

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22550

研究課題名(和文) 腫瘍-宿主間コミュニケーションを制御する宿主因子の網羅的同定と機能解析

研究課題名(英文) Identify host factors that control tumor-host interactions in Drosophila

研究代表者

中嶋 悠一郎 (Nakajima, Yuichiro)

東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・講師

研究者番号：90782152

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：がんは患者を死にいたらしめる重篤症状であり、その進展には腫瘍細胞と宿主の非腫瘍細胞間での相互作用が重要である。本研究では、応募者がショウジョウバエ腫瘍移植モデルを用いて見出した「腫瘍と宿主細胞・臓器間の相互作用」に注目して、宿主個体の局所および全身性応答を制御する分子メカニズムを体系的に明らかにするものである。宿主生体内での非腫瘍組織や細胞での遺伝子発現変化を網羅的に解析することで腫瘍の進展に関与する宿主側因子を見出す。さらに宿主因子が作用する組織や細胞での遺伝子操作を行い、機能解析を行う。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、応募者がショウジョウバエモデルを用いて独自に見出した、腫瘍の進展に関与するがん微小環境と全身性応答およびそれらのネットワークを分子レベルで体系的に明らかにするものである。宿主個体における腸管組織や脳組織のRNA-seq解析を行うことで、腫瘍-宿主間相互作用の分子実体の候補を明らかにすることができた。さらに、宿主の組織特異的な遺伝学的操作によって、腫瘍の進展や転移を抑制する表現型を確認することができ、宿主個体の操作による腫瘍制御に対して示唆を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：Cancer is a serious condition that can kill patients, and interactions between tumor cells and host non-tumor cells are critical for its progression. This study focuses on the "interactions between tumor and host cells/organs," which the applicant discovered using a Drosophila tumor transplantation model, to systematically elucidate the molecular mechanisms that regulate local and systemic responses. By comprehensively analyzing gene expression changes in non-tumor tissues and cells in the host organism, we will identify host factors involved in tumor progression. Furthermore, we will conduct functional analysis by performing gene manipulation in tissues and cells where the host factors act.

研究分野：発生遺伝学、細胞生物学、発生生物学

キーワード：腫瘍 転移 微小環境 全身性応答 同種移植 ショウジョウバエ オームクス RNA-seq

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

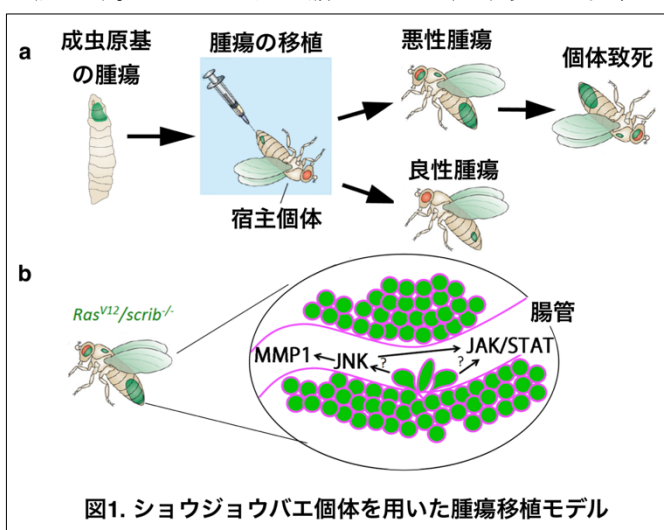
がんの進展には腫瘍細胞への変異の蓄積だけでなく、腫瘍と宿主の非腫瘍組織や細胞間での微小環境の形成に加え、腫瘍が分泌する因子によって全身の様々な臓器が腫瘍の進展に適した環境となる全身性応答の重要性が示唆されている。全身性応答には免疫系の不活化や脂肪・筋肉組織の退縮を伴う悪液質様の表現型がある。また、宿主における末梢臓器の代謝状態の変化は腫瘍増殖を促進することで、非自律的ながんの進展を促すことが示唆されている。しかしながら、腫瘍側由来の因子の理解に比して、宿主における局所および全身性応答を引き起こす宿主側の因子は何か、また全身性応答が微小環境の制御にどのように影響するのかという問題の多くは未解明である。

