

2024年9月9日

国立大学法人東京大学医科学研究所
国立大学法人金沢大学がん進展制御研究所
公立大学法人福島県立医科大学
国立研究開発法人日本医療研究開発機構

老化細胞除去は膀胱癌治療の新たな戦略

— 癌内部の老化がん関連線維芽細胞は膀胱癌の進行を助長することを発見 —

発表のポイント

- ・膀胱組織内に存在する p16 陽性老化線維芽細胞は、膀胱腫瘍形成後に腫瘍内でがん関連線維芽細胞としてケモカインである CXCL12 を分泌し、膀胱癌の進行を助長することを発見しました。
- ・ p16 陽性細胞除去を可能とする遺伝子改変マウスを使用した p16 陽性細胞除去や、既存の老化細胞除去薬の投与により、マウスに移植した膀胱癌の進行が抑制されることを見出しました。
- ・今後、膀胱癌内部の老化がん関連線維芽細胞を標的とする新たな膀胱癌の治療薬の開発が期待されます。

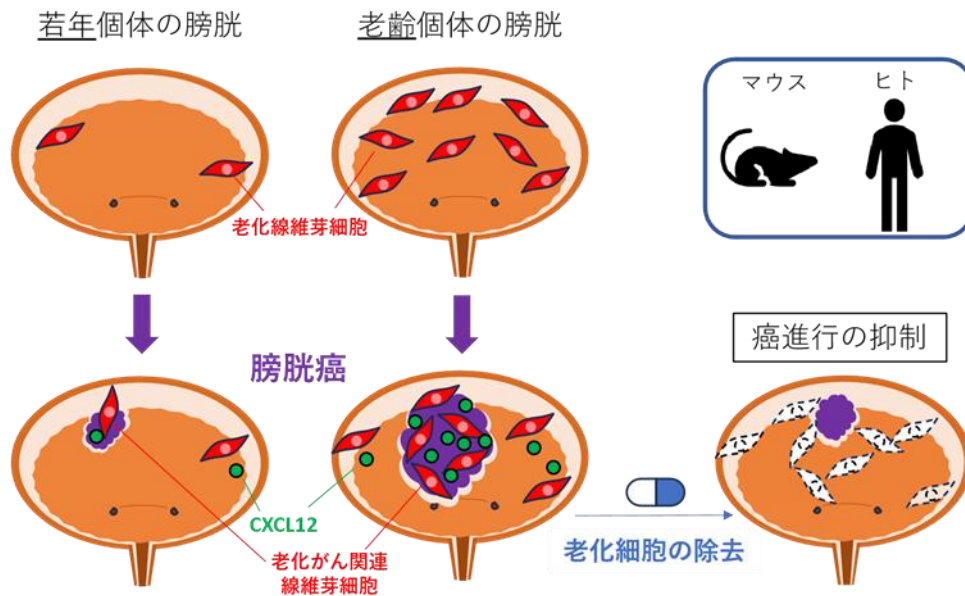


図1：膀胱内の老化がん関連線維芽細胞は膀胱癌の進行を助長する

マウスやヒトにおいて、加齢で増加する膀胱内の老化がん関連線維芽細胞は CXCL12 を分泌し膀胱癌の進行を助長する。また、老化細胞の除去により癌の進行は抑制される。

概要

東京大学医科学研究所癌防御シグナル分野の目黒了客員研究員、中西真教授、城村由和助教（研究当時、現：金沢大学教授）らの研究グループは、p16 陽性細胞を一細胞単位で単離が可能となる遺伝子改変マウスにおいて老齢個体を作成し、シングルセル RNA-seq（注 1）を行うことで膀胱組織内の p16 陽性老化細胞の遺伝子発現の特徴を解析しました。その結果、膀胱組織内の p16 陽性老化細胞の主集団となる細胞種は線維芽細胞であり、その p16 陽性老化線維芽細胞においてケモカイン遺伝子である *Cxc112*（注 2）の発現が上昇していることを同定しました。

また、マウスに膀胱癌細胞を同所移植した際には腫瘍内部に間質細胞として p16 陽性老化細胞を認め、p16 陽性老化細胞を細胞死に導くことを可能とする遺伝子改変マウスを使用した p16 陽性老化細胞除去や既存の老化細胞除去薬の投与により、p16 陽性老化細胞を除去した際には膀胱癌の進行が抑制されることも明らかにしました。

