

研究報告書
令和3年度：A課題

令和5年4月24日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田知光 殿

研究施設 神奈川県立がんセンター臨床研究所

住所 神奈川県横浜市旭区中尾 2-3-2

研究者氏名 佐藤 慎哉

(研究課題)

エピゲノムを介したがん微小環境における脂肪細胞分化制御機構の解明と、治療への応用

令和4年3月1日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたので報告いたします。

【目的】

がんは原発巣での増殖と共に、浸潤し生命維持に重要な臓器へ転移することにより死の転帰に至る。脂肪細胞は転移巣の多くに存在し、がんと接する。近年、がんの増殖を促進するタイプの脂肪細胞と、がんの増殖を抑制するタイプの脂肪細胞が報告されており、これらの機能の違いにエピゲノム機構の関与が示唆されている。本研究の目的は、エピゲノムを介した脂肪細胞分化制御機構、およびがん微小環境における脂肪細胞のがん進展に対する役割を明らかにし、がん抑制性脂肪細胞を増加させる治療法への応用を目指すことである。本研究では、骨髄脂肪細胞の分化に伴うヒストン修飾変化を初代培養細胞を用いて検索し、骨髄脂肪細胞が骨転移がんに与える影響を患者骨転移組織の解析により検討した。

【方法】

骨髄脂肪前駆細胞の脂肪分化誘導によるヒストン修飾変化：マウス骨髄から脂肪前駆細胞を採取し、1週間 high glucose DMEM+20%FBS 培地で培養後、分化誘導培地に暴露しヒストンマークの変化を観察した。同様の実験を通常酸素状態(20%)と低酸素状態(5%)で実験を行い、骨微小環境に近似する低酸素状態でのヒストンマーク変化を比較検討した。
骨転移病理組織を用いた骨微小環境における骨髄脂肪細胞の役割の検討：骨微小環境における骨髄脂肪細胞の役割を病理組織を用いて解析した。神奈川県立がんセンターの骨転移病理標本144症例を検討し、骨髄脂肪細胞と骨転移がんの相互作用が観察可能な骨浸潤先進部が標本中に観察可能な56症例を選出し、がん関連線維芽細胞マーカー(alpha-smactin, SPAR

C)、細胞傷害性 T リンパ球マーカー (CD8) を染色した。さらに骨転移巣・原発巣のがん組織から RNA を抽出し、RNA-seq を行った。

【結果】

マウス骨髄脂肪前駆細胞に分化培地を暴露し、24 時間後細胞から蛋白質を回収し、ヒストンマークを検索した。その結果、脂肪への分化誘導によりトリメチル化ヒストン H3K27, アセチル化ヒストン H3K9 の発現が低下しており、脂肪への分化誘導はヒストンマークの発現に変化を与えることが判明した。次に微小環境において骨髄脂肪細胞に対する骨転移がん細胞の浸潤先進部の形態学的特徴を、病理組織標本を用いて検討した。その結果、対照として設定した骨髄造血細胞と比較して、骨髄脂肪細胞が存在する浸潤先進部ではがん細胞が複雑な浸潤フロントを形成していることが判明した。さらに、骨髄脂肪細胞が存在する浸潤先進部では、がん関連線維芽細胞の密度上昇、CD8 陽性 T リンパ球の密度低下が観察された。形態学的特徴につき検討した。次に、原発巣と骨転移巣のがん組織を用いて RNA-seq を行い、原発巣と骨転移巣で発現変化する遺伝子群を検索した。その結果、腫瘍免疫回避・薬物療法抵抗性関連遺伝子群の発現が骨転移巣で有意に増加していた。またヒストンアセチル化・メチル化制御酵素の遺伝子発現を検討した結果、骨転移巣でヒストンメチル基転移酵素 EZH2 および、ヒストンアセチル化を制御する HDAC 遺伝子群の発現変化が観察された。

【考察・今後の展望】

骨髄前駆細胞の培養実験から、骨髄脂肪細胞の分化にヒストン修飾制御が重要であることが明らかとなった。また骨微小環境の組織解析・遺伝子発現解析により、骨髄脂肪細胞はがん関連線維芽細胞誘導、CD8 陽性 T リンパ球の密度低下により転移がんの生存・増殖・浸潤を促進する可能性が示唆された。さらに遺伝子発現解析により、骨転移巣のがん組織においてヒストン修飾制御酵素の遺伝子発現変化を認めたことから、骨髄脂肪細胞の分化制御に転移がんが関与する可能性を示した。本知見を基に、脂肪細胞をがん増殖抑制性の表現型へ分化誘導するエピゲノム機構を解明し、脂肪細胞を標的とする治療法の確立を目指す。

【発表論文】

1. Sato S*, Hiruma T, Koizumi M, Yoshihara M, Nakamura Y, Tadokoro H, Motomatsu S, Yamanaka T, Washimi K, Okubo Y, Yoshioka E, Kasajima R, Yamashita T, Kishida T, Yokose T, Miyagi Y.
Bone marrow adipocytes induce cancer-associated fibroblasts and immune evasion, enhancing invasion and drug resistance.
Cancer Sci, 2023 Mar 14. Online ahead of print.
2. Ota Y, Sato S*, Yoshihara M, Nakamura Y, Miyagi E, Miyagi Y. A practical spatial analysis method for elucidating the biological mechanisms of cancers with abdominal dissemination in vivo.
Sci Rep, 12 (1), 20303, 2022

【謝辞】

本研究遂行のために多大なるご支援を賜りました、公益法人がん研究振興財団に深謝致します。