

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21743

研究課題名（和文）脂肪細胞を起点にした癌細胞微小環境ネットワークの探索

研究課題名（英文）Exploration of cancer cell microenvironment network focusing on the adipocytes

研究代表者

大和田 祐二（OWADA, Yuji）

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：20292211

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：栄養のアンバランス、とりわけ偏った脂質摂取は、糖尿病、高血圧などの生活習慣病と密接に関連するのは明らかであるが、中でも肥満は、乳癌などの発癌リスクや癌の予後を左右する要因とされているが、その関与メカニズムについては不明な点が多い。本研究では、腫瘍内および腫瘍周囲の脂質微小環境が増殖や浸潤に及ぼす影響について検討した。その結果、メラノーマをはじめとする腫瘍自身あるいは周囲の免疫細胞の活性化状態などが、脂質環境によって劇的に変化することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により腫瘍周囲の脂質微小環境が腫瘍の進展に関与する可能性が示された。組織内で癌細胞の周囲を取り巻いている脂肪細胞や各種免疫系細胞が、癌の増殖や浸潤に果たす役割を更に検証することで、脂質摂取や脂肪細胞のリポクオリティコントロールの観点から種々の癌の生物学的特性制御の実現に道を拓く可能性を秘めている。

研究成果の概要（英文）：It has been shown that nutritional imbalance, especially unbalanced lipid intake, is closely related to lifestyle-related diseases such as diabetes and hypertension. Obesity, in particular, is considered a factor that influences the risk of carcinogenesis such as breast cancer and the prognosis of cancer, but the mechanisms involved are still unclear. In this study, we investigated the effects of the lipid microenvironment within and around tumors on proliferation and invasion. As a result, it became clear that the lipid environment dramatically changes the activation status of immune cells around tumors including melanoma, and eventually influence the tumor progression.

研究分野：栄養科学、腫瘍生物学

キーワード：メラノーマ 脂肪酸 脂肪酸結合タンパク質 リンパ球

### 1. 研究開始当初の背景

メタボリック症候群をはじめとする生活習慣病の一因である脂質過剰摂取が、癌をはじめとする様々な疾患に作用することは知られていたが、そのメカニズムは不明であった。また癌細胞の近傍に存在し、ほぼ全ての癌が増殖・浸潤する際に、組織内でほぼ確実に接触する脂肪細胞は、単なるエネルギー貯蔵細胞ではなく、癌細胞や癌微小環境を構成する免疫細胞等と機能的なネットワークを形成し、癌の生物学的特性を左右する可能性について示されていたが、脂肪細胞によって影響を受ける脂質環境変化の詳細や、腫瘍増殖に及ぼす関与の詳細については、ほとんど知られてなかった。

### 2. 研究の目的

本研究では、質・量ともに変化する癌細胞および微小環境構成細胞の制御メカニズム解析を通して、腫瘍および微小環境構成細胞の脂質代謝変化がメラノーマをはじめとする腫瘍の生物学的特性に与える影響を検証することを目的とした。

### 3. 研究の方法

高脂肪食で給餌したマウス、あるいは脳に発現する脂質代謝に関連する遺伝子欠損マウス(3種の脂肪酸結合タンパク質 FABPKO マウス)に対する担癌モデルマウスおよび分離した各種免疫系細胞など培養系を使って、主に以下 ~ などについて検討を行った。

#### (1) 高純度細胞分離と培養系の樹立・解析

コントロール、高カロリーおよび脂質調整マウスから、セルソーターを用いて脂肪細胞を分離後、質量分析計により脂質成分を、DNA アレイにより遺伝子発現を解析し、脂質栄養により脂肪細胞のリポクオリティや遺伝子発現がいかなる修飾を受けるかを、まず明確にする。

次に、移植後1か月の担癌マウスから採取した癌組織からセルソーターを用いて、脂肪細胞(サイズと内部構造の複雑さ使用)、癌細胞(抗体:HMW-MAA, CD146)、免疫系細胞(リンパ球:CD3、マクロファージ:CD11b)を分離し、ハイブリッド培養系(脂肪細胞がん細胞、脂肪細胞 免疫系細胞)を行う。培養系は、1)細胞同士が直接接着するシングルチャンバー系(放射線標識脂質の移行を評価)、2)細胞同士が直接接触しないダブルチャンバー系(液性因子の関与を評価)を樹立し、癌細胞増殖や免疫細胞活性化の変化を評価する。