加えて、シングルセル RNA-seq で同定したマウスの膀胱の p16 陽性老化線維芽細胞で発現が上昇していた遺伝子群を「老化がん関連線維芽細胞（注 3）遺伝子セット」とし、400 サンプル以上となるヒト RNA seq データセットに照合したところ、この遺伝子セットは年齢や膀胱癌の予後と相関があることも発見しました。

本研究成果により、膀胱癌間質内の p16 陽性老化がん線維芽細胞を治療標的とした、膀胱癌の新たな治療薬の開発が期待されます。

本研究成果は 9 月 9 日、国際科学誌「*Nature Aging*」に掲載されました。

発表内容

これまで膀胱癌は加齢とともに発症率の上昇や生存率の低下を認める加齢関連疾患のひとつであるとされてきましたが、なぜ加齢が膀胱癌に関連するか、分子生物学的な機序は解明されていませんでした。

本研究グループはまず、タモキシフェンの投与により p16 陽性老化細胞を一細胞レベルで標識することが可能となるマウス、p16-Cre^{ERT2}-tdTomato マウス（注 4）において自然加齢による老齢モデルマウスを作成し、老化個体における膀胱組織を使用してシングルセル RNA-seq を施行しました。その結果、マウス膀胱においては p16 陽性老化線維芽細胞が p16 陽性老化細胞の主集団であり、またその p16 陽性老化線維芽細胞においてケモカインのひとつである *Cxc112* 遺伝子の発現が上昇していることが分かりました。

次に膀胱の p16 陽性老化細胞が膀胱癌の発育に与える影響を確認するために、タモキシフェンおよびジフテリア毒素の投与により p16 陽性老化細胞の除去が可能となる p16-Cre^{ERT2}-DTR-tdTomato マウス（注 5）を使用し、膀胱癌を移植したのちに p16 陽性老化細胞を除去し膀胱癌の発育の変化を確認しました。その結果、p16 陽性老化細胞を除去したマウスでは膀胱癌の発育は抑制されることが分かりました（図 2）。また、膀胱癌の移植前または移植後に p16 陽性老化細胞を標識し膀胱癌内部の老化細胞の数を比較したところ両者の数はほぼ同じであり、膀胱癌内部の p16 陽性老化細胞は癌の移植後に出現したのではなく、移植前から膀胱組織内に存在していた p16 陽性老化細胞が移植後に間質細胞となり、癌の発育に関連していたことが分か

りました。この結果を裏付けるように、p16 陽性老化細胞を除去したのちに移植した場合でも癌の発育が抑制されることが分かりました。また既存の老化細胞除去薬である ABT - 263 (注 6) を膀胱癌を移植したマウスに投与したところ、同様に膀胱癌の発育が抑制されることを確認しました。

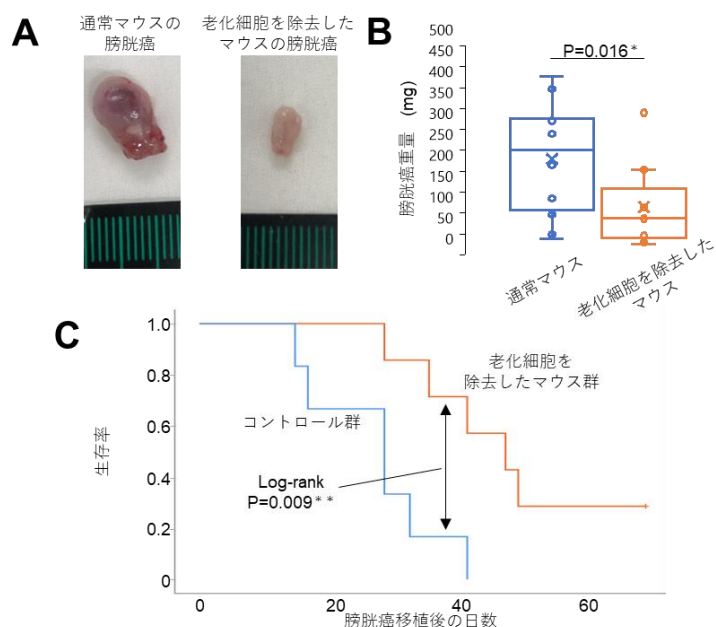


図 2 : p16 陽性老化細胞の除去は膀胱癌の進行を抑制する

膀胱癌細胞を移植後に p16 陽性老化細胞を除去すると、膀胱癌の重量は減少する (A、B)。また移植後の生存率も改善する (C)。

加えて、CXCL12 は癌の発育を促進することが知られていますが、p16 陽性老化細胞を除去したマウスにおいては膀胱癌内部の CXCL12 の発現が低下しており、CXCL12 下流経路の一つである AKT (注 7) の活性化も抑制されていることを確認しました。また膀胱癌内部において p16 陽性老化線維芽細胞は老化がん関連線維芽細胞として CXCL12 の主要な産生源となっていることを確認しました。したがって、膀胱癌間質の老化がん関連線維芽細胞が CXCL12 を分泌し、膀胱癌の発育に関与していることが示唆されました。

