

令和 3 年 6 月 24 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15409

研究課題名（和文）がん悪液質を制御する宿主遺伝子の機能解析に基づく新しいがん悪液質治療法の開発

研究課題名（英文）Functional analysis of host genes that mediate cancer cachexia

研究代表者

河岡 慎平（Kawaoka, Shinpei）

京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・特定准教授

研究者番号：70740009

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：がん医療の発展はめざましいが、我が国では、年間37万人以上ががんで亡くなっている。つまり、37万人以上が、根治不能ながんと生活を余儀なくされているといえる。根治不能ながんは、全身にさまざまな異常をひきおこす。例えば、食欲の減退や体重の減少、治療感受性の低下を挙げることができる。これらの症状は、臨床的にはがん悪液質として知られる。がん悪液質の存在自体はよく知られているものの、現時点では、この複雑な病態を強力に制御する方法はない。本研究では、がん悪液質、特に脂肪の代謝異常に関わる新しい宿主因子を同定し、その機能の一端を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

根治不能ながんの症例数に鑑みると、がんを根治できない場合にどのようにすべきかを考えることは重要であるように思われる。本研究の進展によって、がん悪液質の病態を制御できる方法の確立へと至れば、患者の生活の質や治療感受性を向上させる手法論の開発へとつながると期待できる。また、本研究で発見した因子に依らない症状・表現型を炙り出し、その責任因子を探る、というアプローチにより、がん悪液質という複雑な病態を宿主遺伝子の立場から整理できるようになる。以上、本研究は、がん悪液質という課題について、臨床・基礎の両面で進展をもたらすものであると考えている。

研究成果の概要（英文）：Despite advances in cancer therapeutics, more than 370,000 people die due to cancers per year in Japan. In other words, more than 370,000 people are forced to live with incurable cancers. Such incurable cancers adversely affect the host in various manners. For example, patients with incurable cancers show reduced appetite, weight loss, impaired therapeutic efficacy, and so on. These symptoms are clinically known as cancer cachexia. Yet, no effective therapeutics on cancer cachexia have been available to date. This study reveals a novel host factor that mediates abnormalities in the adipose tissues in cancer cachexia.

研究分野：病態生理学

キーワード：がん悪液質 がん 宿主遺伝子 がん-宿主相互作用 代謝

## 1. 研究開始当初の背景

がん悪液質は、がんが分泌する炎症性サイトカインやホルモンにより引き起こされる全身性の代謝障害の総称で、脂肪や筋肉、体重の減少を伴う症候群である。これらの症状が顕在化すると、がん患者の生活の質が著しく低下し、生命予後が悪化することから、がん悪液質を適切に治療することの意義はきわめて大きいと考えられる。

しかし、現時点では、がん悪液質の根本的な治療法は存在しない。炎症性サイトカインの抑制や栄養の補助によるがん悪液質の治療が試みられているが、その効果は限定的である。特に、がん悪液質を特異的に制御できる薬剤の報告はない。

がん悪液質を制御する新しい薬剤を開発するための道筋の第一段階として、がん悪液質に重要な宿主の遺伝子を同定する必要がある。たとえば、Adipose Triglyceride Lipase (ATGL) という脂質分解酵素を欠損させたマウスは、がん悪液質に対する耐性を獲得する (Das et al. *Science* 2011)。ところが、このマウスでは、がんのない状態においても脂肪の過剰蓄積が生じるなど、生理的な脂肪代謝にも異常が認められる。ATGLのような、その機能障害が生理的な代謝にも悪影響を与えるような遺伝子は、がん悪液質治療の標的としては不適格である。

これらのことから、生理的状态における代謝には影響せず、担がん状態における代謝異常に対してのみ影響を与える宿主遺伝子の同定を試みた。その結果、その欠失が非担がんマウスに与える影響は小さいが、がん悪液質の表現型、特に脂肪の減少を緩和するような遺伝子を発見した。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、同定した新規因子ががん悪液質を制御する分子メカニズムを明らかにすることであった。また、本遺伝子がコードするタンパク質に対する阻害剤ががん悪液質を抑制できる可能性も探った。オミクスデータをもちいて、本遺伝子に依存しないような異常の探索にもとりくんだ。以上のことによって、一つの異常・因子に着目しつつ、全身的な異常のメカニズムを理解するための基盤を作ろうと考えた。

