

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 19 日現在

機関番号：72602

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23300343

研究課題名(和文)細胞老化により誘発される持続的炎症シグナルの分子機構と癌微小環境に及ぼす影響

研究課題名(英文)The molecular mechanism of senescence-associated prolongation of inflammatory signaling and its effect on cancer micro-environments.

研究代表者

大谷 直子(Ohtani, Naoko)

公益財団法人がん研究会・がん研究所・主任研究員

研究者番号：50275195

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 16,900,000円、(間接経費) 5,070,000円

研究成果の概要(和文)：細胞老化とは生体に備った恒常性維持システムの一つであり、正常細胞にDNA損傷などの発がんの危険性が加わると誘導される不可逆的細胞増殖停止である。最近、細胞老化をおこすと、様々な炎症性サイトカインが大量に分泌されることが明らかになった。今回、この細胞老化にともなうサイトカインの持続分泌現象に着目しがん微小環境への影響を検討した。その結果、申請者らは肥満にともない発症する肝癌組織において、肝臓の間質に存在する肝星細胞が細胞老化をおこし、炎症性サイトカインを持続分泌する発癌に促進的な、がん微小環境を形成することを明らかにした。さらにこの病態における細胞老化の誘導機構、炎症シグナルの経路を同定した。

研究成果の概要(英文)：Cellular senescence is an irreversible cell proliferation arrest provoked by oncogenic impulse such as oncogene activation that creates harmful DNA damage, and is recognized as an important fail-safe mechanism. Recently, it has been reported that senescent cells produce various types of secretory proteins including inflammatory cytokines and chemokines. In this study, we investigated whether this senescence-associated secretory proteins promote cancer progression. We found that senescent hepatic stellate cells (HSCs) form cancer micro-environment in obesity-induced hepatocellular carcinoma tissue. Moreover, we clarified the mechanism of how HSCs senesce and what signal is involved in the production of secretory proteins.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：腫瘍学・発がん

キーワード：細胞老化 炎症性サイトカイン がん微小環境 炎症とがん

1. 研究開始当初の背景

細胞老化は生体に備わった恒常性維持システムの一つであり、正常細胞にDNA損傷などの発がんの危険性が加わると誘導される不可逆的細胞増殖停止現象である。最近、細胞老化をおこすと、様々な炎症性サイトカインが大量に分泌されることが明らかになり、この現象は senescence-associated secretory phenotype (SASP)と呼ばれている。もともと培養細胞で同定されたこの SASP 現象が生体でどのような働きをしているのかについては十分に明らかになっていなかった。そこで生体における SASP の役割と機能を明らかにし、さらにその SASP 因子の産生機構を明らかにする必要があると考えられた。

2. 研究の目的

細胞老化にともなう SASP が生じると、長期間持続的に炎症性サイトカイン分泌が持続する。本研究では SASP が生体内で機能するのかを検討する。特にがん微小環境における発がん促進作用に関与するかどうか、また、それらの炎症性サイトカインがどのようなシグナルを介して産生されるのかを明らかにすることを目的とする。培養細胞を用いた細胞老化の誘導時においてはいくつかの Toll-like receptor (TLR) の発現が上昇していたことから、特に TLR を介するシグナルに着目して研究を進めた。

3. 研究の方法

我々はこれまでマウスを用いた研究で、生後 4～5 日の新生仔マウスに DMBA (7,12-dimethylbenz[a]anthracene) を 1 回塗布し、その後肥満させると肝癌が促進されることを見出ししていた。本研究では以下の方法で研究を進めた。

- (1) 免疫組織化学染色や遺伝子発現解析法により、肝癌組織の肝星細胞における細胞老化と SASP を確認する。
- (2) 様々な TLR のノックアウトマウスを用いて肥満にともなう肝癌誘発実験を行い、肝癌発生数を検討する。
- (3) 様々な TLR ノックアウトマウスを用いて発生した肝癌部における肝星細胞の細胞老化と SASP の状況を解析する。

4. 研究成果

(1) 肝星細胞における細胞老化と SASP

肥満にともなう肝癌組織においては p21 や p16 といった CDKI (細胞老化マーカー) に加え、IL6 や Gro-alpha などの炎症性サイトカインやケモカインの発現が増加していた。さらにどの細胞でこれらの発現が高まって