最後に、マウスの膀胱組織を使用したシングルセル RNA-seq の結果より、p16 陽性老化線維芽細胞集団にて上昇していた上位 6 つの遺伝子を「老化がん線維芽細胞遺伝子セット」とし、400 サンプル以上となるヒト膀胱癌組織の RNA seq データセットと比較しました。その結果、この遺伝子セットは年齢や膀胱癌の予後と相関しており、またこの遺伝子セットのハザード比を解析したところ、膀胱癌の病理学的病期分類と同等の予後予測能があることが分かりました (図 3)。

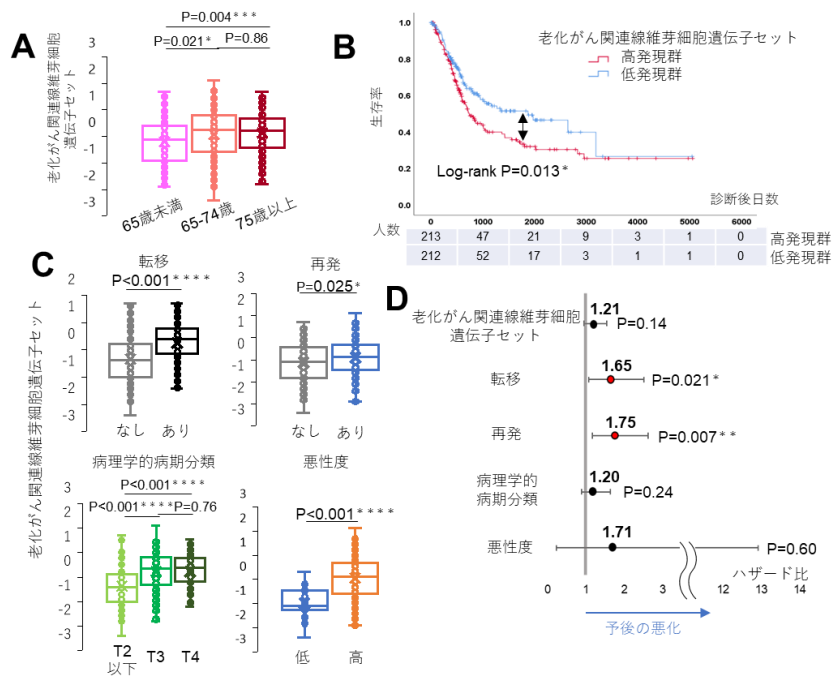


図 3：老化がん関連線維芽細胞遺伝子セットはヒト膀胱癌患者の年齢・予後に関連する

マウスの実験結果より作成した老化がん線維芽細胞遺伝子セットは、ヒト膀胱癌患者の年齢 (A) や予後 (B-C) と相関する。また、ハザード比は病理学的病期分類と同等である (D)。

膀胱癌は全身療法である化学療法にはしばしば治療抵抗性を示し、分子標的薬もすべての膀胱癌に著効するわけではなく、比較的予後の悪い癌とされています。特にマウス実験の結果がヒトの膀胱癌においても一部確認できていることから、今回の研究は膀胱癌内部の p16 陽性老化がん関連線維芽細胞を標的とした新たな膀胱癌治療薬の開発の可能性が期待できます。

なお本研究は、金沢大学がん進展制御研究所の城村由和教授、東京大学医科学研究所の山崎聡教授、井元清哉教授、古川洋一教授、および福島県立医科大学の小島祥敬教授の研究グループとの共同研究により実施されました。

発表者・研究者等情報

東京大学医科学研究所 癌防御シグナル分野

中西 真 教授

城村 由和 研究当時：助教

現：金沢大学 がん進展制御研究所 がん・老化生物学研究分野 教授

目黒 了 研究当時：客員研究員

現：Memorial Sloan Kettering Cancer Center SKI-Radiation Oncology

Visiting Investigator

福島県立医科大学 泌尿器科学講座

小島 祥敬 教授

論文情報

雑誌名：「Nature Aging」（9月9日 オンライン版）

題名：Preexisting senescent fibroblasts in the aged bladder create a tumor-permissive niche through CXCL12 secretion

