

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

科学研究費助成事業

研究成果報告書



平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：72602

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2014～2016

課題番号：26713014

研究課題名（和文）肥満による肺がん促進機構の解明

研究課題名（英文）Molecular mechanism about obesity-induced lung tumorigenesis

研究代表者

吉本 真 (Yoshimoto, Shin)

公益財団法人がん研究会・その他部局等・研究員

研究者番号：50571668

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 18,300,000 円

研究成果の概要（和文）：近年の疫学調査により、肥満は糖尿病や心筋梗塞だけでなく、様々ながんの発症率を高めることが明らかになっている。しかしながら、肥満すると何故がんを発症するようになるのか？その分子メカニズムはほとんど明らかにされていなかった。我々は、これまでに、肥満により増加した腸内細菌の代謝産物である二次胆汁酸のデオキシコール酸が、腸肝循環を介して肝臓がんの発症を促進することを報告した。興味深いことに、肥満マウスでは肝臓がんの他にも、肺がんの発症が促進されることを見出した。本研究では、肥満で増加した二次胆汁酸の中でも、タウリン抱合型デオキシコール酸が肺がんの発症を促進する機構について解析した。

研究成果の概要（英文）：Obesity has become more prevalent in most developed countries over the past few decades, and is increasingly recognized as a major risk for several common types of cancer. Although weight loss by exercise and/or dietary control ameliorates obesity-induced metabolic syndromes, the worldwide obesity epidemic has shown no signs of abating. Therefore, more effective methods are needed to prevent obesity-associated cancer development. Toward this purpose, a better understanding of the mechanisms underlying obesity-associated cancer is urgently required. The exact molecular mechanisms that integrate these events have remained unclear. Recently, we reported that obesity induces alterations of gut microbiota, thereby increasing the levels of deoxycholic acid promotes liver cancer development in mice. Notably, we found that obesity also promotes lung cancer development in mice. In this study, we investigated the molecular mechanism about the obesity-induced lung cancer development.

研究分野：医歯薬学

キーワード：細胞老化 SASP Deoxycholic acid 腸内細菌

1. 研究開始当初の背景

近年の疫学調査により、肥満は糖尿病や心筋梗塞だけでなく、様々ながんの発症率を高めることが明らかになっている (Calle *et al.*, Nat. Rev. Cancer 2004)。このため、がん予防の観点からも肥満の防止が重要であることは明らかであるが、先進国を中心に肥満人口は増加の一途をたどっており、日本もその例外ではない。このため、がんを含めた肥満関連疾患の克服には肥満そのものの防止だけでなく、肥満しても疾患発症に至らないようにする取り組みも必要である。そのためには、まず、肥満すると何故このような疾患を発症するようになるのか？その分子メカニズムを解明することが重要である。

我々は、全身性の発がんモデルマウスに高脂肪食を投与して肥満させたところ、肝がんの発症が促進されることを発見した。さらに発がん機構として、肥満により増加した腸内細菌が産生する2次胆汁酸 DCA (Deoxycholic acid) が腸肝循環を介して肝臓に運ばれ、間質細胞の肝星細胞に細胞老化と、それに伴う SASP (senescence-associated secretory phenotype) と呼ばれる現象を介した炎症性サイトカインなどの分泌性因子の産生を誘導することで周囲の肝実質細胞の発がんを促進することを見出した (Yoshimoto *et al.*, Nature 2013)。近年、腸内細菌叢の変化が代謝産物を介して全身に様々な影響を与えていることが明らかになってきていることから、我々は、腸内細菌叢が大きく変化した肥満マウスにおいて、未だ明らかにされていない肥満特異的な代謝産物が肝臓以外の臓器にも大きな影響を及ぼしているのではないかと考えた。

2. 研究の目的

肥満に伴い増加した腸内細菌の代謝産物 DCA は腸肝循環を介して肝臓に作用して肝がんを誘導することだけでなく、大腸がんのリスクファクターとしても知られている。しか

し、肝臓と大腸以外の発がん促進に DCA が関与する可能性については明らかにされていない。興味深いことに、肥満マウスにおいて肝がんの他にも肺がんの発症が促進されていた。そこで、本研究では、肥満による肺がん促進機構を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

