

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07231

研究課題名（和文）肥満によるがん発症進展の分子機構

研究課題名（英文）Molecular mechanisms of cancer development and progression in obesity.

研究代表者

下野 洋平（Shimono, Yohei）

藤田医科大学・医学部・教授

研究者番号：90594630

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：肥満は各種のがんの発症危険因子であることを踏まえ、脂肪細胞によるがん促進機構を解析した。乳がん患者由来の脂肪細胞（脂肪組織由来幹細胞）は、アディプシンの分泌を介して乳がんのがん幹細胞性（特に強い能力をもってがん組織をつくり維持する性質）を増強した。また、卵巣がんでも同様に脂肪細胞によるがん幹細胞性の増強作用を認めた。さらに、その働きを阻害する化合物を同定した。本研究から、脂肪細胞ががんの治療標的となる可能性が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんの発症および進展にはがん細胞の周囲にある細胞（がん間質細胞）の働きが重要である。本研究は、がん間質細胞の新たな一員としての脂肪細胞の重要性を明らかにするとともに、それが乳がんや卵巣がんにおいて、がん形成の根源にあるがん幹細胞の性質を増強することを示した。さらに、脂肪細胞を標的として効果的にがん幹細胞性を抑制する化合物を同定した。本研究の知見から、がん間質を標的とすることで抗がん作用を発揮する全く新機構の抗がん剤を開発できる可能性が明らかになった。

研究成果の概要（英文）：Based on the observation linking obesity to the risk of various types of cancers, tumor promoting effects of adipocytes were investigated. Adipose tissue-derived stem cells (ADSCs) established from the surgical specimens of breast cancer patients enhanced the cancer stem cell properties of breast cancer cells. Similarly, ADSCs promoted the cancer stem cell properties of ovarian cancer cells. We then identified the compounds that suppressed the ability of ADSCs to promote cancer stem cell properties. These findings indicate that adipocytes are novel therapeutic targets in various cancers.

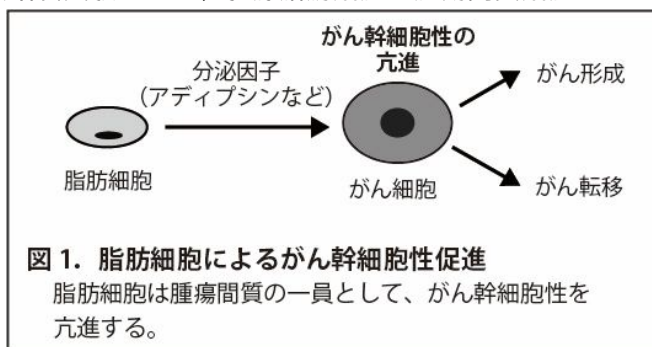
研究分野：腫瘍学

キーワード：がん幹細胞 脂肪細胞 乳がん 卵巣がん アディプシン

1. 研究開始当初の背景

(1) 腫瘍間質としての脂肪細胞

腫瘍の発生および進展には、腫瘍間質細胞とがん細胞の相互作用がきわめて重要である。これまでの研究で、間葉系幹細胞、免疫細胞、血管内皮細胞、神経細胞、線維芽細胞など各種の細胞が腫瘍間質細胞として働くことが示されてきた。脂肪組織はエネルギー貯蔵能に加え、分泌、代謝、および免疫制御能を併せ持つ複雑な組織であり、アディポカインの分泌などを介して周囲の環境および全身の代謝を制御する。私たちは、乳がん患者の手術検体より樹立した乳がん細胞と脂肪細胞の共培養実験により、乳腺脂肪細胞が腫瘍間質細胞として乳がん細胞の増殖および幹細胞性を増強することを見出した (図 1)。つぎに、乳腺脂肪細胞由来の分泌因子アディブシンが、乳がんの増殖および幹細胞性を促進することを見出した (Goto H, Shimono Y et al. Oncogene, 2019)。



(2) 肥満とがんの発症および進展を結びつける脂肪組織

肥満は、子宮内膜がん、乳がん、肝臓がん、腎臓がん、膵臓がん、大腸がんなど各種のがんの重要な発症危険因子の一つである。肥満は脂肪組織の増大および代謝の病的な変化を介して、インスリン抵抗性、高血糖、酸化ストレス、炎症反応などを誘導して、がんの発症および進展に関わるとされる。また、肥満患者の腫瘍組織では、脂肪細胞の含有率が高いことが知られている。私たちは、臨床検体を用いた解析から、アディポカインの発現が乳がん患者の肥満度とともに増加することを見出した (Goto H, Shimono Y et al. Oncogene, 2019)。