いたのか、免疫組織化学染色法で調べたところ、肝癌組織の肝星細胞においてこれらの因子はすべて発現を認めた。

(2,3) 様々な TLR ノックアウトマウスにおける肝癌発生数の検討と細胞老化・SASP の状況

- ① TLR4 ノックアウトマウス
TLR4 は LPS や様々な内因性リガンドを介して炎症シグナルを促進することが知られており、TLR4 ノックアウトマウスでは、腫瘍数が減少することを予想したが、逆に肝癌の発症が有意に増加することが明らかになった。(腫瘍平均個数:野生型 18.5 個 n=18、TLR4KO 28.4 個 n=12) 細胞老化や SASP も肝星細胞において生じていた。
- ② TLR2 ノックアウトマウス
TLR2 はリポタイコ酸などグラム陽性菌の成分を認識することが知られている。TLR2 ノックアウトマウスでは腫瘍数は有意に減少した。(腫瘍平均個数:野生型 18.5 個 n=18、TLR2KO 3.6 個 n=6) 細胞老化は肝星細胞において生じていたが、SASP 因子の発現は減少していた。
- ③ TLR1 ノックアウトマウス
TLR1 は TLR2 とヘテロダイマーを形成するが TLR1 ノックアウトマウスでは、腫瘍の大きさは小さいものの、ほとんど腫瘍発生数は野生型と変化ないことが明らかになった(腫瘍平均個数:野生型 18.5 個 n=18、TLR1KO 16.4 個 n=5)。
- ④ TLR6 ノックアウトマウス
TLR6 ノックアウトマウスでは腫瘍の発生数や大きさは野生型と比べて変化なかった。(腫瘍平均個数:野生型 18.5 個 n=18、TLR6KO 16.2 個 n=5)。

以上のことから、肥満にともなう肝癌においては、肝星細胞において細胞老化や SASP が生じており、TLR2 の経路を介した炎症シグナルが肝癌発症を促進する可能性が示唆された。TLR2 は TLR1 または TLR6 とヘテロダイマーを形成することが知られているが、今回の結果から、TLR6 は関与していない可能性がある。今後、どのような内因性リガンドが作用するのか検討する。

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 4 件)

1. Ohtani N and Hara E
Roles and mechanisms of cellular senescence in regulation of tissue homeostasis.
Cancer Science. 104:525-30, 2013
2. Yoshimoto S, Loo TM, Atarashi K, Kanda H, Sato S, Oyadomari S, Iwakura Y, Oshima K, Morita H, Hattori M, Honda K, Ishikawa Y, Hara E, Ohtani N.
Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome.
Nature. 499: 97-101,2013
3. Saito K, Takigawa N, Ohtani N, Iioka H, Tomita Y, Ueda R, Fukuoka J, Kuwahara K, Ichihara E, Kiura K, Kondo E.
Antitumor Impact of p14ARF on Gefitinib-Resistant Non-Small Cell Lung Cancers.
Mol Cancer Ther. 12:1616-28,2013
4. Imai Y, Takahashi A, Hanyuu A, Hori S, Sato S, Naka K, Hirao A, Ohtani N, and Hara E
Crosstalk between RB-pathway and AKT signaling forms a Quiescence-Senescence switch.
Cell Reports 10; 7:194-207. 2014

〔学会発表〕 (計 12 件)

1. Naoko Ohtani
Senescence-Associated Secretory Phenotypes (SASPs) Promote Obesity Associated Hepatocarcinogenesis.
Keystone Symposia "Aging and Diseases of Aging" 2012-10-25
2. Naoko Ohtani
Cellular senescence-associated inflammation and cancer.
2nd Japanese-French Cancer Workshop
2012-11-29
3. Naoko Ohtani
Senescence-associated inflammatory secretome and cancer development.
JST-CREST International Symposium "Frontiers in Immunology and Inflammation"
2013-2-13
4. 大谷直子
細胞老化の二面性 -がん抑制機構 SASP-
第 65 回日本細胞生物学会大会 シンポジウム 老化の分子機構

2013-6-21

5. Naoko Ohtani, Shin Yoshimoto, Tze Mun Loo, Hiroaki Kanda, Seidai Sato, Yuichi Ishikawa and Eiji Hara
Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer via senescence secretome.
Welcome Trust scientific conference. Cell Senescence in Cancer and Aging
2013-7-22

6. 大谷直子
細胞老化による炎症とがん—肥満により増加する腸内細菌の代謝産物が肝がんを促進する—
第 45 回北陸実験動物研究会
2013-9-14

7. Ohtani N, Hara E.
The role of cellular senescence in obesity-associated hepatic carcinogenesis.
第 72 回日本癌学会総会 シンポジウム Animal models in cancer research
2013-10-5

8. 大谷直子
肥満により増加する腸内細菌の代謝産物 DCA は肝癌発症を促進する
第 1 回がんと代謝研究会 特別講演
2013-10-30

9. 大谷直子
肥満により増加する腸内細菌の代謝産物が肝がんを促進する
第 41 回臨床免疫学会総会 シンポジウム
2013-11-28

10. 大谷直子、吉本 真、羅 智文、原 英二
細胞老化による炎症とがん —肥満に伴い増加する腸内細菌の代謝産物による肝がん促進作用—
第 36 回日本分子生物学会年会 ワークショップ 「生老病死」の分子生物学の最前線
2013-12-3

11. 大谷直子、吉本 真、羅 智文、原 英二
肥満に伴い増加する腸内細菌の代謝産物デオキシコロール酸による SASP を介した肝がん促進作用
第 47 回日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会 シンポジウム
2014-1-31

12. 大谷直子
細胞老化・SASP による発がん—肥満により増加する腸内細菌の代謝産物 DCA は肝がんを促進する—
第 23 回日本小児胆汁酸研究会 教育講演
2014-2-15

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大谷直子 (OHTANI, Naoko)

研究者番号：50275195