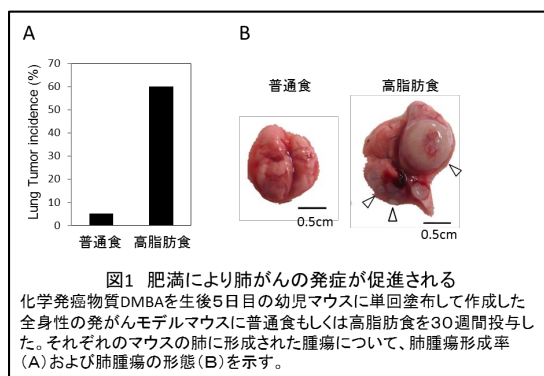
マウスを用いて肥満による肺がんの促進機構を解析するために、がん遺伝子 ras を活性化させる化学発がん物質 DMBA (7,12-dimethylbenz[a]anthracene) を乳児期 (生後5日) のマウスに単回塗布して全身性に発がんストレスを与え、高脂肪食を30週間投与することで肥満に伴う肺がん形成を誘導した。さらに、免疫組織染色を用いて肺がん腫瘍部において細胞老化や SASP 因子の発現が誘導される細胞を調べた。また、DCA による肺がん形成促進について明らかにするため、血中 DCA 濃度を減少させる UDCA (ursodeoxycholic acid) や DFAIII (Difuctose anhydride III) を肥満マウスに投与して肺がんの発症における影響を調べた。肥満マウスにおける血中の胆汁酸組成について詳しく調べるために、LC-MS を用いて血中の各胆汁酸濃度を測定した。

4. 研究成果

・肥満すると肺がんが誘導された

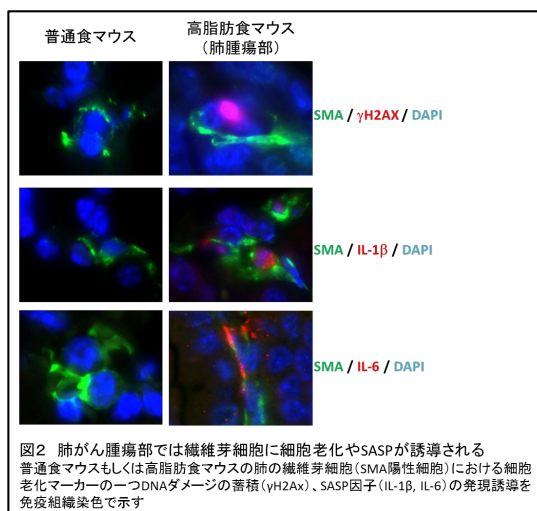
なぜ肥満はがんを促進するのか？我々は、肥満に伴い増加した腸内細菌の代謝産物 DCA が腸肝循環を介して肝臓に運ばれ、肝星細胞に細胞老化と細胞老化に伴う SASP と呼ばれる炎症性サイトカインの産生を誘導することで、肝がんの発症を促進することを明らかにした。我々は、細胞に DNA ダメージを与えることで発がんを促進する DCA が肥満マウスの血中で上昇していることから、肝臓がん以外の組織においてもがんの発症を促進するのではないかと考えた。がん遺伝子の ras に

活性化型の変異を導入する化学発がん物質 DMBA を生後5日の乳児マウスの背中に単回塗布することで全身性の発がんモデルマウスを作製し、高脂肪食 High Fat Diet (HFD) を与え肥満させたマウスでは、普通食マウスに比べ、肝がんの発症に加え、肺がんの発症が促進されていた (図1)。



・肺腫瘍部の繊維芽細胞において細胞老化やSASP が誘導された

肺がんの腫瘍部分において、細胞老化やSASPの誘導が起こっているか、また、どの細胞に誘導されているか免疫組織染色を用いて調べた。その結果、肺がん腫瘍部の繊維芽細胞 -SMA 陽性細胞において細胞老化マーカーの一つ DNA ダメージの蓄積が観察された。さらに、繊維芽細胞において細胞老化に伴い誘導される SASP 因子の1つ炎症性サイトカインの発現も観察された (図2)。以上のことから、肝がんの発症と同様に、肥満に伴う肺がんの発症に繊維芽細胞の細胞老化やSASPの誘導が重要であることが示唆された。



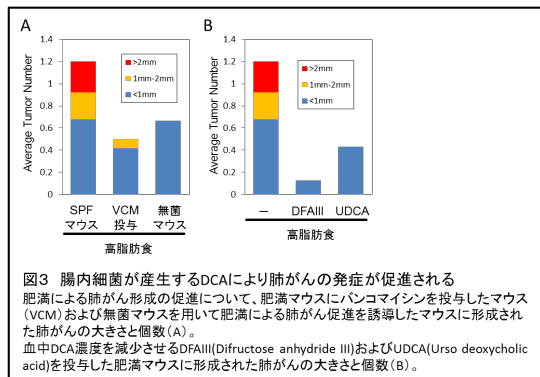
・肥満による肺がんの形成に腸内細菌が関与する

次に、肥満に伴う肝がんの発症と同様に、肺がんの発症に腸内細菌が関与する可能性を検討するため、無菌マウスを用いた肥満発がんモデルマウスを詳細に調べたところ、無菌マウスでは肥満に伴う肺がんの発症が抑制されていた。さらに、肥満マウスの腸内で著しく増加するグラム陽性菌に対する抗生剤バンコマイシンを肥満マウスに投与したところ、肥満に伴う肺がんの発症が抑制されていた (図3A)。以上の解析から、肥満に伴う肺がんの発症においても腸内細菌、特にグラム陽性菌が強く関与していることが示された。

