

課題番号 32

がん微小環境ががんの病態に与える影響の解明

〔1〕組織

代表者：海野 雄加
(宮城県立がんセンター研究所)
対応者：谷 春菜
(東北大学加齢医学研究所)
分担者：村上 昌平
(東北大学大学院医学系研究科)

研究費：物件費 13 万円

〔2〕研究経過

本研究は、加齢研共同利用・共同研究により提供された若齢および老齢マウスを用い、加齢骨髄微小環境が白血病細胞の生着および進展に与える影響を、特に骨髄脂肪細胞 (bone marrow adipocytes: BMA) に着目して解明することを目的として実施した。

申請者らはこれまでに、骨髄脂肪細胞の単離および RNA 抽出手法を独自に確立しており、本研究ではこの技術基盤を活用して、*in vivo* 移植モデルとトランスクリプトーム解析を統合した解析系を構築した。

まず、老齢個体における腫瘍微小環境依存的な病態形成機構を検証するため、同系マウス骨髄細胞に AML1/ETO9a を発現するレトロウイルスベクター (MigR1-AE9a) を導入し、EGFP を指標とする白血病モデル細胞を作製した。感染効率および EGFP 陽性率をフローサイトメトリーにより確認後、セルソーティングにより EGFP 陽性細胞を単離し、C57BL/6J 老齢マウスへ同種間移植を行った。

レシピエントとして、本共同研究により提供された通常食で飼育した若齢および老齢マウスの計 2 群を用い、移植前日に片側大腿骨に対して 8 Gy の局所 X 線照射を行った。本手法により、同一個体内において照射側と非照射側の骨髄微小環境を比較可能とし、微小環境依存性を直接評価できる実験系を構築した。

移植後は体重変化、血算、および末梢血中 EGFP 陽性細胞の割合を経時的に解析した。その結果、移植後 16 週間の観察期間において複数個体で EGFP 陽性細胞の割合が徐々に増加する傾向が認められ、

AML1/ETO9a 単独発現細胞が骨髄環境下において持続的に生着する可能性が示された。

次に、環境ストレス老化研究センター (CERA) より提供された、通常食または高脂肪食で飼育した若齢および老齢マウスの計 4 群から骨髄脂肪細胞 (BMA) を単離し、RNA-seq 解析を実施した。主成分解析 (Principal Component Analysis: PCA) により、老齢マウス由来 BMA は若齢マウス由来 BMA と明確に分離するクラスターを形成し、加齢に伴う転写変化が確認された (図 1)。また、高脂肪食負荷群は通常食群とは異なる位置に分布し、食餌条件による影響も認められた。

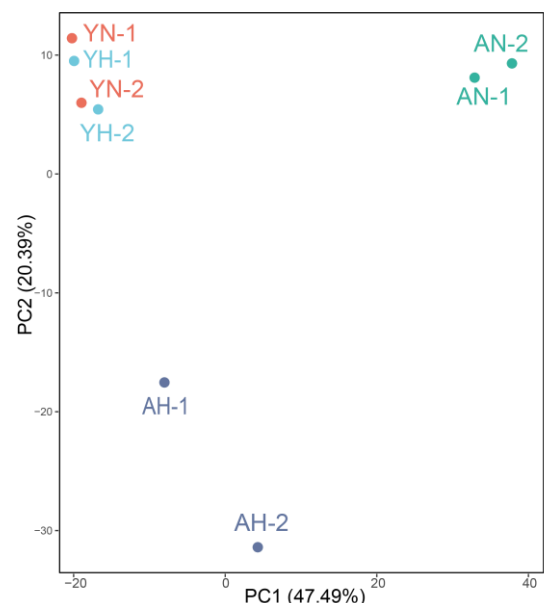


図 1: BMA の主成分解析 (PCA)

さらに、サンプル間の Pearson 相関解析では全体として高い相関が確認され、データの再現性が担保されている一方、一部サンプルにおいて相関の低下が認められた (図 2)。この相関構造は PCA の分離結果と一致しており、BMA の転写状態が加齢および代謝環境に応じて変化していることを支持する結果である。

以上の結果から、加齢および食餌条件が骨髄脂肪細胞の転写プログラムに影響を与え、骨髄微小環境の性質を変化させる可能性が示唆された。

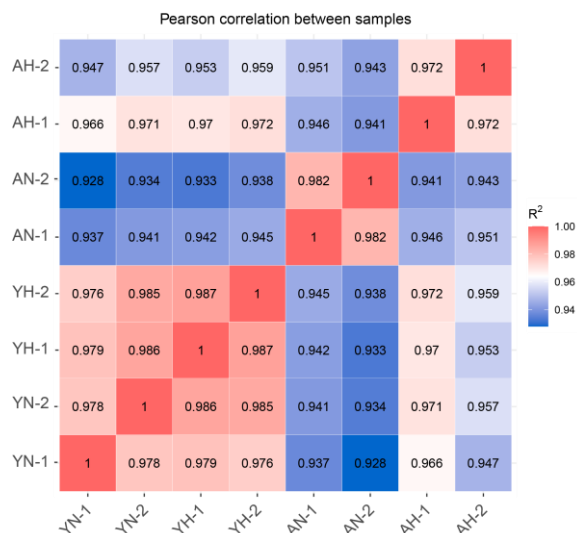


図2：BMAのサンプル間Pearson相関解析

研究打合わせは、加齢研担当教員である谷春菜先生および分担者である村上昌平先生と定期的を実施し（対面およびオンライン）、移植スケジュール、解析手法、RNA-seq デザインについて継続的に議論を行いながら研究を推進した。特に村上先生は造血幹細胞研究に関する専門的知見を有しており、モデルマウス作製および移植実験の遂行において多大な支援を受けた。

〔3〕 成果

（3－1）研究成果

本年度は以下の成果を得た。

第1に、AML1/ETO9a 発現細胞の作製および老齡マウスへの移植モデルを確立し、老化骨髓微小環境下において白血病細胞が生着する可能性を示した。

第2に、BMA の RNA-seq 解析により、加齢および食餌条件に依存した転写プロファイルの変化を明らかにした。PCA および相関解析の結果は、BMA の転写状態が環境依存的に再編成されることを示唆するものであった。

（3－2）波及効果と発展性など

本研究により、加齢骨髓微小環境と白血病細胞生着との関連を直接評価可能な実験基盤を構築した。また、BMA のトランスクリプトーム解析を通じて、加齢に伴う骨髓微小環境の変化を分子レベルで捉えることが可能となった。

今後は、移植モデルの改良および転写データとの統合解析を進めることで、加齢依存的な AML 進展機構の解明につながることが期待される。

〔4〕 成果資料

（1）加齢および高脂肪食負荷が骨髓脂肪細胞の特性に与える影響

海野 雄加, 村上 昌平, 三木 康宏, 山口 壹範, 谷春菜

日本薬学会第145年会（福岡） 2025年3月

以上