

マウスモデルを用いた消化器癌転移の研究 Studies on Metastasis of Digestive Cancers Using Mouse Models

武藤 誠 (MAKOTO MARK TAKETO)
京都大学・大学院医学研究科・教授



研究の概要

消化器癌は粘膜の上皮細胞に由来するが、その発生、拡大、浸潤、転移の各段階で、間質組織との相互作用を介している。異なった細胞種間に起きるこの相互作用は時には遠隔臓器から細胞の集簇を伴うので、マウスなどの実験動物を用いた個体レベルの実験が必須である。我々は遺伝子改変マウスを用いて消化器癌の転移機構を解明し、新たな治療戦略の確立を試みている。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医化学

キーワード：分子腫瘍学

1. 研究開始当初の背景

癌による死亡の中で消化器癌の占める割合は最も高く、その遠隔転移を抑制することが重要課題となっている。

2. 研究の目的

本研究では、大腸癌の転移を抑制するための新たな治療標的を見出し治療戦略を確立することを目標とする。

3. 研究の方法

1. 未分化骨髄球 (immature myeloid cells : iMCs、図1) による転移促進機構の解析

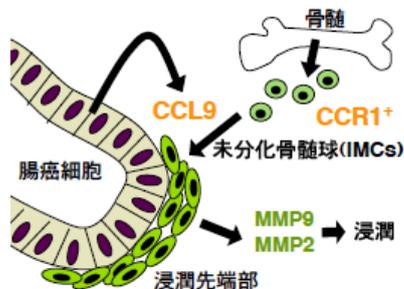


図1 iMCsは腸癌の浸潤を促進する

A) 大腸癌浸潤の水先案内をする iMCs の本体およびその転移促進機構をマウスモデルを用いて解明する。

B) ヒト大腸癌の転移における iMCs の役割を明らかにする。

C) ケモカイン受容体 CCR1 阻害薬の転移抑制効果をマウスモデルで検討する。

2. Aes/Notch による転移制御機構の解明

A) Aes の浸潤・転移抑制機能を、腸腫瘍モデルマウスを用いて個体レベルで検討する。

B) 大腸癌以外の癌の転移における AES の役割を検討する。

C) AES の発現抑制機構を解析し、AES の発現低下とヒト大腸癌患者の予後の相関を検討する。

D) Notch シグナル阻害薬の転移治療・予防法を検討する。

3. 大腸癌進展の早期で重要なシグナル経路や分子が癌の転移の増大に果たす役割の解明

(A) Wnt シグナル経路による mTORC1 活性化の機序を解明する。また、転移巣拡大に対する Rapamycin 誘導体 RAD001 の影響を調べる。

(B) SMO が活性型 β -catenin の細胞内局在を制御する機序を解明する。

(C) 大腸癌転移巣における CDX2、p27 の発現と染色体不安定性の指標である分裂後期染色体異常像の頻度 (Anaphase bridge index: ABI) との相関について解析する。

4. これまでの成果

本研究の特色は、我々が独自に見出した新たな知見に基づいてこれまでに報告のない転移制御機構を解明しようとしている点にある。また、本研究では臨床病状を技術的に可能な限り正確に反映したマウスモデルを用いることで転移の治療に直結しうる研究計画を立てている点も大きな特色の一つである。本研究によって従来の視点では見出せなかった新たな転移制御機構が複数同定され、消化器癌の転移を抑制するための治療戦略を提示しつつある。これまでの成果を上記1から3までの課題別に列記する。

1. 未分化骨髄球 (iMCs) による転移促進機構の解析

ヒト大腸癌の転移における iMCs の役割を明らかにするためにマウスの脾臓に大腸がん細胞を注入して肝臓へ播種させるモデルを用いて解析したところ、がん細胞の転移増殖に先立って大量の iMCs が集簇することが分かった。この反応は CCR1 受容体遺伝子のノックアウトマウスを宿主にすると起きず、転移増殖が抑制される。また、MMP9 や MMP2 遺伝子のノックアウトマウ

スでは iMCs の集簇が起きるにも拘らず転移増殖は抑制される。更に、CCR1 受容体の阻害薬でも、転移増殖を抑制でき、治療戦略の可能性が実証された。(Kitamura et al. PNAS, 2010.)

2. Aes/Notch による転移制御機構の解明

我々はマウスの大腸がんの転移抑制遺伝子 *Aes* を同定した。多数のヒトの大腸がん検体でもこの遺伝子 *AES* の原発巣での発現が転移巣では消失していた。分子シグナル伝達の解析の結果、*Aes/AES* は Notch シグナルの内在性阻害蛋白であることが明らかになり、Notch シグナル伝達の阻害で大腸がんの転移が抑制できる可能性を示唆した。また、転移抑制の機序はがん細胞の血管内への侵入や游出を *AES* が抑制するという機構によるものである。(Sonoshita et al., Cancer Cell, 2011)

