

令和 6 年 5 月 19 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02764

研究課題名（和文）腫瘍微小環境における鉄代謝の役割解明

研究課題名（英文）Elucidating the role of iron in tumor microenvironment

研究代表者

諸石 寿朗（Moroishi, Toshiro）

熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・教授

研究者番号：30647722

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：がん細胞は、その周囲に混在する免疫細胞や間質細胞などと共に、複雑な細胞社会を形成し、それが腫瘍微小環境と呼ばれている。この腫瘍微小環境では、様々な細胞が相互作用し、がんの進行に関与している。近年、この腫瘍微小環境における細胞間での代謝の変化が、がんの進行に影響する重要な要素であることが注目されている。一方、鉄は生体に必須の栄養素であり、様々な生命機能を制御しているが、腫瘍微小環境における鉄の役割はまだ十分に解明されていない。本研究課題では、腫瘍微小環境に存在する様々な細胞における鉄の重要性を調べた。その結果、腫瘍微小環境において鉄ががん細胞の成長や免疫応答に影響を及ぼすことが明らかにされた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

鉄は生体に必須の栄養素であり、軽度の不足は貧血を引き起こし、重度の不足では生命活動を維持できなくなる。一方、その過剰は神経変性疾患やがんに関連することも知られており、生体において鉄量のバランスを維持することは非常に重要である。本研究ではがん細胞の成長や免疫応答における鉄バランスの重要性を明らかにした。これらの研究成果は、鉄が腫瘍微小環境においてがん細胞や免疫細胞にどのように影響を与え、がんの進展にどう寄与していくかという学術的理解を深めるだけでなく、今回解明された分子機構を基盤に将来的な研究を進展させることで、がんに対する新たな治療法開発への一助となることも期待される。

研究成果の概要（英文）：Cancer cells, along with immune cells and stromal cells interspersed around them, form a complex cellular community known as the tumor microenvironment. Within this tumor microenvironment, various cells interact and play roles in cancer progression. Recently, changes in metabolism among cells within this tumor microenvironment have been recognized as important factors influencing cancer progression. While iron is an essential nutrient in living organisms, controlling various life functions, its role in the tumor microenvironment remains poorly understood. In this research project, we investigated the importance of iron in various cells present in the tumor microenvironment. As a result, we found that iron in the tumor microenvironment influences the growth of cancer cells and immune responses.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：鉄代謝 がん 免疫 腫瘍微小環境 炎症

1. 研究開始当初の背景

近年、多細胞生物においては細胞間で栄養素や代謝に関する競合が起き、これが生理的・病理的意義を持つことが明らかになってきた。例えば、がん細胞を破壊する役割のある CD8 陽性 T 細胞の活性化にはグルコース代謝が必要だが、腫瘍微小環境においては、がん細胞が糖を消費することにより近隣の T 細胞のグルコース代謝が十分に行われず、十分な抗腫瘍効果が発揮されない [Cell Metab. 26, 94-109 (2017)]。鉄は生体に必須の栄養素であり、様々な細胞活動に重要な影響を与えると考えられるが、腫瘍微小環境における鉄の役割やそれをめぐる細胞間の競合については、十分に明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究では、腫瘍微小環境を構成するがん細胞や免疫細胞、および正常細胞における鉄の役割を調べることにより、がんの進展における鉄の重要性を明らかにすることを目的とし、以下の研究目標を設定した（**図 1**）。

