

好中球を介した腎がん肺転移メカニズムの解明
～ エピゲノムを標的とした新しい治療の可能性 ～

1. 発表者：

- 江幡 正悟（東京大学環境安全研究センター 准教授／
東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 分子病理学分野 兼担）
西田 純（東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 分子病理学分野 特任研究員
：研究当時／Dana-Farber Cancer Institute, Postdoctoral Research Fellow：現在）
宮園 浩平（東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 分子病理学分野 教授）
鯉沼 代造（東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 分子病理学分野 准教授）
高橋 恵生（東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 分子病理学分野 助教／
MD 研究者育成プログラム室）
田村 佑介（東京大学大学院医学系研究科 分子病理学分野 博士課程 3 年生／
日本学術振興会 特別研究員）
宮國 昂介（東京大学大学院医学系研究科 分子病理学分野 博士課程 1 年生）
桃井 悠作（東京大学医学部 医学科 4 年生）

2. 発表のポイント：

- ◆進行した腎がんでは、腎がん細胞は腫瘍内在性炎症（注 1）を引き起こして好中球を活性化し、好中球の助けを得て肺に転移することが明らかになった。
- ◆腫瘍内在性炎症のメカニズムとして、スーパーエンハンサー（注 2）形成などのエピゲノム制御機構（注 3）によって、ケモカイン（注 4）が強力につくられていることが一因となることを見出した。
- ◆BET 阻害剤（注 5）によりスーパーエンハンサーの活性を減弱させることで、腎がん細胞の肺転移が抑制されたことから、この薬剤が腎がんの新たな分子標的治療薬として期待される。

3. 発表概要：

腎がんは、画像診断技術の向上から早期診断が可能になり、罹患数が年々増加しています。転移を有する進行腎がんの症例には、分子標的治療薬も使用されるようになっていますが、その治療成績は十分ではありません。腎がんの進展・転移の分子メカニズムが解明され、新たな治療法が確立されることが課題になっています。

このような現状で、東京大学大学院医学系研究科の西田純特任研究員（研究当時）、江幡正悟准教授、宮園浩平教授らの研究グループは、腎同所性移植法を用いて進行腎がんを再現し、がん細胞の性質を調べることで、腎がん肺転移の分子メカニズムの解明を試みました。その結果、進行腎がんのがん細胞は、ケモカインを強力につくりだすことで炎症を引き起こし、活性化された好中球が肺転移の成立に重要な働きをしていることをつきとめました。また、そのケモカインの産生には、スーパーエンハンサーを介したエピゲノム制御機構が関与することを見出しました。同時に、スーパーエンハンサーの活性を減弱させる BET 阻害剤を用いることで、マウスにおいて腎がん肺転移が抑制されることを発見し、この薬剤の有用性を実証しました。

この成果に基づき、腎がんの新たな治療法が創出されることが期待されます。本研究成果は「Nature Cell Biology」オンライン版に掲載されます。

4. 発表内容：

<研究の背景>

腎がんは、世界において成人の罹患するがんのうち2~3%を占めています。無症候で進展するがんとしても知られ、診断時に転移性腫瘍を有する症例は30%以上に上ります。主な組織型は淡明細胞型腎細胞がんであり、肺、骨、脳あるいはリンパ節に転移します。早期腎がん症例は鏡視下手術もしくは開放手術による根治的腎摘除術が奏功し、良好な治療成績が得られています。一方、転移を有する進行腎がんの症例に対しては、分子標的治療薬も使用されていますが、その治療成績は改善の余地が残されています。腎がんの進展・転移の詳細な分子メカニズムが解明され、新たな治療法が確立されることが課題になっています。

進行腎がんの症例に対する分子標的治療薬としては、血管新生阻害剤やチロシンキナーゼ阻害剤などが挙げられます。また一部の腎がんでは分子標的治療薬の登場以前よりサイトカイン療法が奏功することが知られ、近年でも免疫チェックポイント阻害剤が著効を示す場合があることが明らかとなっています。こういった事実から腎がんではがん微小環境（注6）に存在する血管内皮細胞や免疫細胞などが、がんの進展に密接に関わることが想定され、これらの細胞とがん細胞との関連性を理解することで、腎がんの新しい治療法の創出につながることを期待されています。

<研究手法と成果>

本研究ではヒト腎がん細胞（親株）をマウスの腎臓に移植する腎同所性移植法を用いて、がん微小環境に十分曝露された新しい腎がん細胞（亜株）を樹立し、その形質を解析することで新しい治療標的の探索を行いました。樹立した亜株を改めてマウスに移植すると、親株より早く腎臓のがんをつくり、さらに肺に転移したことから、この亜株は進行腎がんのモデル細胞となることが確認されました。興味深いことに、亜株で形成された原発腫瘍や肺転移の組織を観察すると、白血球の中でも好中球が多く浸潤していたことから（図1）、亜株は腫瘍内在性炎症を誘発する形質を有していることがわかりました。

