺脂肪細胞による乳がんの増殖およびがん幹細胞性の亢進に関わる新たなアディポカインを同定して報告している[3]。

2. 研究の目的

- (1) 脂肪—腫瘍関連を標的とする薬剤の探究
- (2) 脂肪細胞から分泌されるアディポカインによるがん進展の分子機構の解析

3. 研究の方法

同意を得られた卵巣がん患者の手術検体から卵巣がん組織と大網を採取し、卵巣がん組織は免疫不全マウスに移植して卵巣がんヒト異種移植腫瘍 (PDX) を樹立。大網からは脂肪組織由来脂肪幹細胞 (ADSC) を樹立した。

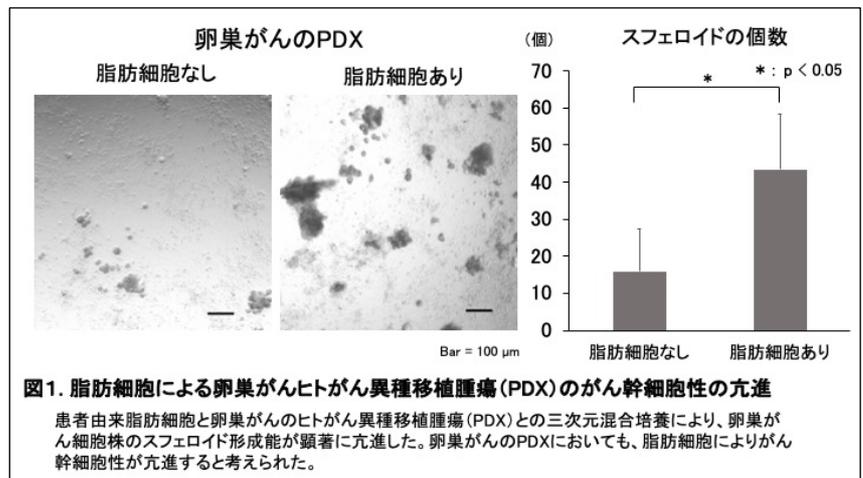
- (1) 卵巣がん細胞株と ADSC 細胞を混合培養し、既存の薬剤スクリーニングを行う。
- (2) 樹立した ADSC 細胞を用いてサイトカインアレイを行い、大網由来の脂肪細胞から分泌されるアディポカインを同定し、そのアディポカインの機能解析を行う。

4. 研究成果

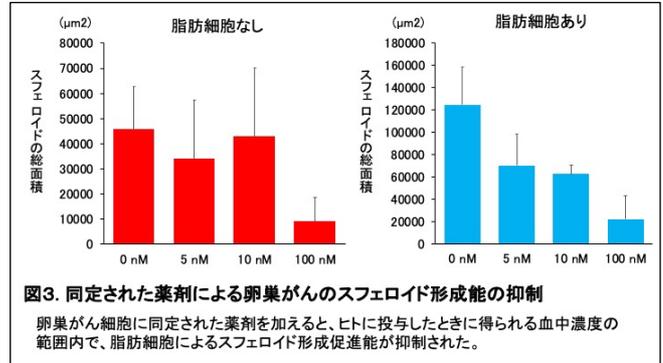
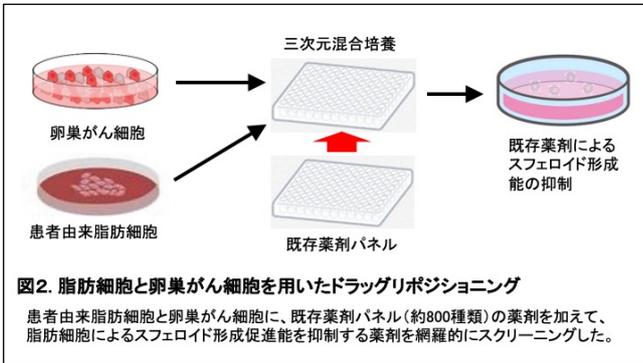
(1) 脂肪細胞による卵巣がんの進展を抑制する薬剤の同定