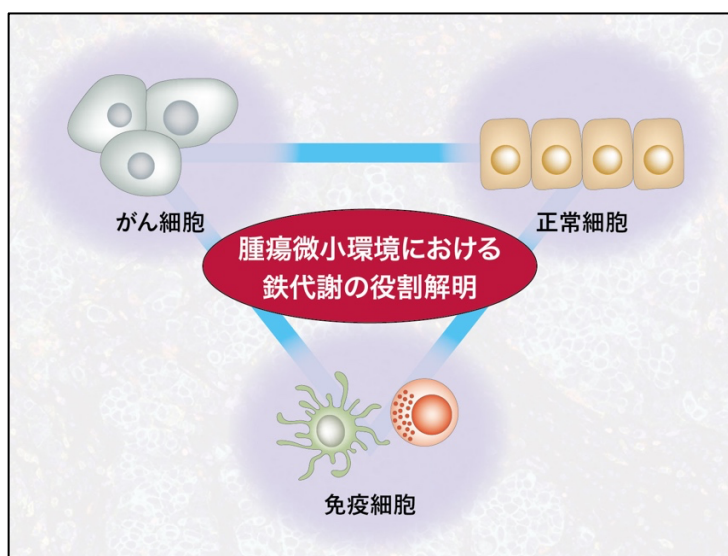


図 1：本研究の目的

1. 腫瘍微小環境における鉄代謝動態を調べる
2. がん細胞における鉄代謝の変容が腫瘍進展に及ぼす影響を調べる
3. がん細胞の周辺細胞における鉄代謝の変容が腫瘍進展に及ぼす影響を調べる

3. 研究の方法

(1) 腫瘍微小環境における鉄代謝動態を調べる

腫瘍微小環境を構成する細胞における鉄代謝の状態を調べるため、鉄を染色する Turnbull DAB 法や Perls DAB 法、および、蛍光プローブを使った細胞内遊離鉄の検出などを行なった。対象としては、過去に報告した鉄過剰による肝がん進展モデル [J. Exp. Med. 216, 950-965 (2019)] や各種シンジェニックマウスモデル、ヒト大腸がんの病理組織標本などを用いた。

(2) がん細胞における鉄代謝の変容が腫瘍進展に及ぼす影響を調べる

マウスシンジェニックがん細胞（LLC 肺がん）を用いて、鉄代謝制御因子 FBXL5 および IRP2 を欠損したノックアウト細胞を作出し、鉄代謝の変容が、がん細胞の増殖に及ぼす影響を in vitro および in vivo の実験系で調べた。

(3) がん細胞の周辺細胞における鉄代謝の変容が腫瘍進展に及ぼす影響を調べる

ヒト大腸がんの病理組織標本を用いた解析から、腫瘍微小環境に存在するマクロファージと鉄の関係性に注目した。これを調べるため、マクロファージを鉄過剰および鉄欠乏状態で培養し、その違いを RNA シーケンス解析により比較した。また、その違いがもたらされるメカニズムを調べた。

4. 研究成果

(1) 腫瘍微小環境における鉄代謝動態を調べる

マウス肝臓がんモデルの腫瘍微小環境において病理組織学的解析を行なったところ、鉄は周囲の間質を構成する細胞で多く、がん細胞では相対的に少ない染色パターンを示した。また、ヒト大腸がん病理組織標本を用いた解析では、マクロファージに鉄の蓄積が高い患者群では有意に予後が悪くなることがわかった。これらの結果から、がん細胞における鉄の役割と、マクロファージにおける鉄の役割にそれぞれ注目して研究を進めた。

(2) がん細胞における鉄代謝の変容が腫瘍進展に及ぼす影響を調べる

がん細胞における鉄と腫瘍進展の関係を調べた。ヒト肺がんの進展における鉄の役割には二面性があり、鉄の蓄積が肺がん進展を予防するという報告や、逆に、肺がんの進展を促進するという報告が混在している。そこで、肺がんの進展における鉄の役割の詳細を調べるため、鉄代謝制御に重要な FBXL5 および IRP2 遺伝子を欠損させた肺がん細胞を用いて研究を進めた。その結果、FBXL5 の欠損により細胞内の遊離鉄（細胞内で利用される 2 価の鉄）を過剰にした場合はがん細胞の増殖が抑制されるのに対し、IRP2 の欠損による遊離鉄の減少（一方、貯蔵鉄である