そこで、この腫瘍内在性炎症が腎がんの進展の鍵を握ると予想し、その作用の解明に取り組みました。好中球数を減少させる抗体を用いた実験から、亜株は好中球に依存して肺に転移することがわかりました。またそのメカニズムとして、腫瘍内在性炎症によって活性化した好中球が、あたらしく血管をつくる作用、がん細胞の肺への生着を促進させる作用など、転移の成立に重要なプロセスに深く関与していることもわかりました。また一方で、この腫瘍内在性炎症を誘発する形質は亜株に特有のものであり、親株では認められなかったことから、この形質の獲得にあたって、がん微小環境が重要な役割を担っていることが確認されました。

次に、亜株と親株の遺伝子発現を比較し、腫瘍内在性炎症を誘発している制御因子を探索しました。次世代シーケンサーを用いた解析から、亜株ではCXCL1、CXCL2、CXCL5、CXCL8といった好中球の動態を制御する複数のケモカインの発現が同時に上昇していることがわかりました。また、これらの遺伝子のゲノム領域近傍には、スーパーエンハンサーとよばれる特徴的な遺伝子制御領域が形成されていることが観察され、こうしたエピゲノム制御機構が亜株による腫瘍内在性炎症の誘発に重要であると予想されました（図2）。実際の臨床症例においても、上記の複数のケモカインが同時に高発現している症例が、低発現症例や単一発現症例と比較して予後不良であることがわかりました。

上記のスーパーエンハンサー領域には、アセチル化ヒストンのリーダータンパクであるプロモドメインタンパク質の高度な結合が見られました。そこでこのタンパク質を標的とするBET阻害剤を用いて治療効果を検証しました。亜株にBET阻害剤JQ1を加えたところ、CXCL1、

CXCL2、CXCL5、CXCL8 の遺伝子発現が一様に低下することがわかりました。さらに亜株を移植したマウスに対して、BET 阻害剤による治療を試みたところ、原発腫瘍中に存在する好中球および新生血管が減少し、さらに肺転移が抑制されることが確認されました（図3）。

本研究では、腎がんの進展において、その役割が明らかでなかった腫瘍内在性炎症に着目しました。今回の研究の結果から、がん微小環境との相互作用によって、腎がん細胞では好中球の動態を制御する遺伝子にエピゲノム変化が生じ、腫瘍内在性炎症が誘導されていることがわかりました（図4）。また、好中球依存的に腎がん細胞が肺に転移することがわかりました。さらに BET 阻害剤を用いてこのエピゲノム制御機構を減弱することで、腫瘍内在性炎症が抑制され、腎がんの肺への転移を抑えられることが示されました。新たな腎がんの治療標的分子が同定されたとともに、BET 阻害剤を免疫チェックポイント阻害剤など他の分子標的治療薬と併用することで、相加相乗的な治療効果も期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「Nature Cell Biology (ネイチャー・セル・バイオロジー)」 (2020年3月23日オンライン)

論文タイトル：Epigenetic remodelling shapes inflammatory renal cancer and neutrophil-dependent metastasis

著者：Jun Nishida, Yusaku Momoi, Kosuke Miyakuni, Yusuke Tamura, Kei Takahashi, Daizo Koinuma, Kohei Miyazono*, and Shogo Ehata*

DOI 番号：10.1038/s41556-020-0491-2

アブストラクト URL：<https://www.nature.com/articles/s41556-020-0491-2>

6. 問い合わせ先：

東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 分子病理学分野
准教授 江幡 正悟 (えはた しょうご)

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

Tel: 03-5841-3356 Fax: 03-5841-3354

E-mail: ehata-jun@umin.ac.jp

7. 用語解説：

(注1) 腫瘍内在性炎症

がん細胞自身がサイトカインやケモカインなどの炎症関連因子を放出することによって生じる腫瘍促進的な炎症のこと。炎症関連因子によって遊走あるいは活性化した免疫細胞は、原発腫瘍あるいは遠隔臓器においてがん細胞の増殖や転移を促進します。また、これらの免疫細胞は化学療法に対する抵抗性などにも関与するとされています。