#### (2) 腫瘍微小環境構成細胞の細胞内機能変化の解析

分離した細胞を用いて網羅的遺伝子発現解析をDNAアレイにより検討する。さらに細胞から脂質を抽出したのち、質量分析計による構成脂肪酸の分析を行う。細胞のシグナル伝達タンパク質および遺伝子の発現をWestern blot およびqPCR法により検討する。標的遺伝子プロモーターのエピゲノム解析は、ヒストンアセチル化およびメチル化抗体(H3K27Ac, H3K27me3等)によって定量的な解析を行う。

#### (3) 遺伝子改変マウスを用いた腫瘍移植実験

培養系で絞り込んだ候補分子(遺伝子、脂質)について *in vivo* での検証を行う。3種のFABPKOマウスおよびFABPa2(fabp4)-Creマウスにflox-候補遺伝子を載せたアデノ随伴ウイルスベクターを注入することで、白色脂肪細胞特異的に候補遺伝子を発現あ

るいはロックダウンさせたマウスを実験に用いる。通常食および高脂肪食給餌後に腫瘍細胞を移植し、浸潤や転移能を評価するとともに、腫瘍細胞、免疫細胞の病理形態や機能動態を解析する。

#### 4. 研究成果

以下、主な研究成果を示す。

##### (1) FABP7はWntシグナル制御を介してメラノーマ増殖を制御する

腫瘍細胞の脂質代謝と増殖の関連性について着目されていますが、未だその制御メカニズムについては不明であった。本研究では、皮膚の悪性腫瘍であるメラノーマ細胞において、脂肪酸と結合した脂肪酸結合タンパク質 (FABP7) が、Wntシグナルの下流でβ-cateninのタンパク質分解を抑制することで、細胞の増殖を制御していることを明らかにした (図1参照; Pharm Res 2021)。さらに FABP7 と脂肪酸の結合を阻害する薬剤 MF6 によって、メラノーマ細胞の増殖が抑えられることを見出した。本研究により、脂肪酸の細胞内代謝をターゲットとした腫瘍の増殖や転移のメカニズム解明や抗腫瘍薬の開発が進むことが期待される。

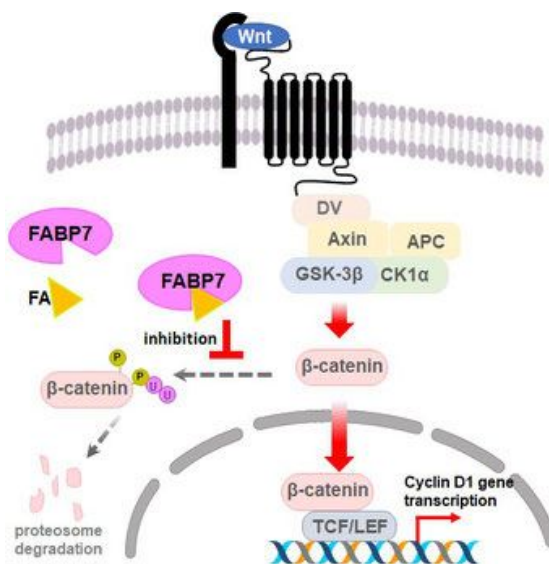


図1 FABP7によるWntシグナル制御

##### (2) 形質細胞様樹状細胞のFABP5による制御性T細胞を介した癌細胞増殖制御

腫瘍細胞周囲に集積する形質細胞様樹状細胞 (pDC) が、癌の増殖や転移に関するメカニズムについては不明である。本研究では、脂肪酸結合タンパク質5型 (FABP5) が癌の周囲 (癌微小環境) に集積する pDC において、pDCの脂質代謝が変化することにより、制御性T細胞 (Treg) の活性化を変化し、癌免疫応答に関与していることを明らかにした (図2参照; Int J Cancer 2021)。本研究により、免疫系細胞の脂質代謝制御に着目した新たな癌制御メカニズムの解明と治療法の創出につながることを期待される。

