

研究課題名 (和文) 消化器癌の転移機構とその治療の研究

研究課題名 (英文) Studies on the Mechanisms of Distant Metastasis in Digestive Cancer

研究代表者

武藤 誠 (TAKETO MAKOTO)
京都大学・大学院医学研究科・教授

研究の概要：消化器癌、特に腸癌の浸潤・転移機構を解明すべく研究を展開した。マウスモデルを用いてケモカインおよびその受容体を介した細胞間相互作用の浸潤・転移における重要性を証明するとともに、新規腸癌転移抑制遺伝子を発見し、新しい転移治療の標的を同定した。

研究分野／科研費の分科・細目／キーワード：医学／病理・実験病理学／転移・浸潤・ケモカイン・COX-2・CDX2

1. 研究開始当初の背景

癌による死亡は疾病死亡率の第一位を占め、中でも、腸癌による死亡は増加しつつある。近年の早期診断・治療の技術の進歩と臨床現場でのたゆみない努力によって早期腸癌の治癒率は目覚ましく向上してきた。一方、転移を伴う進行癌による死亡率は依然として高く、癌転移をコントロールできれば腸癌を全て克服できると言っても過言ではない。しかしながら、腸癌転移の基礎研究は未だ治療に直結する成果を上げておらず、臨床病状を忠実に反映する動物モデルも存在しなかった。

2. 研究の目的

腸癌の浸潤・転移に関わる因子を同定し、その知見を基に、遠隔転移を生ずる腸癌モデルマウスの確立を試み、転移の薬物治療の標的を同定することを目的とした。

3. 研究の方法

転移における癌細胞と宿主細胞との相互作用の重要性を考慮し、EGFP (enhanced green fluorescent protein) を発現する純系マウス由来の大腸癌細胞株を EGFP に対する免疫寛容を獲得させた同系マウスに同所移植する実験系を開発した。悪性化 (浸潤) の機序解析には当教室で開発した腸癌自然発症モデルマウスを用い、転移関連遺伝子候補は DNA マイクロアレイによって同定した。染色体不安定性は Anaphase bridge index (ABI, 後期分裂異常像の頻度) を指標に定量化した。

4. 研究の主な成果

(1) リンパ節転移におけるケモカイン受容体 CXCR3 の役割

リンパ節高転移性のマウスメラノーマ B16F10 細胞株ではケモカイン受容体 CXCR3 が発現していること、CXCR3 の発現抑制やリガンドの中和抗体によりリンパ節転移が有意に減少することを示した。次に、CXCR3 がヒト大腸癌細胞株のリンパ節転移を促進すること、CXCR3 はケモカインの役割として想定されている癌細胞のリンパ節への遊走ではなく、転移先での腫瘍巢形成を促進することを明らかにした。また、臨床検体の解析から、CXCR3 の発現がリンパ節転移との相関が知られている CXCR4 の発現よりも優れた予後不良指標となることを示した。

(2) Apc^{4716} $Smad4$ 複合変異マウスを用いた浸潤機構の解析

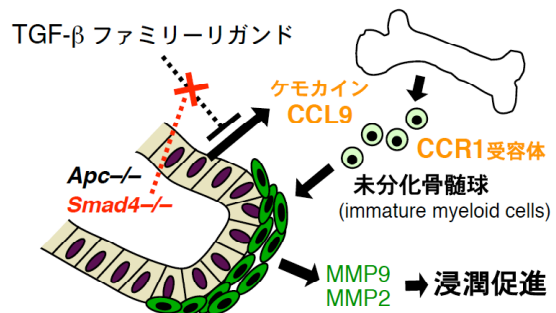


図 Apc^{4716} $Smad4$ 複合変異マウスの腺癌は未分化骨髄球を動員して浸潤を促進する

転移の初期過程である浸潤機構を解明するため、腸癌自然発症モデルマウス (Apc^{4716} $Smad4$ 複合変異マウス) を解析した。

〔4. 研究の主な成果 (続き)〕

その結果、このマウスの腺癌では TGF- β ファミリーシグナルの遮断により癌細胞におけるケモカイン CCL9 の発現が増加すること、CCL9 によってその受容体 CCR1 を持つ未分化骨髄球が血中から浸潤先端部へと集簇することを見出した。また、これら未分化骨髄球は細胞外基質分解酵素 MMP9, MMP2 を産生すること、*Apc* ^{Δ 716} *Smad4* 複合変異マウスに *Ccr1* 遺伝子の変異を導入すると未分化骨髄球の集簇が消失し癌細胞の浸潤が抑制されることを明らかにした (前頁図)。さらに、一部のヒト大腸癌で、浸潤先端部に CCR1 と MMP9 を発現する細胞が存在することを示した。

