

乳癌と周囲脂肪組織の相互作用

小沼憲祥¹⁾, 土方浩平¹⁾, 日高綾乃¹⁾, 植草省太¹⁾, 越永従道¹⁾, 松本太郎²⁾

Interaction between breast cancer and adipose tissue

Noriyoshi KONUMA¹⁾, Kouhei HIJIKATA¹⁾, Ayano HIDAKA¹⁾,
Shota UEKUSA¹⁾, Tsugumichi KOSHINAGA¹⁾, Taro MATSUMOTO²⁾

要旨

固形腫瘍とその周囲に存在する脂肪組織は相互作用を行うことで癌の増大や浸潤、転移に関与するとされている。我々は、脂肪細胞の運命追跡が可能なマウスを用い、マウス乳癌細胞株を皮下に生着させた。生着した乳癌細胞が増大したところで、乳癌組織を摘出し組織学的に検討した。癌組織内には、周辺に存在していた脂肪細胞が、脂肪細胞としての形態と性質を失って存在していた。これらの細胞は脂肪前駆細胞や間葉系幹細胞マーカーのSca-1が陽性であったため、より未分化な細胞であると考えられた。つまり、固形腫瘍の周囲にある脂肪細胞は、固形腫瘍からの作用を受け、より未分化な細胞へと変化し固形腫瘍へ作用していることが示唆された。

1. はじめに

脂肪組織は、エネルギーを蓄積する貯蔵器官である一方で、脂肪細胞はアディポサイトカインと総称される生理活性物質を活発に産生・分泌する生体内で最大の内分泌器官として多彩な生命事象に関与している。肥満の脂肪組織では、アディポサイトカインの産生調節に破綻をきたすため、メタボリックシンドロームの病態に関与すると考えられている。脂肪組織からの作用は固形腫瘍の周辺環境においても同様に起こり、腫瘍周囲に存在する脂肪細胞は、腫瘍本体と相互作用を行うことで、腫瘍の進展や転移に関与することが報告されている。乳腺は周囲を脂肪組織に囲まれており、脂肪細胞は乳房の重要な構成要素であるため、腫瘍と脂肪組織の相互作用は、乳癌において盛んに研究されている。乳癌では、肥満がリスクファクターとして知られ、肥満女性は通常女性に比べ乳癌発生リスクが増加するとされ、乳癌は周囲の脂肪組織に容易に浸潤しやすい。つまり、他の固形腫瘍と比較して脂肪と腫瘍が密接に関

与している。しかしながら、乳癌細胞と脂肪細胞の相互作用の検討は、培養による研究がほとんどであり生体内における直接的な関与は証明されていない。そこで、今回我々は、脂肪細胞特異的マーカー(Adipoq)を蛍光色素にて発色することで生体内の脂肪細胞の運命を追跡することが可能なトランスジェニックマウスを用いて乳癌組織における脂肪細胞の挙動を検討した。

2. 対象及び方法

生体内の脂肪組織が、外的な刺激(外傷や臓器欠損、炎症など)に応じ、脱分化することで再生や抗炎症に関与することを証明するため、脂肪細胞特異的マーカー(Adipoq)を追跡できるトランスジェニックマウス(Adipoq-Cre-ERT2/tomato-ROSA26マウス:以下Adipoq-Cre/Tomatoマウス)を用いた。このマウスは、エストロゲン刺激(腹腔内投与)を加えた時点で生体内にある脂肪細胞が赤い色素で発色し、この赤い脂肪細胞は分化もしくは脱分化した

1) 日本大学医学部外科学系小児外科学分野
2) 日本大学医学部機能形態学系細胞再生・移植医学分野
小沼憲祥 konuma.noriyoshi@nihon-u.ac.jp

後も、赤い色素として検出することが可能である。つまり、生体内における脂肪細胞の挙動を赤い色素により追跡できるマウスである。今回我々は、この Adipoq-Cre/Tomato マウスを用い、乳癌組織周辺における脂肪細胞の挙動を検討した。方法は、この Adipoq-Cre/Tomato マウスに対して、マウス乳癌細胞株 (E0771; 1×10^6 cells) を背部皮下に局所投与し、乳癌細胞を定着させる。その後、タモキシフェンの腹腔内投与 (1mg/100ul oil) を行い、生体内の脂肪細胞に蛍光色素を発色させる。腫瘍径が $\phi 1$ cm 以上になったところで、腫瘍の摘出を行い、組織学的に検討する。元々、Adipoq-Cre/Tomato マウスの脂肪細胞には tdTomato 遺伝子が組み込まれており、赤色に発色することから、腫瘍内の tdTomato 陽性細胞の形態学的変化を、Adipocyte マーカー (Perilipin A)、CAF (Cancer associated fibroblast) マーカー (FSP1, Fibronectin)、Pericyte マーカー (α SMA, NG2)、Endothelial マーカー (CD31)、Preadipocyte, MSC (Mesenchymal Stem Cell) マーカー (Sca-1) とともに検出した。