2. 研究の目的

本研究では、脂肪細胞が分泌するアディポカインに特に着目して、脂肪細胞ががんの発症および進展に関わる分子機構を解析する。また、脂肪細胞によるがん促進効果を阻害する薬剤を探索し、腫瘍間質としての脂肪細胞を標的とした抗がん剤開発につながる基礎データを得る。

3. 研究の方法

(1) がん異種移植腫瘍および脂肪細胞の樹立

同意の得られたがん患者の手術検体より腫瘍組織を採取し、高度免疫不全マウスに移植してがん異種移植腫瘍(PDX)を樹立した。三次元共培養する場合は、得られた腫瘍を酵素処理により単細胞化した。また手術検体に付随する脂肪組織より脂肪細胞 (脂肪組織由来幹細胞、ADSC) を樹立した。

(2) アディポカインによるがん幹細胞制御の分子機構の解析

がん手術検体より樹立した脂肪細胞とがん細胞を低接着プレートで三次元共培養してスフェロイド形成させることでがん幹細胞性を解析する。shRNA 発現レンチウイルスや特異的阻害剤を用いてアディポカインを阻害して同様の実験を行う。がん幹細胞性の評価は定量的PCRによる遺伝子発現解析およびフローサイトメーターを用いたがん幹細胞マーカーの発現解析により行う。

(3) アディブシンノックアウトマウスの樹立

2019年先端モデル動物支援プラットフォームによる支援により筑波大学にてゲノム編集技

術を用いてアディプシン(Cfd) 遺伝子をノックアウトしたマウスを作製した。本マウスの乳腺脂肪より、アディプシンノックアウト脂肪細胞を樹立した。

(4) 肥満とアディポカイン発現量との関連の解析

乳がん患者の手術検体より脂肪組織細胞を分離してアディポカイン発現量を定量的PCR法にて測定した。つぎに、多変量解析にて、患者の肥満度、腫瘍の進展度、年齢、乳がん組織型などとアディポカイン発現量との関連を解析した。

(5) がん発生に関わる脂肪組織の部位特異性の解析

乳腺脂肪組織由来の脂肪細胞と腹腔内脂肪組織由来の脂肪細胞のアディポカイン産生を定量的PCR法やサイトカインアレイ、ELISAで測定し比較検討した。

(6) 網羅的薬剤スクリーニングによる脂肪細胞阻害剤の探索

蛍光標識したがん細胞と脂肪細胞を用いて三次元共培養を行い、スフェロイド形成能の阻害を指標に薬剤の網羅的スクリーニングを行った。

4. 研究成果

(1) 脂肪細胞分泌因子アディプシンによる乳がん促進機構の解明

乳がん患者の脂肪組織より樹立した脂肪細胞(ADSC)との共培養により、乳がん患者由来腫瘍細胞(PDX)によるスフェロイド形成能(がん幹細胞性を反映)は顕著に亢進した(図2)。分泌因子の発現プロファイルにて、乳腺脂肪細胞からアディプシンをはじめとしたアディポカインが分泌されることが分かった。shRNAあるいは特異的阻害剤によるアディプシンの抑制は、脂肪細胞による乳がん細胞のスフェロイド形成促進能を有意に抑制し、がん細胞におけるがん幹細胞マーカーCD44などの発現を有意に減少させた。脂肪細胞の共移植によりマウスにおける乳がん細胞の腫瘍形成能は顕著に亢進した(図3)。一方、脂肪細胞におけるshRNAによるアディプシンの発現抑制は、共移植における腫瘍形成能を有意に減弱させた。

本成果は、脂肪細胞によるがん幹細胞性の促進機構を解明した点、およびこの作用に脂肪細胞が特異的に分泌するアディプシンが関与することを同定した点で意義がある。学術誌に発表するとともに、アディプシン阻害を用いた抗がん剤に関して特許を取得した(Goto H, Shimono Y et al. Oncogene, 2019; PCT 出願 JP2019/005695 特許第 6664685号)。

(2) 乳がん患者におけるアディプシン発現と肥満との関連

乳がん患者の脂肪組織におけるアディプシンの発現量を測定し、がんの進展度や年齢、がん組織のホルモン受容体発現レベル、肥満度などとの関連を検討した。がん組織近傍の脂肪組

