

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：32620

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20837

研究課題名（和文）乳癌関連線維芽細胞の癌促進的な亜集団を誘導する新規転写因子の探索

研究課題名（英文）Exploration of transcription factors that induce tumor-promoting subsets of breast carcinoma-associated fibroblasts

研究代表者

目澤 義弘（Mezawa, Yoshihiro）

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：50966538

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：癌微小環境に存在する癌関連線維芽細胞(CAF)は、腫瘍の線維化や炎症を促進して癌の悪性化や抗腫瘍免疫を調節する。本研究では乳癌における癌促進的な亜集団の性質を司る転写因子を同定することを目的とし、CAF細胞株のトランスクリプトーム解析、エピゲノム解析、および公共データベース解析を統合的に活用した。様々な転写因子のCAF亜集団における発現上昇や活性化状態を解析することに成功し、CAFの機能制御に基づいた新規治療法開発のための基礎的な知見を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CAFは癌細胞の増殖、浸潤・転移、治療抵抗性、血管新生、腫瘍免疫抑制などを通じて癌促進的な機能が多く知られている。一方、癌抑制的な機能も報告されており、CAFの亜集団の特性の理解がCAFの機能制御に基づいた治療の実現には必須と考えられるが、創薬応用には十分な知見が集積していない。本研究では、細胞の性質を規定する最も重要な要素である転写因子に着目し、乳癌CAFの不均一性をmRNAレベルで解析し、亜集団形成に關与することが示唆される転写因子を複数見出した。これらの知見はCAF亜集団を制御し、治療効果を増加させる手法の開発に向けて重要な意義を持つ。

研究成果の概要（英文）：In the tumor-microenvironment, carcinoma-associated fibroblasts (CAFs) promote regulating the malignancy and antitumor immunity through promoting desmoplastic reaction and tumor inflammation. This study aimed to identify transcription factors governing the properties of cancer-promoting subpopulations in breast cancer. Transcriptome analysis, epigenome analysis of CAF cell lines, and meta-analysis of public transcriptome data of human breast cancers were conducted. As the results, we reveal various transcription factors that expression and activity were increased in CAF subpopulations. The present study provides fundamental information for developing CAF-targeted therapy.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：癌微小環境 癌関連線維芽細胞 乳癌 転写因子

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

癌微小環境に存在する癌関連線維芽細胞(carcinoma-associated fibroblast: CAF)は、腫瘍の線維化や炎症を促進して癌の悪性化に寄与するため、国内外の研究者が CAF の性質を制御することで癌の進展を抑制できると考えている。近年、CAF は不均一な細胞集団であることが明らかになり、癌促進的あるいは癌抑制的な CAF 亜集団の性質や、それらが誘導されるメカニズムに関する深い理解が重要である。代表的な CAF の亜集団として筋線維芽細胞性 CAF、炎症促進性 CAF などが知られている。しかしながら、正常線維芽細胞がこれらの CAF に分化転換する分子メカニズムの詳細は不明である。筆者は、転写因子が細胞分化に与える影響の大きさと、腫瘍から培養された乳癌 CAF の性質が一定のあいだ安定であること(Orimo et al., Cell, 121, 2005)に着想を得て、CAF 亜集団の運命決定やがん促進能は転写因子により制御されているという仮説を持った。

2. 研究の目的

筆者らの DNA マイクロアレイとオープンクロマチン解析の予備実験から、乳癌 CAF と対照線維芽細胞との間で転写因子の発現とクロマチン構造が大きく異なることを見出した。本研究では乳癌 CAF の腫瘍増殖促進能の維持におけるそれらの転写因子の役割を明らかにする。また、CAF 亜集団に特徴的な遺伝子発現状態の誘導との関連を明らかにする。とりわけ、細胞外基質の産生やリモデリングを通して化学療法や免疫チェックポイント阻害剤への抵抗性を促進する耐性を促進する筋線維芽細胞性 CAF に着目し、この癌促進的亜集団の性質の理解とそれを制御する方法の基礎的な知見を得る。