2. 研究の目的

本研究では生体内で腫瘍の進展に関わる腫瘍-宿主間コミュニケーションを制御する分子メカニズムを、宿主側の因子に注目して体系的に明らかにすることを目的とする。申請者がショウジョウバエ腫瘍の移植モデルを用いて見出した「腫瘍と宿主細胞・臓器間の相互作用」に注目して、宿主個体の局所および全身性応答を制御する宿主因子を同定する。宿主生体内の非腫瘍細胞や組織の遺伝子発現をトランスクリプトーム解析し、全身性応答に関与する宿主側の因子を見出す。さらに局所および全身性応答に関与する因子について、それらが作用する責任組織や細胞での遺伝子操作を行い、機能解析を行う。一連の解析により、宿主因子を起点とした生体内での腫瘍と非腫瘍間コミュニケーションを制御する分子基盤の解明を目指す。

3. 研究の方法

ショウジョウバエにおいて、腫瘍組織の成虫個体への移植は腫瘍の悪性度を検定する古典的な実験手法の1つであり、悪性腫瘍がヒトに引き起こす症状の多くが観察され、最終的に個体は死に至る。移植された悪性腫瘍 ($Ras^{V12}/scrib^{-/-}$) は宿主腸管の周囲で増殖し、腸管内へ一部が浸潤する表現型を示した (図 1a)。一方、宿主腸管においてはストレスや炎症応答に関与するシグナル経路の活性が亢進し、宿主の血球細胞の付着が観察され、腫瘍と微小環境を形成していることが示唆された (図 1b)。さらに悪性腫瘍は全身の代謝状態の変化やオートファジーの誘導を伴うことから全身性応答の存在が示唆された。この系を用いて、1) 局所および全身性応答を誘導する宿主由来因子の網羅的解析を行う。宿主の腸管や血球細胞での遺伝子発現変化や体液中のタンパク質・代謝産物をオーミクス解析することで局所および全身性応答に関与する宿主側因子を見出す。また、2) 腫瘍-宿主間相互作用を制御する宿主側因子の同定と遺伝学的な機能解析を行う。オーミクス解析から得られた候補因子に対して、宿主の組織や細胞特異的に遺伝子操作することで、微小環境の形成や腫瘍の進展、さらに宿主の病態 (致死率) への影響までを明らかにする。



4. 研究成果

1) $Ras^{V12}scrib^{-/-}$ 腫瘍は宿主腸管におけるストレス応答経路と分泌因子の発現を上昇させる: これまでの結果から、腫瘍-宿主間相互作用において、宿主組織でのストレス応答経路の活性化が関与していることが示された。そこで、腫瘍-宿主間相互作用の分子実体の解明を目指し、宿主腸管を用いた RNA-seq によるゲノムワイドな遺伝子発現解析を試みた。腫瘍移植個体およびコントロール個体の RNA サンプルを用いて RNA-seq 解析を行ったところ、これまでの観察結果と一致して、JNK シグナル、JAK/STAT シグナル、酸化ストレス応答など各ストレス応答経路に関わる因子の発現量が、 $Ras^{V12}scrib^{-/-}$ 腫瘍移植個体の腸管において有意に上昇していることが確認された (図 2a)。さらに、コントロールと比較して発現量が上昇した遺伝子群において、様々な分泌因子 (例: *scaf*, *Jhl-21*, *Strn-Mlck*) が確認された (図 2b)。また、GO 解析を行ったところ、これら分泌因子の機能としてはタンパク質分解 (例: *scaf*, *ckd*, *CG1299*)、触媒活性 (例: *CG18557*, *CG13318*, *Strn-Mlck*)、防御反応 (例: *Jhl-21*,