著者名：Satoru Meguro, Yoshikazu Johmura[#], Teh-Wei Wang, Satoshi Kawakami, Shota Tanimoto, Satotaka Omori, Yuki T. Okamura, Seiji Hoshi, Emina Kayama, Kiyoshi Yamaguchi, Seira Hatakeyama, Satoshi Yamazaki, Eigo Shimizu, Seiya Imoto, Yoichi Furukawa, Yoshiyuki Kojima[#] and Makoto Nakanishi[#]（#共同責任著者）

DOI：10.1038/s43587-024-00704-1

URL：https://www.nature.com/articles/s43587-024-00704-1

研究助成

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）ムーンショット型研究開発事業「炎症誘発細胞除去による100歳を目指した健康寿命延伸医療の実現」、革新的先端研究開発支援事業「神経細胞におけるミスフォールドタンパク質分解機構と神経変性疾患における役割の解明」、老化メカニズムの解明・制御プロジェクト「老化機構・制御研究拠点」、老化機構・制御研究拠点「老化細胞除去による高齢者発がん抑制療法の開発」、革新的先端研究開発支援事業「加齢に伴うプロテオスタシス破綻のメカニズム解明に基づく老化制御法の開発」、日本学術振興会（JSPS）科学研究費助成事業（JP20H00514, JP20K21497, JP19H05740, JP19H03431, and JP20H04940）、高松宮妃癌研究基金の研究助成により実施されました。

AMEDでは、ムーンショット型研究開発事業の目標7「2040年までに、主要な疾患を予防・克服し100歳まで健康不安なく人生を楽しむための持続可能な医療・介護システムの実現」の達成にむけて研究開発を推進しています。

用語解説

（注1）シングルセルRNA-seq

一細胞ごとにmRNAの発現量を検出する手法。

（注2）CXCL12

CXCL12（C-X-C motif chemokine ligand 12）またはSDF-1（stromal cell-derived factor 1）と呼ばれ、免疫細胞の誘導やがんの進展に関与するとされるケモカインのひとつ。

（注3）がん関連線維芽細胞

がん微小環境中においてがん細胞と相互作用し、がん進展に関与する線維芽細胞。

（注4）p16-Cre^{ERT2}-tdTomato マウス

本研究室で開発した、老化細胞のマーカー遺伝子であるp16遺伝子プロモーターの下流にCre^{ERT2}リコンビナーゼ遺伝子を挿入したp16-Cre^{ERT2}マウスと、CreERT2リコンビナーゼ活性依存的に赤色の蛍光タンパク質であるtdTomatoを発現するRosa26-CAG-lsl-tdTomatoマウスを交配し作成したマウス。

(注5) p16-Cre^{ERT2}-DTR-tdTomato マウス

本研究室で開発した、p16⁻-Cre^{ERT2} マウスと CreERT2 リコンビナーゼ活性依存的にジフテリア毒素受容体 (DTR) を発現する Rosa26-CAG-lsl-DTR-tdTomato マウスを交配し作成したマウス。

(注6) ABT - 263

抗アポトーシスタンパク質 BCL-2 および BCL-xL の特異的阻害剤。

(注7) AKT

プロテインキナーゼ B と呼ばれ、PI3K/AKT/mTOR シグナル伝達経路の一因子。

問合せ先

〈研究に関する問合せ〉

国立大学法人東京大学医科学研究所 癌・細胞増殖部門 癌防御シグナル分野
教授 中西 真 (なかにし まこと)

<https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/imsut/jp/lab/cancerbiology/section04.html>

国立大学法人金沢大学 がん進展制御研究所 がん・老化生物学研究分野
教授 城村 由和 (じょうむら よしかず)

<https://ganken.cri.kanazawa-u.ac.jp/about/department/cb05/>

〈報道に関する問合せ〉

国立大学法人東京大学医科学研究所 プロジェクトコーディネーター室 (広報)

<https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/>

国立大学法人金沢大学医薬保健系事務部薬学・がん研支援課企画総務係

<https://www.kanazawa-u.ac.jp/>

公立大学法人福島県立医科大学 広報コミュニケーション室

<https://www.fmu.ac.jp/>

〈AMED 事業に関する問合せ〉

日本医療研究開発機構 (AMED) 研究開発統括推進室基金事業課

<https://www.amed.go.jp/program/list/18/index.html>