3. 研究の方法

筆者らの研究室ではヒト乳腺線維芽細胞株をヒト乳癌細胞株 MCF7_{ras} 細胞とヌードマウス皮下に共移植し、形成した腫瘍から再びヒト乳腺線維芽細胞株を培養することで実験的に CAF 細胞株を樹立し、experimentally generated CAF (exp-CAF)と名付けて報告した(Kojima et al., PNAS, 107, 2010)。本研究では移植前のヒト乳腺線維芽細胞株や exp-CAF などのトランスクリプトーム解析、クロマチンアクセス性解析を行い CAF で活性化している転写因子を予測した。ヒト乳腺線維芽細胞株における転写因子の過剰発現実験や、exp-CAF における shRNA システムを利用したノックダウン実験を行い、着目した転写因子の機能を解析した。また、exp-CAF において活性化していることが予測された転写因子群がヒト乳癌内で実際に活性化しているか否かを明らかにするために、公共データベースからヒト乳癌組織の single cell-RNA-seq データを複数取得してメタ解析を行った。

4. 研究成果

exp-CAF で顕著に高発現している転写因子として RUNX Family Transcription Factor 3 (RUNX3)に着目して機能解析を進めた。RUNX3 をノックダウンした exp-CAF を樹立し、乳癌細胞株 DCIS_{tb} 細胞と高度免疫不全マウス(NOG マウス)の皮下に共移植した。その結果、RUNX3 をノックダウンした exp-CAF との共移植で DCIS_{tb} 細胞が形成した腫瘍の重量と体積は、コントロール shRNA 導入 exp-CAF との場合に比べて統計学的有意に減少していた。またそれらのノックダウンは筋線維芽細胞性 CAF マーカーの一つである α -平滑筋アクチンの発現には影響しなかった。RUNX3 をヒト乳腺線維芽細胞株に過剰発現させても同様に筋線維芽細胞性 CAF マーカーは上昇しな

った。これらの結果より、RUNX3 は筋線維芽細胞性 CAF の性質とは異なる癌促進的な性質の制御に関わっていることが示唆された (Koyama et al., Cancer Medicine 12, 2023)。

RUNX3 をはじめとした exp-CAF を用いて選抜された転写因子群がヒト乳癌内で実際に活性化しているか否かを明らかにするために、公共データベースからヒト乳癌組織の single cell-RNA-seq データを複数取得してメタ解析を行った。その結果、RUNX3 を含む様々な転写因子の CAF 亜集団における発現上昇や活性化状態を解析することに成功し、exp-CAF との共通性などに関する知見を得た。そして実際にヒト乳線維芽細胞株に転写因子を過剰発現させると筋線維芽細胞性 CAF マーカーが誘導される複数の転写因子を見出した。また CAF 亜集団特異的に発現するマーカー遺伝子群を選抜しそれらの発現状態と乳癌の予後の関連を解析した。以上の解析結果より乳癌悪性を促進する CAF 亜集団を規定する転写因子に関して新規の知見を得た。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0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 Koyama Yu, Okazaki Hiroya, Shi Yang, Mezawa Yoshihiro, Wang Zixu, Sakimoto Mizuki, Ishizuka Akane, Ito Yasuhiko, Koyama Takumi, Daigo Yataro, Takano Atsushi, Miyagi Yohei, Yokose Tomoyuki, Yamashita Toshinari, Sugahara Keisuke, Hino Okio, Yang Liying, Maruyama Reo, Katakura Akira, Yasukawa Takehiro, Orimo Akira	4. 巻 12
2. 論文標題 Increased RUNX3 expression mediates tumor promoting ability of human breast cancer associated fibroblasts	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 18062 ~ 18077
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.6421	査読の有無 無
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 Mezawa Yoshihiro, Wang Tingwei, Daigo Yataro, Takano Atsushi, Miyagi Yohei, Yokose Tomoyuki, Yamashita Toshinari, Yang Liying, Maruyama Reo, Seimiya Hiroyuki, Orimo Akira	4. 巻 114
2. 論文標題 Glutamine deficiency drives transforming growth factor signaling activation that gives rise to myofibroblastic carcinoma associated fibroblasts	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4376 ~ 4387
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15955	査読の有無 無
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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岡崎寛弥, 施陽, 咲本瑞来, 小山侑, 王子旭, 石塚朱音, 目澤義弘, 梶野一徳, 片倉朗, 安川武宏, 折茂彰
2. 発表標題 がん関連線維芽細胞CAFsで見出した転写因子LEF1の異常発現が引き起こすがん悪性化促進メカニズムの研究
3. 学会等名 第82回日本学会学術集会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 目澤義弘, 折茂彰	4. 発行年 2024年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 7
3. 書名 実験医学 2024年7月号 Vol.42 No.11: 癌関連線維芽細胞の多様性と浸潤・転移促進メカニズム	

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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