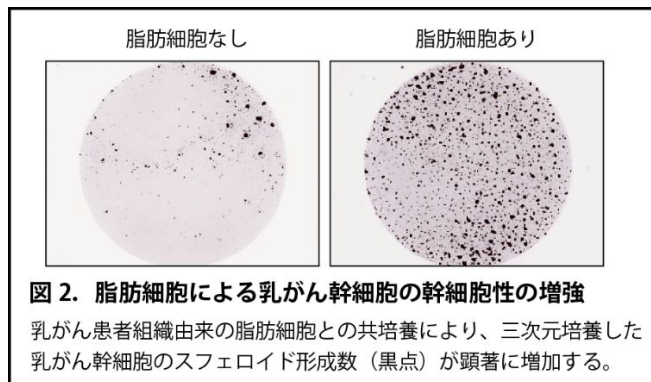


図2. 脂肪細胞による乳がん幹細胞の幹細胞性の増強

乳がん患者組織由来の脂肪細胞との共培養により、三次元培養した乳がん幹細胞のスフェロイド形成数(黒点)が顕著に増加する。

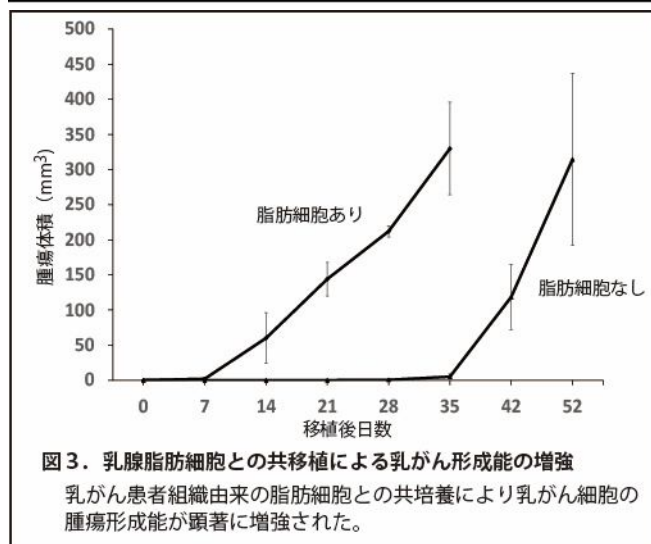


図3. 乳腺脂肪細胞との共移植による乳がん形成能の増強

乳がん患者組織由来の脂肪細胞との共培養により乳がん細胞の腫瘍形成能が顕著に増強された。

織のアディプシンの発現量は、乳がん患者の肥満度と相関して発現レベルが上昇した。

(3) 腹腔内脂肪細胞による卵巣がんのがん幹細胞性亢進作用の解明

卵巣がんの転移は、脂肪組織に富む腹膜組織である大網に好発する。そこで大網の脂肪組織より脂肪細胞(ADSC)を樹立するとともに、卵巣がん患者検体より卵巣がん患者由来腫瘍細胞(PDX)を樹立した。大網由来脂肪細胞は卵巣がん細胞のスフェロイド形成能(がん幹細胞性を反映)を顕著に亢進した。つぎに、分泌因子の発現プロファイルにて大網由来脂肪細胞から分泌されるアディポカインを同定するとともに、乳腺脂肪由来脂肪細胞との発現プロファイルの違いを明らかにした。shRNAによる脂肪細胞のアディポカインの発現抑制および特異的阻害剤による機能抑制により、大網由来脂肪細胞による卵巣がん細胞のスフェロイド形成能は有意に抑制された。由来する脂肪組織により脂肪細胞が分泌するアディポカインの発現プロファイルが異なったことから、脂肪脂肪とがん細胞との関係は脂肪組織の部位により異なることが示唆された。

(4) アディプシンノックアウトマウスの解析

アディプシン(Cfd)遺伝子をノックアウトしたマウスより樹立した乳腺脂肪細胞は、野生型の脂肪細胞と比べ有意に乳がん細胞のスフェロイド形成能を抑制した。また、アディプシンに依存性に発現が変化するアディポカインを同定し、それががん幹細胞性の制御に関与していることを見出した。