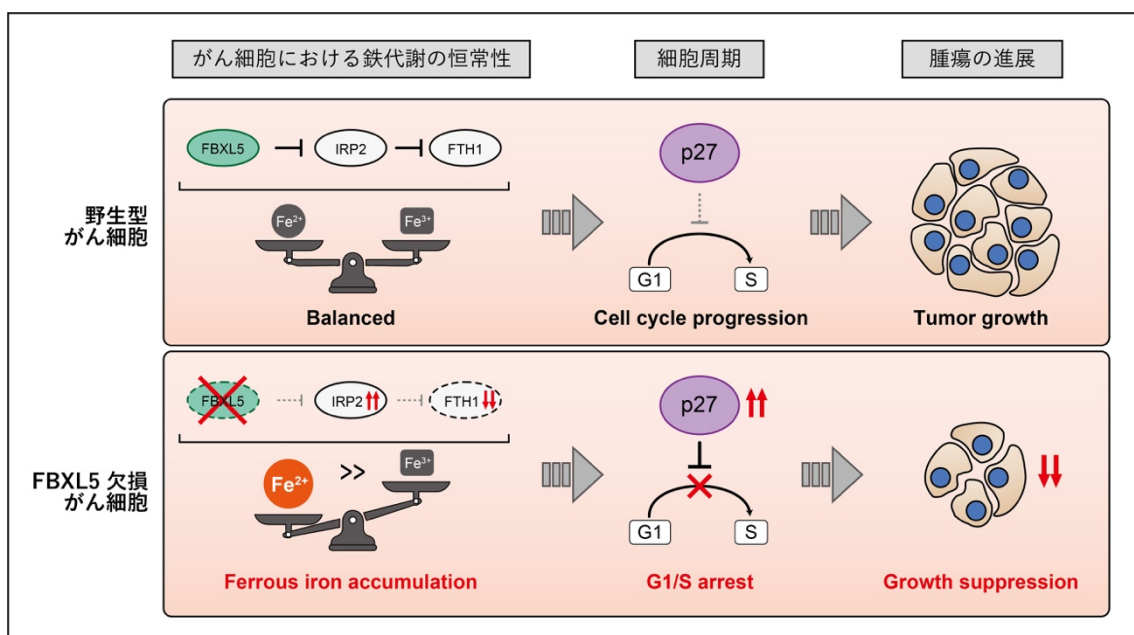


図 2 : がん細胞における鉄の役割 (Cancer Sci. 114, 4355-4364 (2023)より)

3 価の鉄は増加する) は、がん細胞の増殖に影響を与えないことを見出した。このメカニズムとして、肺癌細胞における遊離鉄の過剰が、細胞周期抑制因子 p27 の蓄積を介して細胞周期の G1 期から S 期への進行を遅延させることを明らかにした。このため、FBXL5 と p27 の両方を欠損する肺癌細胞では、遊離鉄の蓄積による肺癌細胞の増殖抑制が緩和された。また、マウスに移植した肺癌細胞も同様に鉄代謝の変容により腫瘍増殖が抑制されることがわかり、蓄積する鉄の価数が、鉄のがん進展への影響を理解する上で重要であることを明らかにした (図 2) [Cancer Sci. 114, 4355-4364 (2023)]。

(3) がん細胞の周辺細胞における鉄代謝の変容が腫瘍進展に及ぼす影響を調べる

歯周病の原因菌として知られるフソバクテリウム・ヌクレアタムという細菌は、大腸組織に存在すると大腸がんの進行を促進することが知られている。ヒト大腸がん病理組織標本を用いた解析から、フソバクテリウム・ヌクレアタムが腸内に感染した大腸がん患者では、全身の鉄量が多いと生存率が低下することを見出し、がん組織に蓄積した鉄が免疫細胞による炎症応答を増悪させ、がんの進行を早めることを明らかにした。このような患者では、大腸がん組織に存在するマクロファージに鉄の蓄積を認め、これにより炎症性サイトカインの産生が促進されることを in vitro の実験系にて明らかにした。さらに、このメカニズムとして、フソバクテリウム・ヌクレアタムの菌体表面に存在するリポ多糖に応答した転写因子 NFκB の活性化が、鉄欠乏条件下では減弱することを明らかにした (図 3) [JCI insight 7, e156802 (2022)]。