樹立した卵巣がん PDX 細胞は ADSC 細胞と混合培養するとスフェロイドの形成を促進し、卵巣がんのがん幹細胞性を増進することが確認できた (図 1)。

卵巣がん細胞株と ADSC 細胞の共培養系を使って、約 800 種類の既存薬剤パネルを用いた薬剤スクリーニングを行った (図 2)。

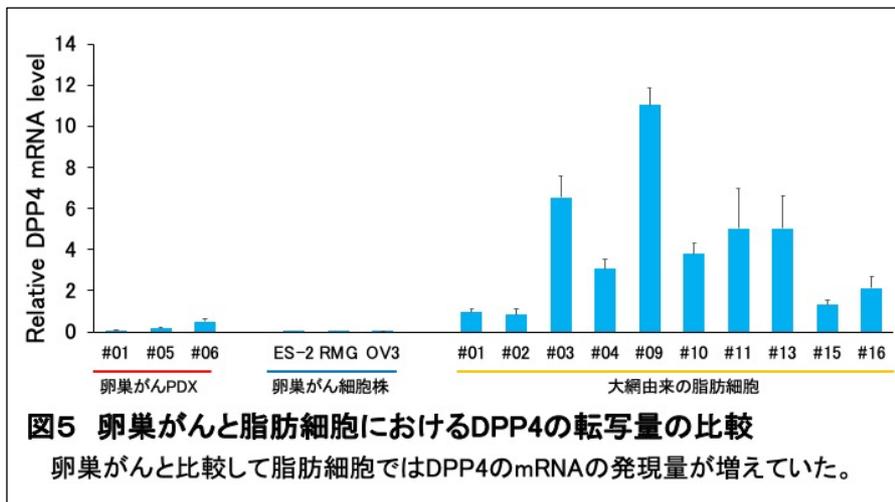
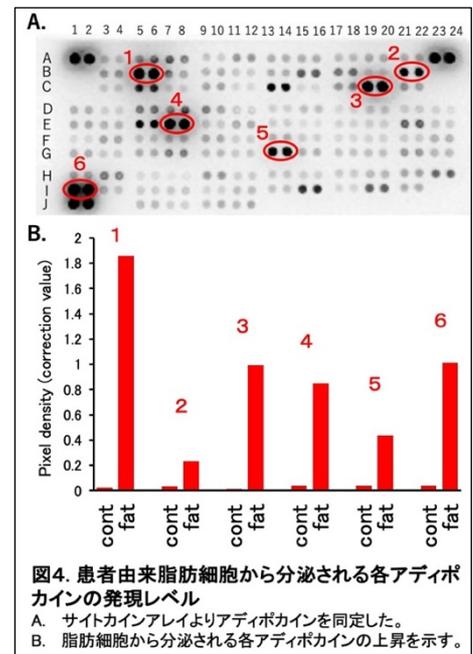


スクリーニングの結果同定された薬剤は、ADSC 細胞によるスフェロイド形成促進を抑制することが確認できた (図3)。



(2) 樹立した大網由来の ADSC 細胞を用いたアディポカインの同定

樹立した大網由来の ADSC 細胞を用いてサイトカインアレイを行ったところ、いくつかのアディポカインが同定された (図4)。このうちの 하나가 DPP4 (Dipeptidyl peptidase 4, CD26)であった。DPP4 は膜タンパク質で切断されて分泌型となるペプチターゼであり、タンパク質の N 末端から 2 番目のプロリンあるいはアラニンを切断してそのタンパク質の生物活性を失わせる [4,5]。DPP4 は GLP-1 (glucagon-like peptide) を分解・失活させることにより、膵臓のβ細胞からのインスリン分泌を減弱させ、糖尿病の発症に強く関わっている [6,7]。DPP4 の転写量は、卵巣がん細胞株や卵巣がん PDX 細胞よりも大網由来の脂肪細胞で上昇していることを確認した (図5)。