(5) 薬剤スクリーニングによる脂肪細胞阻害剤の同定

蛍光標識卵巣がん細胞と大網由来脂肪細胞との共培養系を用いた網羅的スクリーニングにより、がん細胞のスフェロイド形成能を阻害する薬剤の網羅的スクリーニングを行った。約800種類の既存薬剤をスクリーニングした結果、30種の薬剤がスフェロイド形成能を有意に抑制することを見出した(図4)。同定された薬剤は、共培養系においてがん細胞のスフェロイド形成能を阻害したが、がん細胞単独ではスフェロイド形成能を抑制しなかった。また、薬剤が発現抑制する脂肪細胞由来アディポカインを同定した。本成果は、腫瘍間質としての脂肪細胞を選択的に阻害することでがんを抑制するという全く新機構の抗がん剤開発の可能性を示すうえでも意義がある。

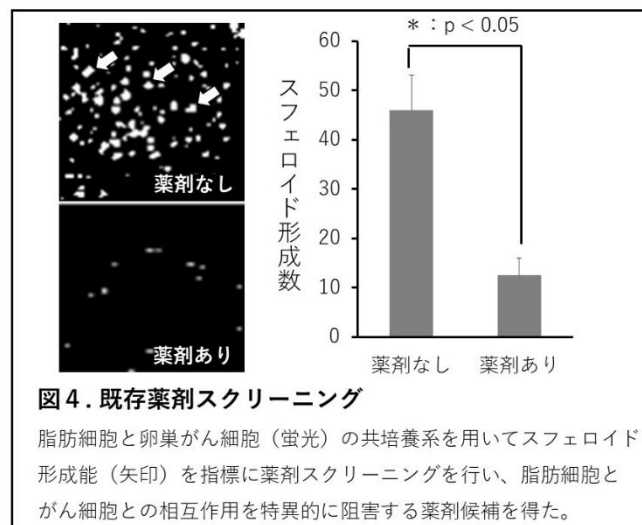


図4. 既存薬剤スクリーニング

脂肪細胞と卵巣がん細胞(蛍光)の共培養系を用いてスフェロイド形成能(矢印)を指標に薬剤スクリーニングを行い、脂肪細胞とがん細胞との相互作用を特異的に阻害する薬剤候補を得た。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Yanagi H, Watanabe T, Nishimura T, Hayashi T, Kono S, Tsuchida H, Hirata M, Kijima Y, Takao S, Okada S, Suzuki M, Imaizumi K, Kawada K, Minami H, Gotoh N, Shimono Y.	4. 巻 111
2. 論文標題 Upregulation of S100A10 in metastasized breast cancer stem cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4359-4370
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.14659	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Shibuya N, Kakeji Y, Shimono Y.	4. 巻 111
2. 論文標題 miR-93 targets WASF3 and functions as a metastasis suppressor in breast cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2093-2103
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.14423	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nishio E, Hayashi T, Akaza M, Hisatomi Y, Hikichi M, Fujii T, Utsumi T, Harada N, Shimono Y.	4. 巻 10
2. 論文標題 Upregulation of CIP2A in estrogen depletion-resistant breast cancer cells treated with low-dose everolimus.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio .	6. 最初と最後の頁 2072-2080
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/2211-5463.12956.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nishiuchi A, Hisamori S, Sakaguchi M, Fukuyama K, Hoshino N, Itatani Y, Honma S, Maekawa H, Nishigori T, Tsunoda S, Obama K, Miyoshi H, Shimono Y, Taketo MM, Sakai Y.	4. 巻 11
2. 論文標題 MicroRNA-9-5p-CDX2 Axis: A Useful Prognostic Biomarker for Patients with Stage II/III Colorectal Cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 E1891
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers11121891	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nishio E, Hayashi T, Nakatani M, Aida N, Suda R, Fujii T, Wakatsuki T, Honda S, Harada N, Shimono Y.	4. 巻 20
2. 論文標題 Lack of association of ovariectomy-induced obesity with overeating and the reduction of physical activities.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 E100671
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2019.100671	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mukohyama J, Isobe T, Hu Q, Hayashi T, Watanabe T, Maeda M, Yanagi H, Qian X, Yamashita K, Minami H, Mimori K, Sahoo D, Kakeji Y, Suzuki A, Dalerba P, Shimono Y.	4. 巻 79
2. 論文標題 miR-221 Targets QKI to Enhance the Tumorigenic Capacity of Human Colorectal Cancer Stem Cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 5151-5158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-18-3544	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 該当する