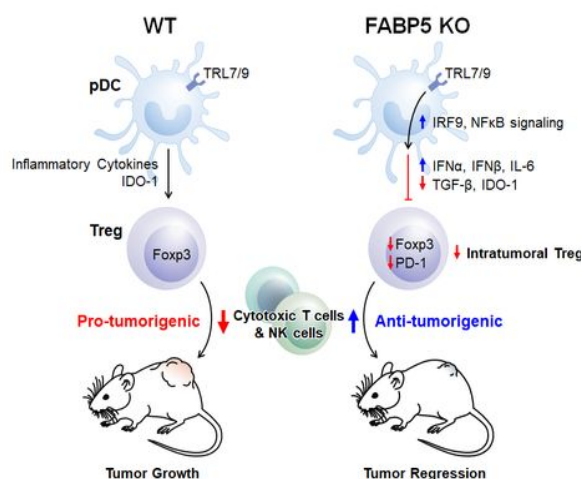


図2 pDCのFABP5によるTregを介した腫瘍細胞増殖制御

##### (3) FABP5はNK細胞の成熟を制御し腫瘍転移に関連する

腫瘍組織に集積する様々な免疫系細胞の活性が、腫瘍の増殖や転移と深く関連することが知られていますが、免疫系細胞の脂質代謝変化が腫瘍の進展に対してどのようなメカニズムで影響を与えるかについて詳細は不明である。本研究では、FABP5の欠損マウスでは、肺へのメラノーマ細胞の転移が起こりやすいこと、さらにその原因として、FABP5の欠損により腫瘍組織に集積するNK細胞の成熟が障害されていることを明らかにした（図3参照; FEBS Lett 2021）。

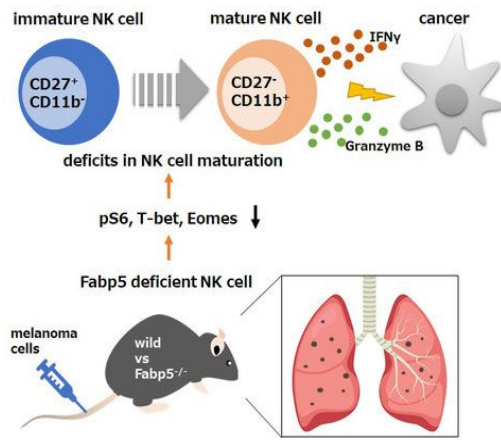


図3 NK細胞のFABP5によるメラノーマ転移への関与

本研究成果により、腫瘍の微小環境を形成する様々な免疫系細胞における脂質代謝の意義、ひいては肥満や飢餓状態と腫瘍との関連性について研究が展開することが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Umaru BA, Kagawa Y, Shil SK, Arakawa N, Pan Y, Miyazaki H, Kobayashi S, Yan S, Cheng A, Wang Y, Shinoda Y, Kiniwa Y, Okuyama R, Fukunaga K, Owada Y.	4. 巻 38
2. 論文標題 Ligand bound fatty acid binding protein 7 (FABP7) drives melanoma cell proliferation via modulation of Wnt/ -catenin signaling.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharm Res	6. 最初と最後の頁 479-490
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11095-021-03009-9.	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 Kagawa Y, Umaru BA, Shima H, Ito R, Zama R, Islam A, Kanno S, Yasui A, Sato S, Jozaki K, Shil SK, Miyazaki H, Kobayashi S, Yamamoto Y, Kogo H, Shimamoto-Mitsuyama C, Sugawara A, Sugino N, Kanamori M, Tominaga T, Yoshikawa T, Fukunaga K, Igarashi K, Owada Y.	4. 巻 57
2. 論文標題 FABP7 regulates acetyl-CoA metabolism through the interaction with ACLY in the nucleus of astrocytes.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol Neurobiol	6. 最初と最後の頁 4891-4910
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12035-020-02057-3	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Banlanjo Abdulaziz Umaru, Yoshiteru Kagawa, Yuji Owada
2. 発表標題 Fatty Acid Binding Protein 7 (FABP7) / oleic acid mediated epigenetic regulation drives glioma cell proliferation
3. 学会等名 第126回日本解剖学会全国学術集会・第98回日本生理学会大会合同大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 香川 慶輝, Banlanjo Abdulaziz Umaru, 大和田 祐二
2. 発表標題 FABP7はIDH1野生型グリオーマの増殖に関与する
3. 学会等名 第126回日本解剖学会全国学術集会・第98回日本生理学会大会合同大会
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	宮崎 啓史  (Miyazaki Hirofumi)  (90803867)	東北大学・医学系研究科・助教   (11301)	

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