(3) 脂肪細胞から分泌される DPP4 による卵巣がん促進作用の解析

糖代謝に関わる DPP4 が脂肪細胞から分泌されて卵巣がんの進展に関わるかを確認するために、現在糖尿病治療薬として臨床で広く使用されている DPP4 阻害剤の vildagliptin を使用した。卵巣がん PDX 細胞と ADSC 細胞の共培養系に vildagliptin を加えてスフェロイド形成能への影響を観察した (図 6)。

さらにレンチウイルスベクターを用いて DPP4 の shRNA を導入し、DPP4 をノック

ダウンした脂肪細胞を樹立した (図 7A)。DPP4 をノックダウンした脂肪細胞と卵巣がん PDX 細胞を共培養したところ、DPP4 阻害剤を加えた時と同様に、卵巣がん PDX 細胞によるスフェロイド形成能の促進が抑制された (図 7B)。

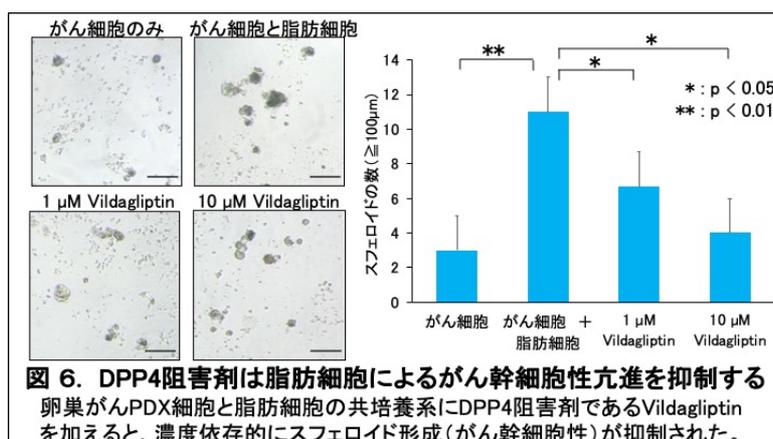


図 6. DPP4阻害剤は脂肪細胞によるがん幹細胞性亢進を抑制する
卵巣がんPDX細胞と脂肪細胞の共培養系にDPP4阻害剤であるVildagliptinを加えると、濃度依存的にスフェロイド形成(がん幹細胞性)が抑制された。

(4) 卵巣がん細胞株または卵巣がん PDX 細胞と ADSC 細胞のマウスへの共移植実験による DPP4 のがん促進作用の解析

卵巣がん細胞株 (ES-2) と ADSC 細胞をマウスへ共移植し DPP4 阻害剤を経口投与したところ、DPP4 阻害剤の投与により腫瘍の増大が抑制される傾向がみられた。また、卵巣がん PDX 細胞と ADSC 細胞をマウスへ共移植し DPP4 阻害剤を 1 ヶ月間経口投与したところ、DPP4 阻害剤の投与によりその後の腫瘍の増大が有意に抑制された。