(注2) スーパーエンハンサー

転写因子が結合して遺伝子発現量の調節を行うゲノム領域をエンハンサーと呼びます。その中でも、エンハンサーが広範にわたって活性化している領域はスーパーエンハンサーとして定義されます。スーパーエンハンサーは細胞のアイデンティティを決定する遺伝子の転写調節に深く関わるとも報告されています。

(注3) エピゲノム制御機構

ゲノムに加えられた修飾、もしくはゲノムに修飾を加えて遺伝子発現を調節する仕組みのこと。細胞がゲノムに記録された遺伝情報を、必要な時期に、必要な場所で、必要な量だけ発現させるための仕組みです。

(注4) ケモカイン

細胞を遊走させる活性を持つ生理化学物質の一群のこと。特に白血球の遊走活性を制御し、炎症や免疫に重要な役割を担います。現在までに 50 以上にも及ぶケモカインが知られています。

(注5) BET 阻害剤

BET は Bromodomain and extraterminal domain の略称。BET 阻害剤はアセチル化修飾を受けたタンパク質に結合する機能を持つブロモドメインタンパク質の機能を阻害します。主な阻害剤として、米国 Dana-Farber Cancer Institute で開発された JQ1 が知られています。

(注6) がん微小環境

がん組織やがん細胞が存在する領域において、がん細胞を取り巻く環境を指します。血管内皮細胞、線維芽細胞、免疫細胞などといった細胞や、細胞外マトリクスなどによって構成されています。

8. 添付資料：

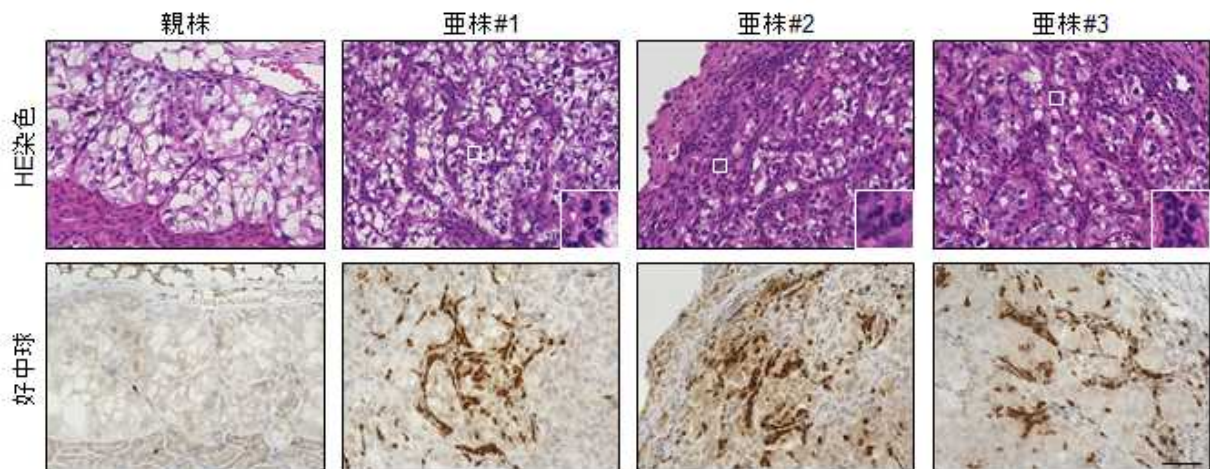


図1 腎がん細胞移植により形成された原発腫瘍組織の組織学的観察

進行腎がんのモデル細胞（亜株）では親株と比較して、原発腫瘍組織中への好中球浸潤が見られました。

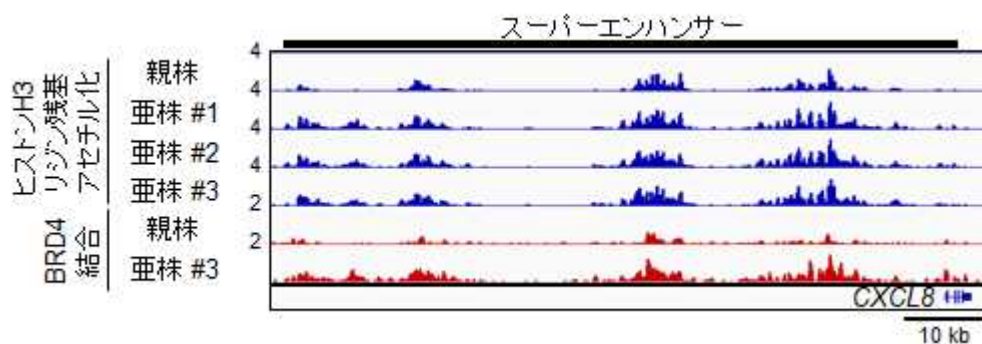


図2 腎がん細胞のケモカイン遺伝子コード領域におけるヒストン修飾

亜株では *CXCL8* コード領域近傍では広範に渡って活性化されたエンハンサー領域が見られました。さらなる解析によって、この領域がスーパーエンハンサーとして定義されること、プロモドメインタンパク質である BRD4 の結合が見られることがわかりました。

