

令和元年6月19日

各報道機関文教担当記者 殿

がん抑制遺伝子「RB1」ががんの悪性進展を制御する 新しいメカニズムを解明

金沢大学がん進展制御研究所の高橋智聡教授，金沢大学医薬保健学総合研究科博士課程4年の李鳳凱（り・ほうがい），ハーバード大学ダナ・ファーバー癌研究所の北嶋俊輔博士研究員，David A. Barbie（デイビッド・バービー）助教，金沢大学がん進展制御研究所の河野晋特任助教，向田直史教授らの国際共同研究グループは，**がん抑制遺伝子であるRB1が，がんの悪性進展を制御する新しいメカニズムを解明しました。**

RB1は細胞周期のG1期からS期の進行を制御することによって発がんを抑制するがん抑制遺伝子とされています。しかし，RB1の不活性化が発がんにつながるがんは限定的で，大半のがんでは，がんが悪性化する過程においてRB1の不活性化が観察されます。本研究グループは，これまで，RB1の不活性化がどのようなメカニズムでがんの悪性化を進展させるのかを研究してきました。

本研究では，がん悪性進展モデルの解析により，RB1の不活性化が，ケモカイン（※1）の一種であるCCL2の発現を亢進することによって，種々の免疫細胞および血管細胞に働きかけ，腫瘍細胞を取り巻く環境「腫瘍微小環境」を腫瘍細胞の増殖に有利な状況へと改編することを見いだしました。また，CCL2の発現の制御に，AMPKという代謝を司る分子の活性制御や脂肪酸酸化（※2）が関わっていることを明らかにしました。さらに，CCL2あるいはその受容体であるCCR2の機能を抑制することにより，RB1が不活性化したときに起こる発がんや悪性進展を抑制できることを示しました。

本研究成果は，**がんの悪性進展時にRB1が不活性化するさまざまながんに対してCCL2あるいはCCR2の阻害剤が有効である可能性を示唆しており，将来の臨床応用の道を拓くことが期待されます。**

本研究成果は，2019年6月12日（米国東海岸標準時間）に米国科学雑誌『*Cancer Research*』のオンライン版に掲載されました。

【研究の背景】

RB1 は、網膜芽細胞腫という小児がんの一種を家系性に発症する患者さんの遺伝子の解析によって発見され、細胞周期の G1 期から S 期の進行を制御することによって発がんを抑制するがん抑制遺伝子とされています。しかし、RB1 の不活性化が発がんにつながるがんは網膜芽細胞腫、骨肉腫、小細胞肺癌などに限定されており、大半のがんでは、がんが悪性化する過程において RB1 の不活性化が観察されます。実際、本研究グループを含む多数の研究グループが、さまざまな実験系を用いて、がんの悪性進展過程において頻繁に起こる RB1 の不活性化が、がんの転移や浸潤、上皮間葉転換 (※3)、幹細胞性獲得、薬剤耐性獲得などのさまざまな悪性形質の獲得に寄与することを明らかにしてきました。本研究では、RB1 の不活性化がどのようなメカニズムでがんの悪性化を進展するのかを探索しました。

【研究成果の概要】

本研究ではまず、がん抑制遺伝子「p53」をあらかじめ欠失させたマウスから高分化型の軟部肉腫細胞株を作製した上で、さらにこの細胞株の RB1 の発現を低下させることによって低分化度・高悪性度の軟部肉腫を誘導する実験モデル細胞を樹立しました。この実験モデル細胞をマウスの体内に移植して腫瘍を形成させ、RB1 がある時とない時でどのような違いがあるかを調べました。その結果、RB1 がない時ではある時に比べてより多くの血管が腫瘍内に入り込むことが分かりました。血管が腫瘍内に入り込むことは、酸素の拡散を促進するため、腫瘍の増殖に有利な環境になります。この機構を詳しく調べていくと、RB1 がない時は、より多くの免疫細胞が腫瘍内に入り込み、血管増殖因子 (VEGF) を放出している可能性があることが分かりました。このような免疫細胞は腫瘍の増殖を直接助けたり、腫瘍を攻撃する免疫応答を鎮めたりする役割がある、マクロファージ (※4) や骨髄由来免疫抑制細胞 (Myeloid-derived suppressor cells; MDSC) (※5)、抑制性 T 細胞 (Treg) (※6) を含んでおり、これらの細胞の遊走を促進するケモカインが、RB1 がない腫瘍から大量に分泌されると予想しました。このように、RB1 をなくした腫瘍を取り巻く環境「腫瘍微小環境」は、RB1 があるときよりも劇的に変化していることが分かりました。