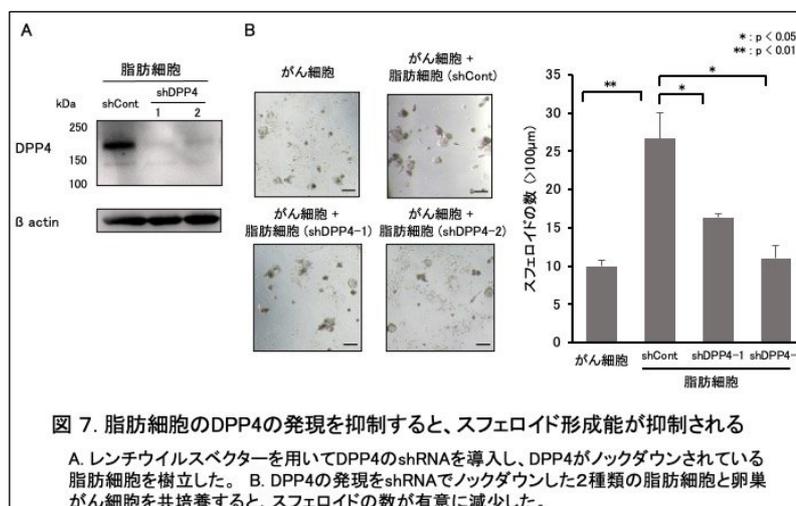


図 7. 脂肪細胞のDPP4の発現を抑制すると、スフェロイド形成能が抑制される

A. レンチウイルスベクターを用いてDPP4のshRNAを導入し、DPP4がノックダウンされている脂肪細胞を樹立した。B. DPP4の発現をshRNAでノックダウンした2種類の脂肪細胞と卵巣がん細胞を共培養すると、スフェロイドの数が有意に減少した。

以上により、樹立した卵巣がん PDX 細胞と ADSC 細胞の共培養系により、既存の薬剤のうちで卵巣がんの脂肪細胞によるがん促進作用を抑制する可能性のある薬剤を同定できた。また、脂肪細胞による卵巣がんのがん進展促進作用は、DPP4 が関与している可能性があると考えられ、DPP4 阻害剤が脂肪細胞による卵巣がんの進展を抑制する薬剤としての有用性が示唆された。

<引用文献>

1. Nguyen DX, Bos PD, Massague J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization. *Nat Rev Cancer*. 2009;9:274-84.
2. Joyce JA, Pollard JW. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nat Rev Cancer*. 2009;239-52.
3. Goto H, Shimono Y, Funakoshi Y, Imamura Y, Toyoda M, Minami H, et al. Adipose-derived stem cells enhance human breast cancer stem cells enhance human breast cancer growth and cancer stem cell-like properties through adiponectin. *Oncogene*. 2019; 38: 767-779.
4. Lambeir AM, Durinx C, Scharpe S, De Meester I. Dipeptidyl-peptidase IV from bench to bedside: an update on structural properties, functions, and clinical aspects of the enzyme DPP IV. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2003; 40: 209-294.
5. Bae EJ. DPP-4 inhibitors in diabetic complications: role of DPP-4 beyond glucose control. *Arch Pharm Res*. 2016; 39: 1114-1128.
6. Deacon CF, Johnsen AH, Holst JJ. Degradation of glucagon-like peptide-1 by human plasma in vitro yields an N-terminally truncated peptide that is a major endogenous metabolite in vivo. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995; 80: 952-957.
7. Knudsen LB, Pridal L. Glucagon-like peptide-1-(9-36) amide is a major metabolite of glucagon-like peptide-1-(7-36) amide after in vivo administration to dogs, and it acts as an antagonist on the pancreatic receptor. *Eur J Pharmacol*. 1996; 318: 429-435.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 矢野愛佳、前田真男、西尾永司、田草川菜里、林孝典、鈴木元、浅井直也、藤井多久磨、佐谷秀行、下野洋平
2. 発表標題 脂肪細胞はMCP1を介して卵巣がんのがん幹細胞性を促進する
3. 学会等名 第80回 日本癌学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田草川菜里、前田真男、矢野愛佳、西尾永司、林孝典、岡田誠治、鈴木元、浅井直也、藤井多久磨、佐谷秀行、下野洋平
2. 発表標題 脂肪細胞はDPP4を分泌して卵巣がんのがん幹細胞性を促進する
3. 学会等名 第80回 日本癌学会総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	下野 洋平 (Shimono Yohei) (90594630)	藤田医科大学・医学部・教授 (33916)	
研究分担者	林 孝典 (Hayashi Takanori) (40724315)	藤田医科大学・医学部・講師 (33916)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------