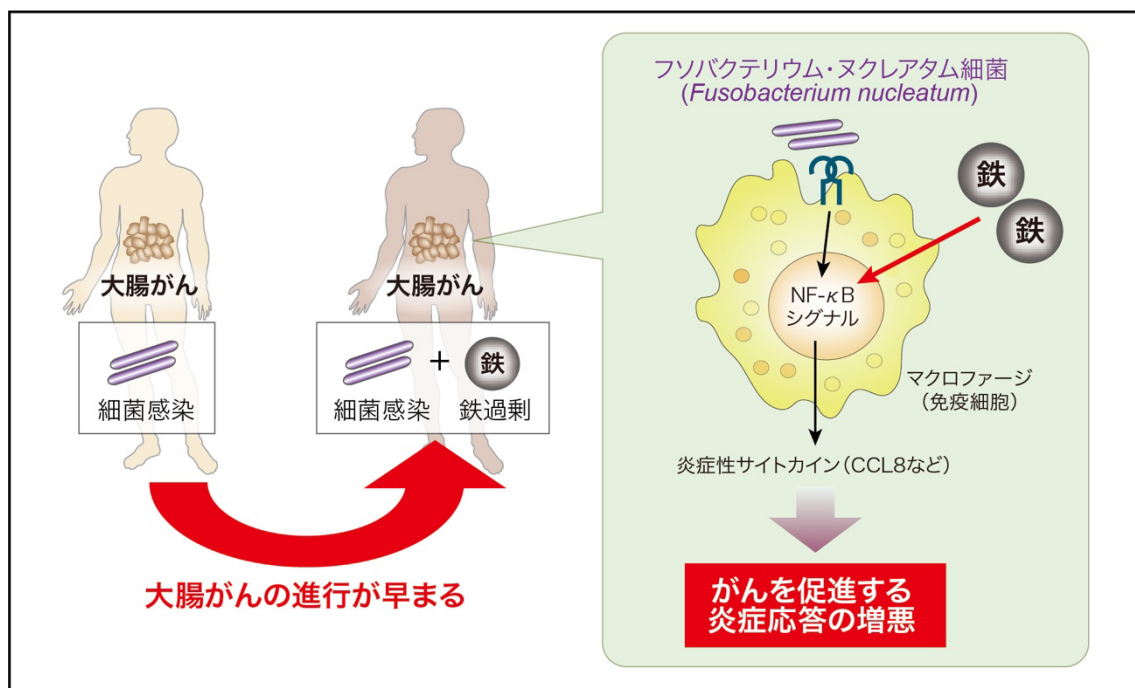


図 3 : がん周辺マクロファージにおける鉄の役割 (JCI insight 7, e156802 (2022) より)

(4) まとめ

以上の結果から、腫瘍微小環境における鉄の多彩な役割の一端が明らかとなり、腫瘍微小環境における鉄恒常性維持の重要性や、それをめぐる細胞間の相互作用に関する手掛かりが得られたと考えている。今後、多細胞生物における in vivo での鉄動態のより詳細な解析手法や、鉄動態の制御方法をさらに開発していくことにより、腫瘍微小環境における鉄代謝を標的とした新たながん治療法開発へと発展していくことが期待される。