(3) 新規腸癌転移抑制遺伝子の発見

消化器癌の転移に関わる遺伝子を同定するため、Balb/c マウス由来 Colon26 細胞を同系マウスの直腸に同所移植し、肝転移巣から回収した細胞を再移植して転移巣を形成させるサイクルを繰り返して高転移株を得た。DNA マイクロアレイを行い、この高転移株と親株とで発現が変動する遺伝子を同定した。この遺伝子を Colon26 細胞で誘導的に発現させたところ、浸潤能、転移能ともに有意に減少した。さらにこの遺伝子との相互作用が予想される Notch 経路を阻害する Compound E が転移を有意に抑制することを示した。さらにヒト大腸癌の半数以上の症例の転移巣でこの遺伝子の発現が低下しており、ヒト大腸癌の転移にも重要な役割を果たす可能性が示唆された。そこで、この遺伝子の役割を生体レベルで解析するために、ノックアウトマウスを作成した。

(4) 胃腫瘍発生における COX-2 の役割の解析

胃粘膜上皮で COX-2 および PGE₂ 変換酵素 mPGES-1 を同時に発現するトランスジェニックマウス (K19-C2mE) を作出し、胃粘膜に集簇したマクロファージが細菌感染に伴い活性化されると、過形成性腫瘍が発生することを示した。次に、同じく胃粘膜上皮で Wnt 経路を活性化するトランスジェニックマウスを作成し K19-C2mE マウスと交配したところ、全例で胃に浸潤を伴う腺癌の発症を認めた。

(5) 染色体不安定性における CDX2 と mTOR の役割の解析

染色体の数・形の異常は腫瘍の悪性化 (浸潤・転移) と深く関わるが、大部分の癌で起きる染色体不安定性の原因は不明であった。我々は、ホメオボックス転写因子 CDX2 に着目して *Apc* ^{Δ 716} *Cdx2* 複合変異マウスを作成・解析したところ、大腸に発生するポリープ数が著しく増加すること、腫瘍細胞の ABI (後期分裂異常像の頻度) が有意に高く染色体の不安定性が認められることを見出した。また、ヒト大腸癌細胞株を用いて、CDX2 の発現低

下により活性化する mTOR 経路が染色体不安定性に重要であることを明らかにした。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

成果(1)では、腸癌のリンパ節転移における CXCR3 の重要性、ケモカインの新たな転移促進機序を世界に先駆けて示した。成果(2)は“癌細胞の産生するケモカインによって間質細胞が集簇し浸潤を促進する”という全く新しい浸潤機構を示した点で国内外に強いインパクトを与えた。成果(3)で新規大腸癌転移抑制遺伝子を発見し、Notch 経路の抑制が大腸癌転移の予防、治療に結びつく可能性を初めて示したインパクトは大きい。成果(4)はマクロファージの集簇とその活性化により過形成性腫瘍が形成され、上皮細胞での遺伝子変異が加わると胃癌へと悪性化することを明確に示し、学術的インパクトは大きい。成果(5)は mTOR シグナルを抑えることで腫瘍の悪性化を予防できる可能性を示唆しており新しい概念の化学療法の開発に繋がると期待される。

6. 主な発表論文

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)
Kitamura, T., Kometani, K., Hashida, H., Matsunaga, A., Miyoshi, H., Hosogi, H., Aoki, M., Oshima, M., Hattori, M., Takabayashi, A., Minato, N. & **Taketo, M.M.** SMAD4-deficient intestinal tumors recruit CCR1⁺-myeloid cells that help invasion. *Nat. Genet.* 39: 467-475, 2007.

Kawada, K., Hosogi, H., Sonoshita, M., Sakashita, H., Manabe, T., Shimahara, Y., Sakai, Takabayashi, A., Oshima, M., & **Taketo, M.M.** Chemokine receptor CXCR3 promotes colon cancer metastasis to lymph nodes. *Oncogene* e-pub, 2007.

Oshima, H., Oshima, M., Inaba, K., and **Taketo, M.M.** Hyperplastic gastric tumors induced by activated macrophages in COX-2/mPGES-1 transgenic mice. *EMBO J.* 23: 1669-1678, 2004.

Kawada, K., Sonoshita, M., Sakashita, H., Takabayashi, A., Yamaoka, Y., Manabe, T., Inaba, K., Minato, N., Oshima, M., and **Taketo, M.M.** Pivotal role of CXCR3 in melanoma cell metastasis to lymph nodes. *Cancer Res.* 64: 4010-4017, 2004.

Aoki, K., Tamai, Y., Horiike, S., Oshima, M., and **Taketo, M.M.** Colonic polyposis caused by mTOR-mediated chromosomal instability in *Apc* ^{Δ 716} *Cdx2* ^{Δ} compound mutant mice. *Nature Genet.* 35: 323-330, 2003.

ホームページ等

<http://www4.mfour.med.kyoto-u.ac.jp/>