## 3. 研究の方法

上記の遺伝子の欠損がもたらす遺伝子や代謝物の変化のうち、どの変化が、どのように脂肪細胞に影響し、がん依存的な脂肪の減少を抑制するのか、ということ明らかにすることを目指した。具体的には、遺伝子欠失マウスに対するがん移植実験をおこなった。その上で、脂肪を採取し、その重量や遺伝子発現、代謝物の動態を調べた。遺伝子発現については、トランスクリプトームおよびqPCR実験の両方を活用した。さらに、3T3-L1細胞において当該因子をノックダウンした上で、脂質分解活性を測定する、という実験もおこなった。細胞培養実験においては、本因子の阻害剤をもちいた実験もおこなった。この時、3T3-L1細胞だけでなく、マウスに由来する初代脂肪培養も活用した。特に、本阻害剤の特異性を調べるために、本因子を完全に欠失させたマウスに由来する初代脂肪培養ももちいた。

## 4. 研究成果

まず、本遺伝子を完全に欠損させたマウスの脂肪において、遺伝子の発現量や代謝物の量を

測定した。本遺伝子がコードする酵素が制御する代謝物について幾つかの既報文献があったものの、本マウスにおいて、既報の変化のほとんどが認められなかった。これは、既報文献と的手法論の違いによると考えられた。既報文献では本因子をノックダウンしているが、本研究では本因子を欠失させている。この違いが代謝物への影響の違いの原因であると考えられた。一方、本酵素の欠失によって最も強く影響を受ける代謝物については、既報と合致する結果が得られた。当該代謝物は、本酵素の欠失によってほぼ完全に消失していた。以上の結果から、本遺伝子の機能阻害の影響を強く受ける代謝物を同定することに成功した。

次に、トランスクリプトーム解析によって本遺伝子の欠損が脂肪に与える影響を調べた。すると、本因子が脂肪の遺伝子発現に与える影響は、非担がん、担がんどちらの状態であっても小さいことがわかった。以上、遺伝子発現と代謝物量を測定する実験によって、この遺伝子が代謝・遺伝子発現に与える影響を明らかにすることができ、この遺伝子の欠失によってもたらされる表現型のメカニズムを考える基盤が整った。

本遺伝子の欠失はがん起因する脂肪の減少（分解）を抑制する。この遺伝子が脂肪分解を制御する可能性を検証するために、3T3-L1 細胞をもちいた。3T3-L1 細胞においては遺伝子のノックダウンが可能であり、しかも、脂肪細胞へと分化させ、脂質分解活性を測定することができる。そこで、本遺伝子を 3T3-L1 細胞においてノックダウンし、脂肪分解活性を測定した。すると、ノックダウンによって脂肪分解活性が低下することがわかった。対照群としてもちいた ATGL のノックダウンと比べると、活性の低下はややゆるやかではあった。以上の実験により、この遺伝子が脂肪分解を促進する遺伝子であることが判明した。

次に、本酵素の欠損によって消失する代謝物が脂質分解に関わる可能性を検証した。本酵素のノックアウト、欠損の両方で強い影響が現れるこの代謝物に脂質分解を促進する活性があるのではないかと考えて、脂肪分解アッセイにおいて本代謝物を投与したところ、本代謝物に脂質分解を促進する活性を認めた。以上のことから、本酵素が、この代謝物を介して脂肪の分解に関わっていると考えられた。

さらに、本酵素を標的とする阻害剤が脂質分解に与える影響を調べた。その結果、当該阻害剤に、脂質分解を抑制する活性があることがわかった。一方で、当該阻害剤の特異性に疑問符がつくデータも得られ、解釈には注意を要することもわかった。具体的には、本因子を欠失させたマウスの初代脂肪培養においても、この阻害剤の阻害活性が少なからず認められた。既報文献にはそのような情報は記載されておらず、本酵素の阻害剤を新規な遺伝子欠失マウスを活用して調べた論文として、がん悪液質の研究とは別に報告することを検討している。

以上をまとめると、本酵素が、前述の代謝物を介して脂質分解を促進し、がん悪液質を増悪させていると考えられた。現在、本成果をまとめ、がん悪液質に関する論文を作成中である。