Def, *vir-1*)、ストレス応答 (例: *phr*, *Msh6*, *XRCC1*) などが確認された (図 2b)。これらバイオインフォマティクス解析の結果から、過増殖した *Ras^{V12}scrib^{-/-}* 腫瘍が宿主腸管における種々の分泌因子の発現を上昇させることで、宿主との相互作用を行っている可能性が示唆された。

2) 宿主腸管におけるストレス応答経路は腫瘍の進展に対して防御的役割を持つ

腫瘍による非自律的なストレス応答の惹起は腫瘍の悪性化に寄与するのだろうか? ショウジョウバエにおいて、JNK シグナルを活性化する因子の1つである腫瘍壊死因子 *eiger* (*egr*) に着目し、全身で発現するドライバー (*act-Gal4*) あるいは腸管特異的なドライバー (*NPI-Gal4*) 系統と RNAi 発現系統 (*UAS-egr^{RN4i}*) を組み合わせて、JNK シグナルが阻害された個体を作製し、*Ras^{V12}scrib^{-/-}* 腫瘍の移植実験を行った。腸管での JNK シグナル阻害は、全身で同じ遺伝学的操作を行った場合と同程度に *Ras^{V12}scrib^{-/-}* 腫瘍の悪性化を亢進させることが確認され、宿主腸管での JNK シグナルの活性化が悪性腫瘍に対して防御的役割を持つことが示唆された (図 3a,b)。同様に、宿主側で JAK/STAT シグナルを阻害した場合の *Ras^{V12}scrib^{-/-}* 腫瘍の動態変化を検出する実験系を構築した。ショウジョウバエにおける JAK/STAT シグナルは、3種類のヒト様炎症性サイトカイン (*Upd1*, *Upd2*, *Upd3*) がその受容体と結合することで活性化される。そこで、全身あるいは宿主腸管特異的にこれらサイトカインをそれぞれノックダウンし、非自律的な JAK/STAT シグナルが阻害された個体を作製した。これら作製した個体への *Ras^{V12}scrib^{-/-}* 腫瘍移植実験を行ったところ、*upd1* あるいは *upd3* を宿主腸管特異的にノックダウンした場合において、*Ras^{V12}scrib^{-/-}* 腫瘍移植片の悪性化が亢進されるという、前述の JNK シグナルの解析と同様の観察結果が得られた (図 3b)。これらの結果によって、宿主腸管における非自律的な JAK/STAT シグナルの活性化は、JNK シグナルと同様に、腫瘍に対する生体防御反応であることが示された。

興味深いことに、*upd3* を全身でノックダウンした場合、*Ras^{V12}scrib^{-/-}* 腫瘍移植片の動態変化は観察されなかったにもかかわらず、*upd3* を宿主腸管特異的にノックダウンした個体では、*Ras^{V12}scrib^{-/-}* 腫瘍移植片の悪性化が亢進されるという、*upd1* の結果とは一貫しない観察結果が得られた (図 3b)。このような *Ras^{V12}scrib^{-/-}* 腫瘍移植片の動態変化の差が生まれる原因の可能性として、宿主腸管で発現する抗腫瘍性 *Upd3* に拮抗する役割を持った *Upd3* が他の宿主組織から分泌されていることが考えられる。そこで、過増殖した *Ras^{V12}scrib^{-/-}* 腫瘍がショウジョウバエ血球細胞である宿主ヘモサイトを誘引し、*Upd3* の分泌を促すことで、がん微小環境を形成しているのではないかと仮説を立て、ヘモサイト特異的に *upd3* をノックダウンした個体への *Ras^{V12}scrib^{-/-}* 腫瘍移植を行うことでその検証を行った。その結果、移植後 10 日目の *Ras^{V12}scrib^{-/-}* 腫瘍移植片は過増殖しておらず、さらにその体積は前述のオートファジー経路ノックダウン系統における移植腫瘍のサイズと同等であることが確認された (図 3a, b)。これらの結果によって、宿主腸管における非自律的な JAK/STAT シグナルの活性化は、JNK シグナルと同様に、腫瘍に対する生体防御反応であることが示された。また一方で、過増殖した *Ras^{V12}scrib^{-/-}* 腫瘍は、接着した宿主ヘモサイトからの *Upd3* の分泌を促して、がん微小環境を形成していることが示唆された。