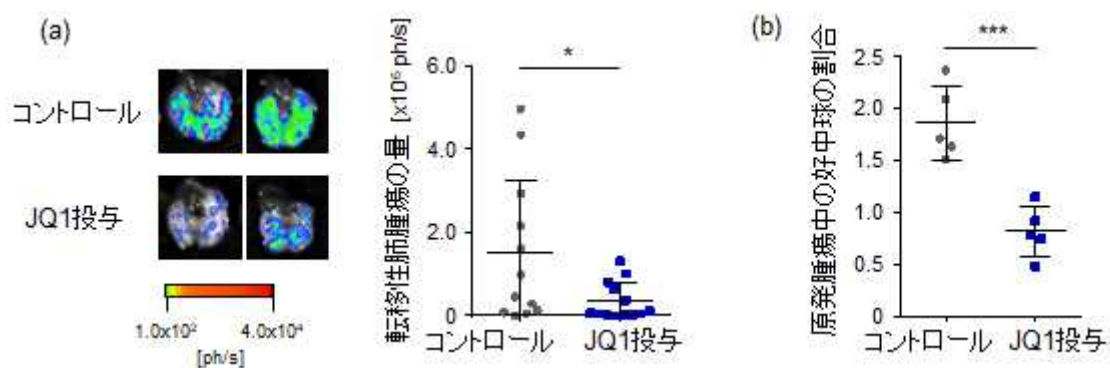


図3 腎がん細胞亜株の肺転移に対する BET 阻害剤の効果

BET 阻害剤 JQ1 の投与によって肺転移の形成(a)と原発腫瘍中の好中球量(b)が抑えられました。

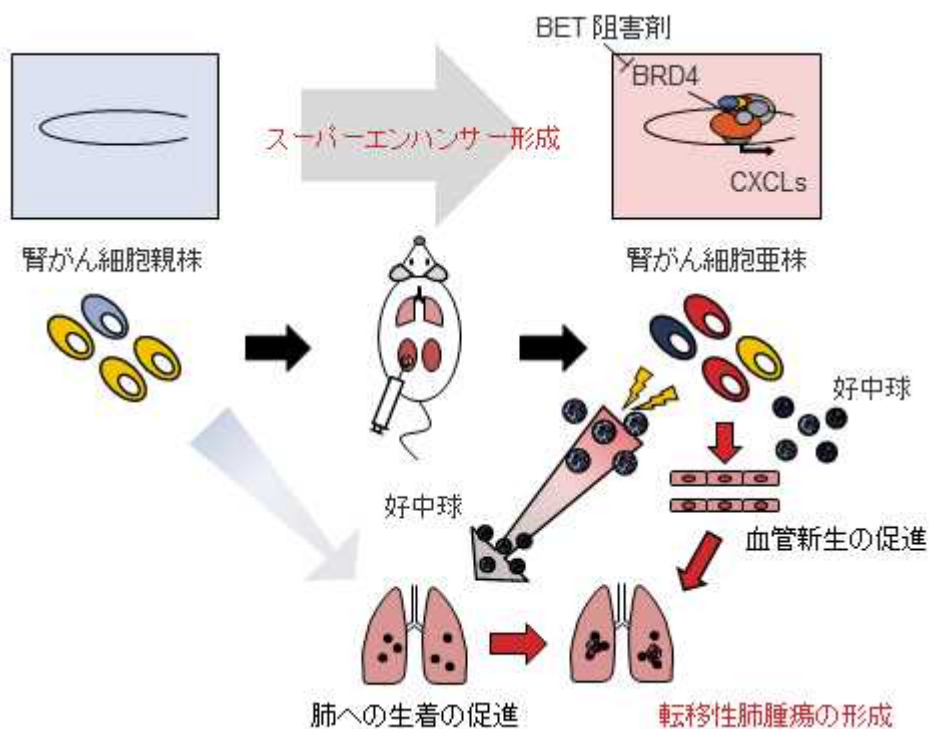


図4 本研究の概略図

同所性移植モデルを用いることによって、進行腎がんにおける腫瘍内在性炎症とその転移促進作用を明らかにしました。また腫瘍内在性炎症を制御するエピゲノム機構をターゲットとした新たな治療法を提案しました。