3. 結果

まず、Adipoq-Cre/Tomato マウスの脂肪細胞に特異的に tdTomato が発現していることを確認した。Adipoq-Cre/Tomato マウスに対してタモキシフェンを5日間連続で腹腔内投与し、還流固定後、脂肪組織を含まない組織と、脂肪組織が含まれる組織に対して tdTomato 発現を確認した。結果、肺、肝、腎、脾には tdTomato 発現を認めず、脂肪組織を含む、腸間膜、皮下に tdTomato 発現を認めた (図1)。

次に Adipoq-Cre/Tomato マウスの皮下にて E0771 の生着と増殖を確認後、乳癌組織内における tdTomato 陽性細胞の確認を行った。Adipoq-Cre/Tomato マウスに対してタモキシフェンを5日間連続で腹腔内投与し、その後マウス乳癌細胞株の移植を行い、14日後、21日後、28日後で腫瘍塊を摘出し、組織学的に検討した。腫瘍内の tdTomato 陽性細胞は、脂肪細胞のマーカーである perilipin は陰性であった (図2)。また、CAF, Pericyte, Endothelial マーカーである FSP1, Fibronectin, α SMA, NG2, CD31 も陰性であったが、Preadipocyte, MSC マーカーである Sca-1 は陽性であった (図3)。

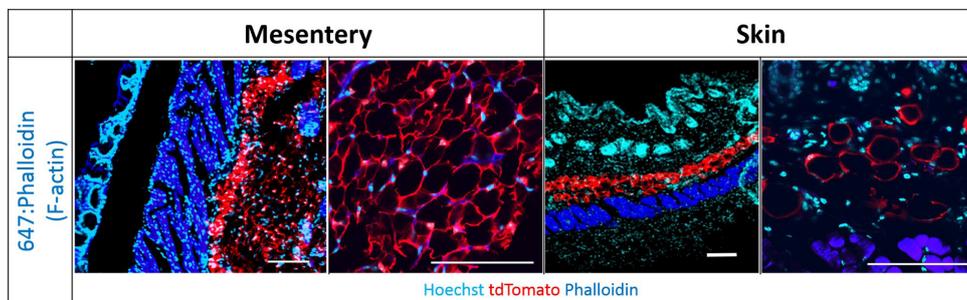


図 1

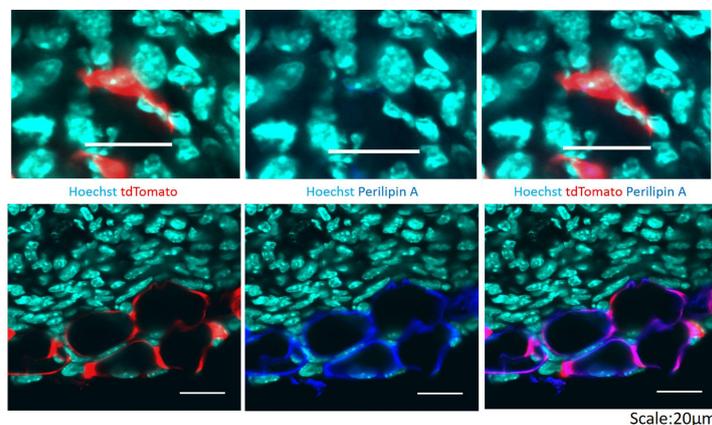


図 2

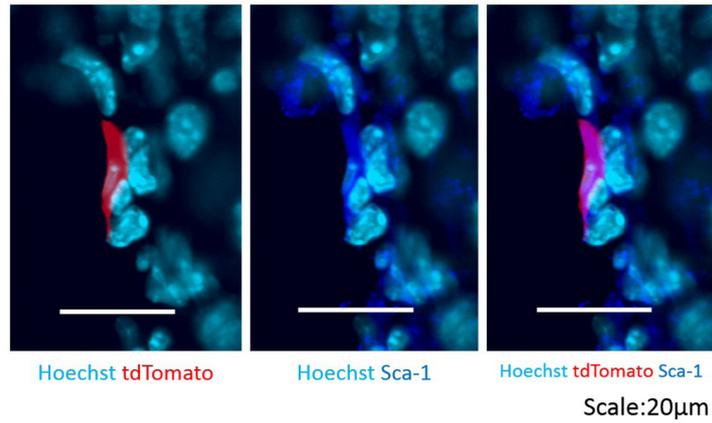


図 3

4. 考 察

Adipoq-Cre/Tomato マウスの皮下に生着した乳癌組織内での脂肪細胞 (tdTomato 陽性細胞) は、脂肪細胞マーカーの発現が無くなっていたことから脂肪細胞ではない細胞に変化しており、FSP1, Fibronectin, α SMA, NG2, CD31 が陰性であることから Cancer associated fibroblast や血管内皮、壁細胞には変化していない可能性が高いと考えられた。

そして Sca-1 が陽性となったことから、脂肪前駆細胞や間葉系幹細胞などの未分化な前駆細胞に変化している可能性が高いと考えられた。

5. 結 語

乳癌組織周辺にある脂肪細胞は、癌組織が増大するに従い一時的に未分化な細胞へと変化している可能性が示唆された。