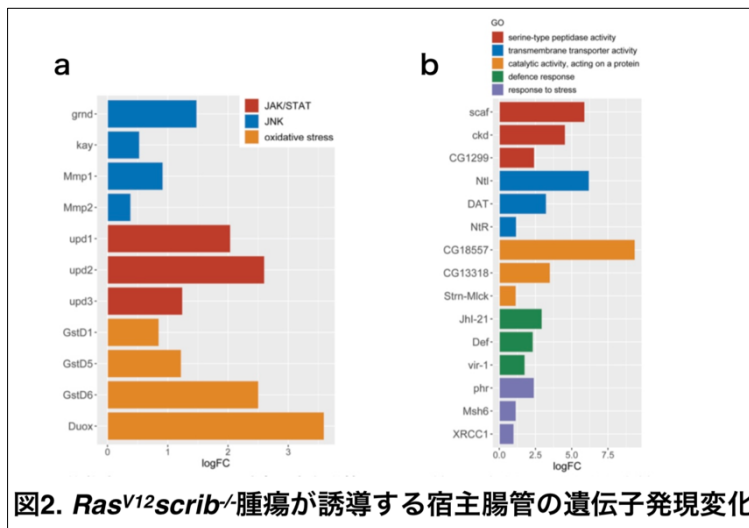


図2. *Ras^{V12}scrib^{-/-}* 腫瘍が誘導する宿主腸管の遺伝子発現変化

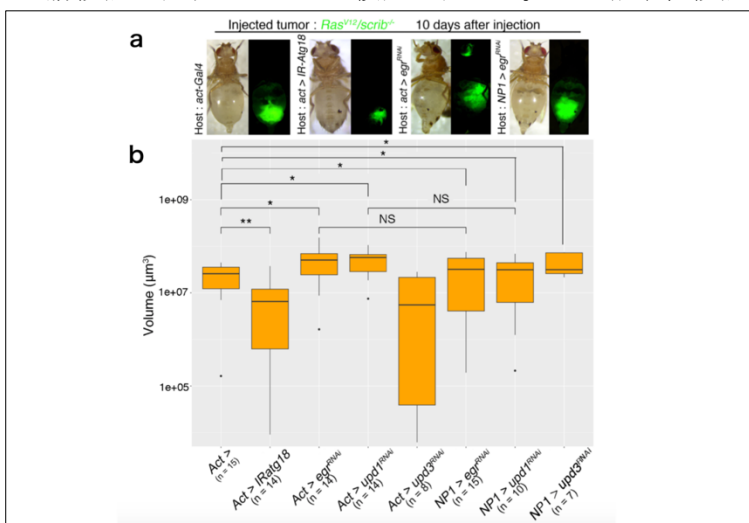


図3. 宿主腸管におけるストレス応答は腫瘍進展に対する防御的役割を持つ

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nagai Hiroki, Miura Masayuki, Nakajima Yu-ichiro	4. 巻 16
2. 論文標題 Cellular mechanisms underlying adult tissue plasticity in <i>Drosophila</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Fly	6. 最初と最後の頁 190 ~ 206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/19336934.2022.2066952	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fujita Sosuke, Kuranaga Erina, Nakajima Yu-ichiro	4. 巻 12
2. 論文標題 Regeneration Potential of Jellyfish: Cellular Mechanisms and Molecular Insights	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes	6. 最初と最後の頁 758 ~ 758
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/genes12050758	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakajima Yu-ichiro	4. 巻 136
2. 論文標題 Scrib module proteins: Control of epithelial architecture and planar spindle orientation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The International Journal of Biochemistry & Cell Biology	6. 最初と最後の頁 106001 ~ 106001
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biocel.2021.106001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakajima Yu-ichiro	4. 巻 -
2. 論文標題 Analysis of Epithelial Architecture and Planar Spindle Orientation in the Drosophila Wing Disc	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/7651_2020_340	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Yoichi Kawai, Erina Kuranaga, Yu-ichiro Nakajima
2. 発表標題 Adult neurogenesis associated with brain metastasis in <i>Drosophila</i>
3. 学会等名 第14回日本ショウジョウバエ研究集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中嶋悠一朗
2. 発表標題 Pins suppresses abnormal cell-fate reprogramming during wing regeneration in <i>Drosophila</i> .
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中嶋悠一朗
2. 発表標題 Toward understanding mechanisms of tissue homeostasis and environmental responses
3. 学会等名 Seminar at Amherst College, USA（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中嶋悠一朗
2. 発表標題 ショウジョウバエを用いた組織恒常性と病態における細胞運命ダイナミクスの理解
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中嶋 悠一郎
2. 発表標題 ショウジョウバエ個体を用いたがんモデルによる腫瘍-宿主間相互作用の理解