重要なこととして、上記の研究の結果、数多くあるがん起因する異常のうち、本酵素に依存するものとそうでないものを切り分けることができた。本酵素に依存する異常に関する研究を推進することはもちろんであるが、後者の、依存しない異常についても、新たな責任因子を同定し、その機能を解明していきたいと考えている。

なお、研究期間中に、以下の原著論文および和文総説を出版した。(2) Enya et al. については、がん起因する不調について、特に肝臓に着目して新しい宿主因子を同定したものであり、本研究成果と補完して、がん悪液質研究を進展させるものであると考えている。(4) の和文総説では、がん悪液質をマルチオミクスの観点から捉え直すという視点を述べた。

1. Hojo, M.A., Masuda, K., Hojo, H., Nagahata, Y., Yasuda, K., Ohara, D., Takeuchi, Y., Hirota, K., Suzuki, Y., Kawamoto, H., and **Kawaoka, S\***. (2019). Identification of a genomic enhancer that enforces proper apoptosis induction in thymic negative selection. **Nat Commun** 10, 2603.
2. Enya, S., Kawakami, K., Suzuki, Y., and **Kawaoka, S\***. (2018). A novel zebrafish intestinal tumor model reveals a role for *cyp7a1*-dependent tumor-liver crosstalk in causing adverse effects on the host. **Dis Model Mech** 11.
3. 小西理予、河岡慎平. (2020). エンハンサーを利用した細胞の制御. **実験医学**. 38, 17:100-106.
4. 北條広朗、水野林、河岡慎平. (2020). マルチオミクスを活用したがん悪液質の理解. **実験医学**. 38, 8:1300-1305.

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 2件）

1. 著者名 Hojo MA, Masuda K, Hojo H, Nagahata Y, Yasuda K, Ohara D, Takeuchi Y, Hirota K, Suzuki Y, Kawamoto H, and *Kawaoka S	4. 巻 10
2. 論文標題 Identification of a genomic enhancer that enforces proper apoptosis induction in thymic negative selection	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2603
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-019-10525-1	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 Sora Enya, Koichi Kawakami, Yutaka Suzuki, Shinpei Kawaoka	4. 巻 11
2. 論文標題 A novel zebrafish intestinal tumor model reveals a role for cyp7a1-dependent tumor-liver crosstalk in causing adverse effects on the host.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Disease models & mechanisms	6. 最初と最後の頁 dmm032383
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1242/dmm.032383	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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 7件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 河岡慎平
2. 発表標題 エンハンサー遺伝学と多階層オミクス解析によりがんと宿主の関係性を紐解く
3. 学会等名 第42回 日本分子生物学会年会 ワークショップ「情報と生命の融合科学がもたらす変革;オミクス解析の限界を突破するために」(招待講演) (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shinpei Kawaoka
2. 発表標題 Dissecting significance of single gene expression rhythm via enhancer genetics and multi-omics analyses
3. 学会等名 The 20th International Conference on Systems Biology: Trans-omics workshop - The 3rd International symposium for trans-omics (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河岡慎平
2. 発表標題 がんが個体に悪影響を与える仕組み: がん悪液質 (Cachexia) の解明
3. 学会等名 第40回 阿蘇シンポジウム「がん、免疫、感染症研究のフロントライン」(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shinpei Kawaoka
2. 発表標題 Utilizing enhancer genetics to understand the mechanisms underlying cancer-dependent alteration in host organs
3. 学会等名 The 14th International Symposium of the Institute Network for Biomedical Sciences (招待講演)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 河岡慎平
2. 発表標題 エンハンサー遺伝学と多階層オミクス解析によりがんと宿主の関係性を紐解く
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会ワークショップ 情報と生命の融合科学がもたらす変革 オミクス解析の限界を突破するために (招待講演)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 河岡慎平
2. 発表標題 エンハンサー遺伝学とマルチオミクス解析による生命現象の理解
3. 学会等名 第93回日本生化学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 河岡慎平
2. 発表標題 がん起因する宿主の病態生理に関する研究
3. 学会等名 第38回 日本肥満症治療学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年～2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 北條広朗、水野林、河岡慎平	4. 発行年 2020年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 139
3. 書名 実験医学「マルチオミクスを使って得られた最新知見」	

1. 著者名 小西理予、河岡慎平	4. 発行年 2020年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 243
3. 書名 実験医学「新規の創薬モダリティ 細胞医薬」	

〔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