次に、RB1 をなくした腫瘍細胞において発現が上昇する遺伝子を RNA シーケンス法 (※7) を用いて調べました。すると、CCL2 というケモカインの発現が特に高くなることが分かり、上記の予想と合致しました。そこで、CCL2 を全身で欠くマウスに腫瘍を移植し、腫瘍から分泌される CCL2 のみの血中濃度を測定すると、RB1 をなくした腫瘍からはより高濃度の CCL2 が分泌されることが分かりました。また、RB1 をなくした腫瘍において CCL2 の分泌を人為的に止めると、腫瘍がさまざまな免疫細胞を集めて血管を呼び込む能力が顕著に抑制されることも判明しました。さらに、CCL2 の受容体である CCR2 を全身で欠くマウス、すなわち免疫細胞が CCL2 に反応しなくなっているマウスに RB1 をなくした腫瘍を移植すると、RB1 をなくしたことの効果が出なくなることが分かりました。以上のことは、RB1 が CCL2 の発現を制御することにより、CCR2 を持つ免疫細胞に働きかけ、腫瘍を取り巻く微小環境を改編することを示しました (図 1)。

さらに、がん細胞株を用いた実験により、RB1 と CCL2 の関係は、肉腫だけでなく、乳がんにおいても成り立つことが分かりました。RB1 が保たれているさまざまな乳がんにおいて RB1 の発現を低下させると、CCL2 の発現が亢進しました。マウスの乳腺上皮において RB1 を欠失させると、過形成という前がん病変ができ、この病変部位にはマクロファージが集積します。しかし、この前がん病変を示すマウスにおいて CCR2 を欠失させると、マクロファージが集まらないだけでなく、この過形成が全く起こらなくなることが分かりました。

最後に、RB1 が CCL2 の発現を制御する分子メカニズムを探索しました。まず、RB1 をなくすと、代謝制御を司るタンパク質 AMPK のリン酸化が亢進し、活性化することが分かりました。また、このリン酸化した AMPK が脂肪酸酸化を押さえるタンパク質 ACC をリン酸化することによって不活性化することで、脂肪酸酸化が亢進することが分かりました。脂肪酸酸化が亢進すると、ミトコンドリアから産生される活性酸素の量が増え、シグナル伝達タンパク質 JNK が活性化します。活性化した JNK は、CCL2 や、種々の生理活性タンパク質サイトカイン（※8）やケモカインの発現レベルを上昇させることが分かっています。以上より、RB1 の不活性化が AMPK のリン酸化を上昇させ、脂肪酸酸化を亢進することでミトコンドリアから産生される活性酸素量を増加させ、シグナル伝達タンパク質である JNK の働きによって CCL2 の発現を亢進させるという経路が明らかになりました（図 2）。

【今後の展開】

本研究により、がんの悪性進展の過程で RB1 の働きがなくなると、CCL2 の分泌が上昇し、CCR2 を持つさまざまな免疫細胞に働きかけ、腫瘍を取り巻く環境「腫瘍微小環境」を腫瘍の増殖に有利な方向に改編することが解明されました。さらに、CCL2 あるいはその受容体である CCR2 の働きを止めることで、RB1 の働きが失われることによるがんの悪性化の相当の部分が抑制されることも明らかになりました。今後、CCL2 あるいは CCR2 の阻害剤を RB1 の働きを失ったがんの治療に使用するための研究が進展することが期待されます。

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業、文部科学省科学研究費補助金新学術領域「細胞競合」、武田科学振興財団「ビジョナリーリサーチ継続助成（ホップ）（平成 22 年度・平成 23 年度）、第 6 回北陸銀行若手研究者助成金、平成 25 年度若手研究者戦略的海外派遣事業費補助金（頭脳循環を加速する若手研究者戦略的海外派遣プログラム）の支援を受けて実施されました。