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 Yamane, T., Kanamori, Y., Sawayama, H., Yano, H., Nita, A., Ohta, Y., Hinokuma, H., Maeda, A., Iwai, A., Matsumoto, T., Shimoda, M., Niimura, M., Usuki, S., Yasuda-Yoshihara, N., Niwa, M., Baba, Y., Ishimoto, T., Komohara, Y., Sawa, T., Hirayama, T., Baba, H., and Moroishi, T.	4. 巻 7
2. 論文標題 Iron accelerates Fusobacterium nucleatum-induced CCL8 expression in macrophages and is associated with colorectal cancer progression	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 e156802
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.156802	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 Hinokuma Hironori, Kanamori Yohei, Ikeda Koei, Hao Li, Maruno Masataka, Yamane Taishi, Maeda Ayato, Nita Akihiro, Shimoda Mayuko, Niimura Mayumi, Takeshima Yuki, Li Shuran, Suzuki Makoto, Moroishi Toshiro	4. 巻 114
2. 論文標題 Distinct functions between ferrous and ferric iron in lung cancer cell growth	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4355 ~ 4364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15949	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12件（うち招待講演 4件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Hao Li, Yohei Kanamori, Toshiro Moroishi
2. 発表標題 Hippo pathway controls ferroptosis sensitivity
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Asia: Iron, Reactive Oxygen Species & Ferroptosis in Life, Death & Disease (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Mayuko Shimoda, Mayumi Niimura, Yuki Takeshima, Chanida Thinyakul, Narumi Harada, Saisai Liu, Toshiro Moroishi
2. 発表標題 The effect of iron metabolism on antibody production of B cell
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前田 英仁、仁田 暁大、諸石 寿朗
2. 発表標題 生命システムの理解を深める鉄レポーターシステムの開発
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 諸石 寿朗
2. 発表標題 細胞の運命決定における鉄動態の役割
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 諸石 寿朗
2. 発表標題 鉄代謝の変容と細胞・組織への影響
3. 学会等名 BPCNP4学会合同年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金森耀平、諸石寿朗
2. 発表標題 傷害肝の修復に肝鉄動態が果たす意義
3. 学会等名 第33回日本微量元素学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前田英仁; 諸石寿朗
2. 発表標題 細胞内シグナルを介した鉄代謝調節因子FBXL5のリン酸化
3. 学会等名 第73回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taishi Yamane, Hiroshi Sawayama, Kosuke Mima, Masaaki Iwatsuki, Yoshifumi Baba, Takatusgu Ishimoto, Shiro Iwagami, Yuji Miyamoto, Naoya Yoshida, Toshiro Moroishi, Hideo Baba
2. 発表標題 The relationship between Fusobacterium nucleatum and iron in colorectal cancer
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山根大侍; 金森耀平; 江藤弘二郎; 原田和人; 澤山浩; 岩槻政晃; 岩上志朗; 馬場祥史; 宮本裕士; 吉田直矢; 諸石寿朗; 馬場秀夫
2. 発表標題 大腸癌微小環境におけるFusobacterium nucleatumと鉄の関係
3. 学会等名 第32回日本消化器癌発生学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hironori Hinokuma, Yohei Kanamori, Koei Ikeda, Hirokazu Hamasaki, Chika Shirakami, Eri Matsubara, Yoshinobu Osumi, Kosuke Fujino, Toshiro Moroishi, Makoto Suzuki
2. 発表標題 Dysfunction of FBXL5-mediated ferrous iron homeostasis suppresses lung cancer growth
3. 学会等名 2023 World Conference on Lung Cancer (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Masataka Maruno, Yo-hei Kanamori, Takashi Matsumoto, Yuta Shiraishi, Toru Takematsu, Tatsunori Miyata, Kosuke Mima, Shigeki Nakagawa, Hidetoshi Nitta, Hiromitsu Hayashi, Toshiro Moroishi, Hideo Baba
2. 発表標題 Intracellular ferritin expression levels regulate growth and resistance to ferroptosis in pancreatic cancer cell lines
3. 学会等名 AACR Annual Meeting 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 諸石寿朗
2. 発表標題 腫瘍微小環境におけるフェロフェイト
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>熊本大学 大学院生命科学研究部 分子薬理学講座 https://www.moroishi-lab.com</p>

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