3. 大腸癌進展の早期で重要なシグナル経路や分子が癌の転移の増大に果たす役割の解明

我々は先に *Apc* 遺伝子の変異による家族性大腸腺腫症のモデルマウスで mTORC1 シグナル伝達の活性化を報告したが、この現象を詳しく解析したところ、JNK(c-Jun N-terminal kinase) が直接 mTORC1 の構成要素の一つである Raptor をリン酸化することで活性化し、サイクリン等のタンパクリン酸化を介して腺腫を拡大することが分かった。(Fujishita et al. Gastroenterology, 2011)

5. 今後の計画

1. 大腸癌細胞の転移を水先案内する未分化骨髄球の研究

未分化骨髄球 iMCs の FACS による選取のために、CCR1 プロモーター制御下に GFP をトランスジェンとして発現するマウスを作出中で、このマウスを用いた iMCs のアレイ解析を行う予定である。cDNA microarray 解析から重要な新知見が期待される。

2. 癌細胞の転移を制御する *Aes* と Notch シグナルの機構解明

Aes の局在をと分子機構を解明するため、電子顕微鏡による nuclear focus (NF) の観察、質量分析による *Aes* 結合因子の同定、*Aes* の NF への移行機序の解析を行なう。さらに、抗 Notch 受容体抗体を用いてマウスモデルで大腸癌転移抑制作用を検証し、臨床応用に繋げる。

3. 大腸癌の転移における、発癌初期シグナルや分子の評価

大腸がん転移巣での mTORC1 経路の活性化機構を検討すると同時に、局所浸潤を起こすが遠隔転移は認められないモデルマウスの大腸腫瘍において mTORC1 の活性化機序を解明し、mTORC1 阻害剤の浸潤抑制効果を検討する。また、大腸癌細胞における CDX2 のオートファジー促進の分子機構を解析する。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)
Fujishita T, Aoki M, and Taketo MM. (2011) JNK signaling promotes intestinal tumorigenesis through mTOR complex1 activation in *Apc*^{A716} mice. Gastroenterology 140: in press (May 2011 issue: *Cover Article*)

Taketo MM. (2011) Reflections on the spread of metastasis to cancer prevention. Cancer Prev. Res. 4: 324-328. (*Invited Review*)

Kawada K and Taketo MM. (2011) Significance and mechanism of lymph node metastasis in cancer progression. Cancer Res. 71: 1214-1218. (*Invited Review*)

Sonoshita M, Aoki M, Fuwa H, Aoki K, Hosogi H, Sakai Y, Hashida H, Takabayashi A, Sasaki M, Robine S, Itoh K, Yoshioka K, Kakizaki F, Kitamura K, Oshima M, and Taketo MM. (2011) Suppression of colon cancer metastasis by *Aes* through inhibition of Notch signaling. Cancer Cell 19: 125-137. (*Featured Article: Faculty of 1000 paper*)

Aoki K, Kakizaki F, Sakashita H, Manabe T, Aoki M, and Taketo MM (2011) Suppression of colonic polyposis by homeoprotein CDX2 through its nontranscriptional function that stabilizes p27^{Kip1}. Cancer Res. 71: 593-602.
Kakizaki F, Aoki K, Miyoshi H, Carrasco N, Aoki M and Taketo MM. (2010) CDX Transcription Factors Positively Regulate Expression of Solute Carrier Family 5, Member 8 in the Colonic Epithelium. Gastroenterology 138: 627-635.

Deguchi A, Miyoshi H, Kojima Y, Okawa K, Aoki M, and Taketo MM. (2010) LKB1 suppresses p21-activated kinase-1 (PAK1) by phosphorylation of Thr109 in the p21-binding domain. J. Biol. Chem. 285: 18283-18290.

Kitamura T, Fujishita T, Loetscher P, Revesz L, Hashida H, Kizaka-Kondoh S, Aoki M, and Taketo MM. (2010) Inactivation of CCR1 suppresses colon cancer liver metastasis by blocking accumulation of immature myeloid cells in a mouse model. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107: 13063-13068.

Arimura S, Matsunaga A, Kitamura T, Aoki K, Aoki M, Taketo MM (2009). Reduced Level of Smoothed Suppresses Intestinal Tumorigenesis by Down-Regulation of Wnt Signaling. Gastroenterology 137: 629-638, (*Cover Article*).

Miyoshi H, Deguchi A, Nakau M, Kojima Y, Mori A, Oshima M, Aoki M, Taketo MM. (2009) Hepatocellular carcinoma development induced by conditional beta-catenin activation in *Lkb1*^{+/-} mice. Cancer Sci.; 100: 2046-53.

Fujishita T, Aoki M, Taketo MM. (2009) The role of mTORC1 pathway in intestinal tumorigenesis. Cell Cycle 8: 3684-3687.

Taketo MM. (2009) Role of bone marrow-derived cells in colon cancer: lessons from mouse model studies. J Gastroenterol., 44:93-102. (*Invited Review*)

Taketo MM, Edelmann W. (2009) Mouse models of colon cancer. Gastroenterology 136: 780-98. (*Invited Review*)

ホームページ等

[http://www4.mfour.med.kyoto-u.ac.jp/frameTOP\(J\).htm](http://www4.mfour.med.kyoto-u.ac.jp/frameTOP(J).htm)