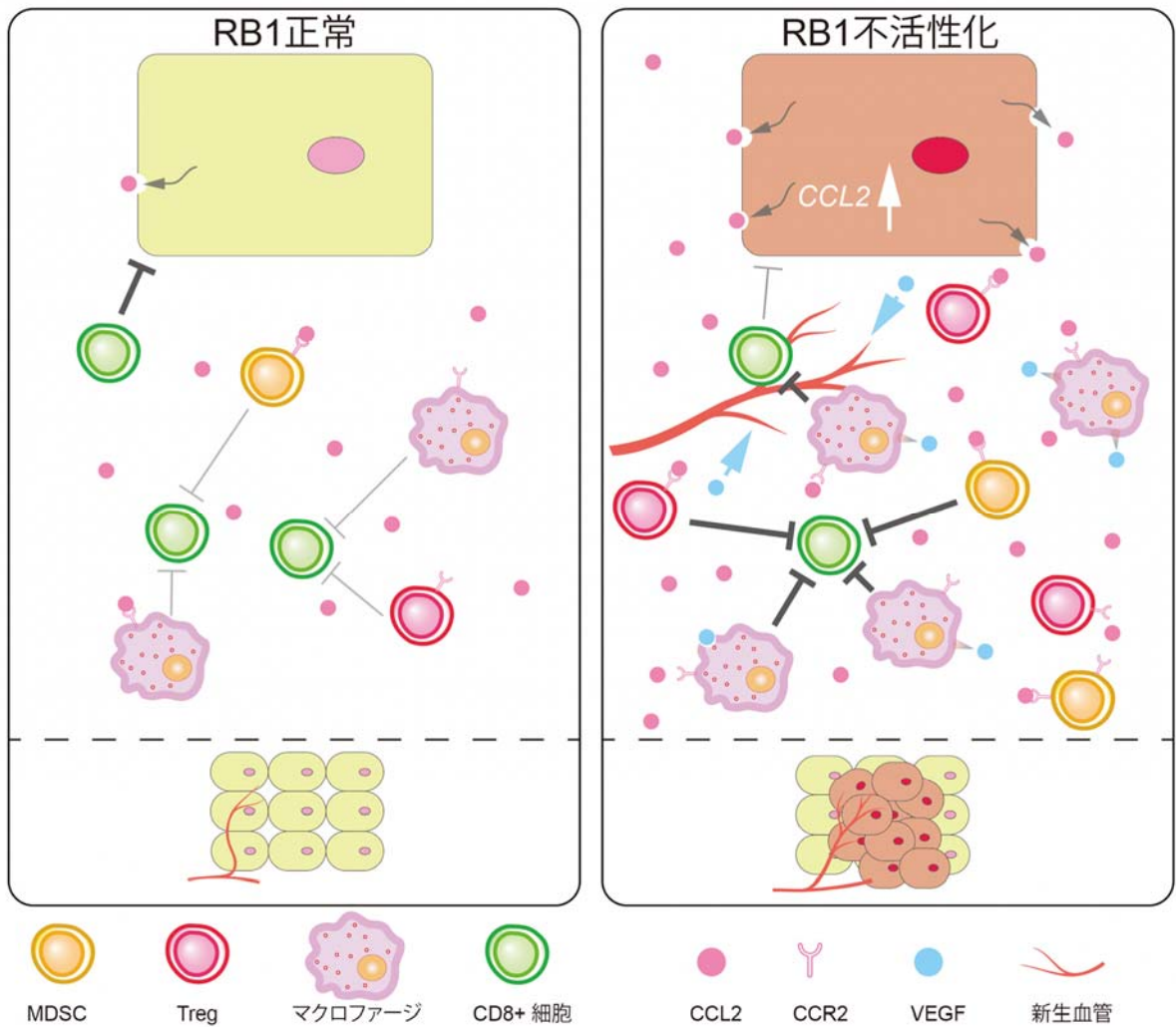


図 1. RB1 不活性化による腫瘍微小環境の変化

RB1 が不活性化すると、CCL2 の分泌が増加し、さまざまな免疫細胞の遊走を促進し、血管新生を促す。

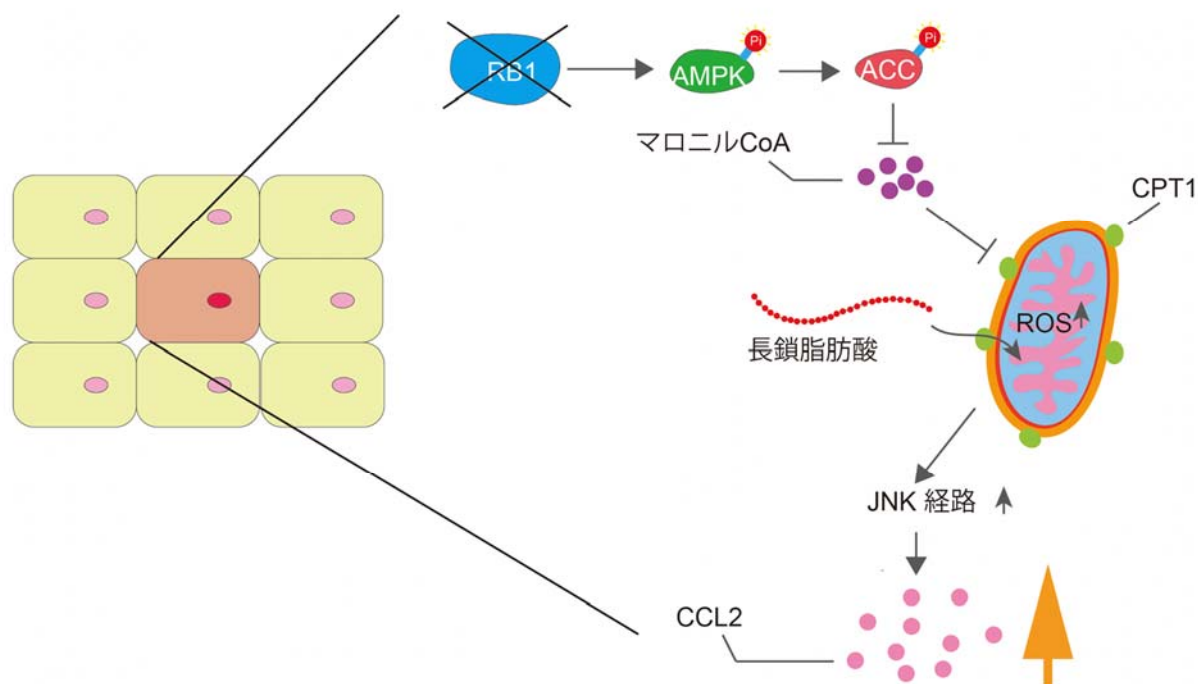


図 2. RB1 の不活性化が CCL2 の発現を亢進させる分子メカニズム

RB1 の不活性化が AMPK のリン酸化を制御して脂肪酸酸化を亢進することにより、ミトコンドリアから産生される活性酸素量を増加させ、シグナル伝達タンパク質である JNK の働きによって CCL2 の発現を亢進する。

【掲載論文】

雑誌名：Cancer Research

論文名：Retinoblastoma inactivation induces a protumoral microenvironment via enhanced CCL2 secretion

(RB の不活性化は CCL2 の発現亢進によって腫瘍に有利な微小環境を誘導する)

著者名：Li Fengkai, Kitajima S, Kohno S, Yoshida A, Tange S, Sasaki S, Okada N, Nishimoto Y, Muranaka H, Nagatani N, Suzuki M, Masuda S, Thai T C, Nishiuchi T, Tanaka T, Barbie D A, Mukaida N and Takahashi C

(李鳳凱, 北嶋俊輔, 河野晋, 吉田晶代, 丹下正一郎, 佐々木宗一郎, 岡田宣宏, 西本裕希, 村中勇人, 永谷直子, 鈴木美砂, 増田小百合, ツァイ・トラン, 西内巧, 田中知明, バービー・デイビッド, 向田直史, 高橋智聡)

掲載日時：2019年6月12日(米国東海岸標準時間)にオンライン版に掲載

URL：<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-3604>