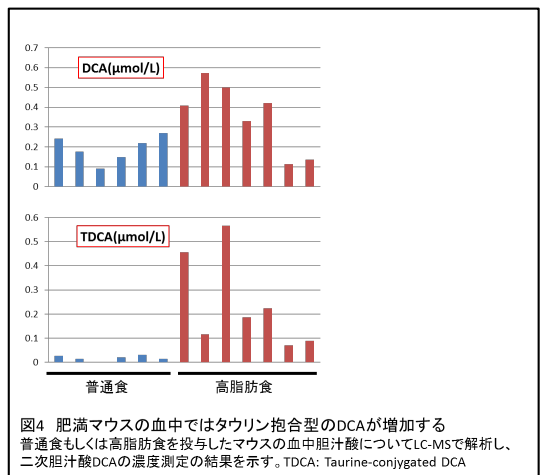
・肥満マウスの血中ではタウリン抱合型 DCAが増加した

肥満に伴う肺がんの形成に腸内細菌由来の因子が血液を介して肺の繊維芽細胞に細胞老化とSASPを誘導している可能性が強く示唆された。肥満マウスの血中メタボローム解析において、肥満マウスの血中で有意に変動が見られたのは胆汁酸経路のみであったため、肥満に伴う肺がんの発症においてもDCAが重要な因子であることが予想された。そこで、肥満マウスにおいて血中DCA濃度を減少させるUDCAやDFAIIIを投与した所、肥

満に伴う肺がんの発症が抑制された(図3B)。



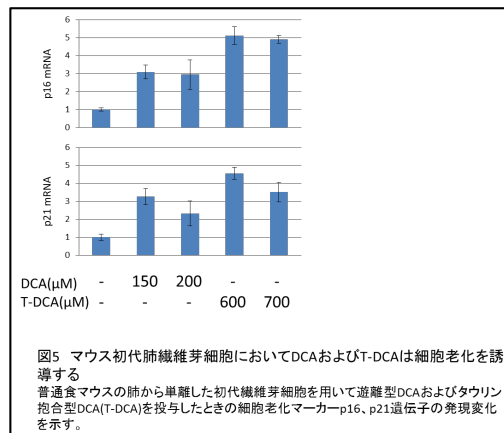
生体内において胆汁酸はタウリンやグリシンが結合した抱合型と遊離型の胆汁酸が存在しており、一般的に血中においては抱合型の胆汁酸が安定であるといわれている。そこで、肥満マウスの血中における遊離型および抱合型の各胆汁酸について詳細に解析したところ、普通食マウスに比べ、肥満マウスの血中では、遊離型 DCA ではなく、タウリン抱合型 DCA (T-DCA) の濃度が著しく上昇していることが分かった (図4)。



・肺の初代繊維芽細胞では T-DCA 投与により細胞老化が誘導された

DCA や LCA(Litocholic acid)などの二次胆汁酸については、抱合型よりも遊離型の方が肝毒性が強いといわれている。そこで、肥満マウスの肺がん腫瘍部から初代繊維芽細胞を単離し、DCA および T-DCA の投与により細胞老化の誘導が起こるかどうか調べた。その結果、DCA だけでなく、T-DCA の投与によっても肺の線維芽細胞に細胞老化が誘導され

ることが分かった (図5)。また、T-DCA は遊離型の DCA よりも強く細胞老化マーカー遺伝子の発現を誘導していることが示された。



最近の研究によると DCA による発がんストレスの誘導は DNA ダメージの蓄積だけでなく別の経路の存在も示唆されている。DCA はアセチルコリンレセプターの一つ Muscarinic 3 receptor(M3R)のリガンドとして作用し、その下流で Matrix metaroprotease 7 (MMP7) の発現を誘導する。発現が上昇した MMP7 により pro-EGF は切断され、周囲の EGF レセプターを介して EGF シグナルを活性化することで細胞増殖や細胞の生存を促進することが示唆されている。一方で、MMP7 は SASP 因子の一つであることから、肥満マウスで増加した T-DCA は、肺の繊維芽細胞に細胞老化と SASP を誘導すると同時に、M3R-MMP7 を介した EGF シグナルの活性化を誘導している可能性が考えられる。現在、T-DCA による細胞老化の誘導と M3R-MMP7 pathway との関係を解析しており、学術論文として投稿予定である。

6. 研究組織

(1)研究代表者

吉本 真 (Shin Yoshimoto)

公益財団法人がん研究会がん研究所・研究員

研究者番号：50571668