3. 学会等名 新学術(シンギュラリティ×細胞ダイバース)合同ワークショップ(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 河井 陽一, 中嶋悠一郎
2. 発表標題 ショウジョウバエ個体における腫瘍-宿主間相互作用を介したがん転移メカニズムの解析
3. 学会等名 新学術領域「細胞ダイバース」第3回若手ワークショップ
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中嶋 悠一郎
2. 発表標題 Dissecting mechanisms of tumor growth and metastasis during tumor-host interactions in Drosophila
3. 学会等名 The 9th EMT International Association Meeting-Early Career Researcher Symposium(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長谷川景太, 河井陽一, 倉永英里奈, 中嶋 悠一郎
2. 発表標題 Dissecting mechanisms of tumor growth and metastasis during tumor-host interactions in Drosophila
3. 学会等名 The 9th EMT International Association Meeting(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河井陽一, 長谷川景太, 倉永英里奈, 中嶋 悠一朗
2. 発表標題 Tumor growth and metastasis through tumor-host interactions in Drosophila
3. 学会等名 Tohoku University Thematic Forum for Creativity "Cancer - from Biology to Acceptance - (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中嶋 悠一朗
2. 発表標題 Non-autonomous stress responses during tumor-host interactions in Drosophila
3. 学会等名 Tohoku University Thematic Forum for Creativity "Cancer - from Biology to Acceptance - (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中嶋 悠一朗, 富士田壮佑, 高嶋春奈, 倉永英里奈
2. 発表標題 Temperature shift controls life cycle and morphological changes in hydrozoan jellyfish Cladonema pacificum
3. 学会等名 At the roots of bilaterian complexity: insights from early emerging metazoans (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中嶋悠一朗
2. 発表標題 組織恒常性・病態・環境応答を 細胞の振る舞いから理解する Understanding cellular logic of tissue homeosta
3. 学会等名 第9回FRIS Hub Meeting
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中嶋 悠一郎
2. 発表標題 Tissue homeostasis, diseases and environmental responses
3. 学会等名 第 4 回 FRIS 若手研究者学際融合領域研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中芳音, 倉永英里奈, 中嶋 悠一郎
2. 発表標題 ショウジョウバエ中腸における加齢によるカスパーゼ活性化と組織恒常性への影響
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中嶋 悠一郎
2. 発表標題 Cell Fate Control during Epithelial Homeostasis, Diseases and Environmental Responses
3. 学会等名 THE 4th MORPHOMEOSTASIS MEETING (招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

中嶋悠一郎 助教 『Methods in Molecular Biology』 に論文掲載
<https://www.fris.tohoku.ac.jp/feature/topics/detail---id-861.html>

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------