【用語解説】

※1 ケモカイン

白血球などの遊走を引き起こし炎症などの形成に関与する分泌タンパク質群のこと。

※2 脂肪酸酸化

脂肪酸を酸化し得られた代謝物質「アセチル CoA」をクエン酸回路に送り、エネルギーを作り出す代謝経路の一つ。

※3 上皮間葉転換

細胞極性や周囲細胞との細胞接着機能を有する上皮系細胞が、その機能を失って、浸潤能を得ることで間葉系細胞へと変化するプロセス。がんの転移や薬剤耐性獲得との関連が報告されている。

※4 マクロファージ

死んだ細胞や細菌，異物などを貪食する細胞の一種。腫瘍随伴マクロファージは，がん細胞を助けることが知られる。

※5 骨髄由来免疫抑制細胞

顆粒球，樹状細胞，マクロファージなどの前駆細胞であるとされ，免疫応答を抑制する細胞の一種。

※6 抑制性 T 細胞

免疫応答を抑制するさまざまな働きを制御する T 細胞の一種。

※7 RNA シーケンス法

RNA の配列を DNA に逆転写し，DNA の配列を次世代シーケンサーを用いて決定することによって RNA の発現を定量する方法。

※8 サイトカイン

細胞から分泌され特定の生理活性を示す低分子タンパク質群。

【本件に関するお問い合わせ先】

■ 研究内容に関すること

金沢大学がん進展制御研究所 教授

高橋 智聡（たかはし ちあき）

TEL：076-264-6750 または 6752

E-mail：chtakaha@staff.kanazawa-u.ac.jp

【広報担当】

金沢大学総務部広報室広報係

嘉信 由紀 (かしん ゆき)

TEL : 076-264-5024

E-mail : koho@adm.kanazawa-u.ac.jp

金沢大学医薬保健事務部薬学・がん研支援課企画総務係

永平 智子 (ながひら ともこ)

TEL : 076-264-6858

E-mail : y-somu@adm.kanazawa-u.ac.jp