1. 著者名 Honma S, Hisamori S, Nishiuchi A, Itatani Y, Obama K, Shimono Y, Sakai Y.	4. 巻 11
2. 論文標題 F-Box/WD Repeat Domain-Containing 7 Induces Chemotherapy Resistance in Colorectal Cancer Stem Cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 E635
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers11050635	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Goto H, Shimono Y, Funakoshi Y, Imamura Y, Toyoda M, Kiyota N, Kono S, Takao S, Mukohara T, Minami H.	4. 巻 38
2. 論文標題 Adipose-derived stem cells enhance human breast cancer growth and cancer stem cell-like properties through adipisin.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncogene	6. 最初と最後の頁 767-779
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41388-018-0477-8	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 Tatara T, Mukohara T, Tanaka R, Shimono Y, Funakoshi Y, Imamura Y, Toyoda M, Kiyota N, Hirai M, Kakeji Y, Minami H.	4. 巻 38
2. 論文標題 3D Culture Represents Apoptosis Induced by Trastuzumab Better than 2D Monolayer Culture.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anticancer research	6. 最初と最後の頁 2831-2839
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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11件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Shimono Y, Gotoh N.
2. 発表標題 脂肪細胞によるがん幹細胞性制御能の解析.
3. 学会等名 令和2年度金沢大学がん進展制御研究所共同利用・共同研究拠点研究成果報告会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shimono Y, Shibuya N, Nishimura T, Gotoh N, Kakeji Y.
2. 発表標題 MicroRNA profiling of latently metastasized human breast cancer stem cells.
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Maeda M, Hayashi T, Nishio E, Asai N, Fujii T, Shimono Y.
2. 発表標題 Peritoneal adipose tissue-derived stem cells enhance clonogenicity of ovarian cancer cells.
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shibuya N, Shimono Y, Minami H, Kakeji Y, Suzuki A.
2. 発表標題 Downregulation of miR-93 in micrometastatic cancer stem cells of human breast cancer xenograft.
3. 学会等名 第78回 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shimono Y, Mukohyama J, Hayashi T, Watanabe T, Isobe T, Hu Q, Sahoo D, Minami H, Mimori K, Dalerba P, Kakeji Y, Suzuki A.
2. 発表標題 miR-221 targets an RNA-binding protein QKI-5 and enhances the tumorigenic capacity of human colorectal cancer stem cells.
3. 学会等名 第17回 幹細胞シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shimono Y, Goto H, Funakoshi Y, Imamura Y, Toyoda M, Kiyota N, Kono S, Takao S, Mukohara T, Minami H.
2. 発表標題 Adipsin is an adipokine that promotes cancer stem cell-like properties of breast cancer patient-derived xenograft cells.
3. 学会等名 第3回 がん三次元培養研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Goto H, Shimono Y, Mukohara T, Funakoshi Y, Imamura Y, Kono S, Takao S, Suzuki A, Minami H.
2. 発表標題 Adipsin enhanced clonogenicity and proliferation of human breast cancer patient-derived xenograft cells.
3. 学会等名 Annual Meeting of the American Association for Cancer Research (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shimono Y, Goto H, Funakoshi Y, Imamura Y, Toyoda M, Kiyota N, Kono S, Takao S, Mukohara T, Minami H.
2. 発表標題 Adipsin is an adipokine that functions as a regulator of cancer stem cell-like properties in human breast cancer.
3. 学会等名 第16回 幹細胞シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Goto H, Shimono Y, Funakoshi Y, Imamura Y, Toyoda M, Kiyota N, Kono S, Takao S, Mukohara T, Minami H.
2. 発表標題 Adipose-derived stem cells promote human breast cancer growth through adipsin.
3. 学会等名 第16回日本臨床腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shimono Y, Goto H, Funakoshi Y, Toyoda M, Shibuya N, Mukohara T, Takao S, Minami H.
2. 発表標題 Adipocytes enhance tumor growth and cancer stem cell-like properties through the complement activation pathway.
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shibuya N, Shimono Y, Takao S, Minami H, Kakeji Y, Suzuki A.
2. 発表標題 Analyses of miR-25 that was downregulated in micrometastatic cancer stem cells in a human breast cancer xenograft model.
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 抗がん剤	発明者 下野洋平、後藤秀 彰、南博信	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、第6664685号	取得年 2020年	国内・外国の別 国内

〔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			
米国	コロンビア大学			
フランス	モンペリエ大学			