



Tenascin-C produced by intestinal myofibroblasts promotes colitis-associated cancer development through angiogenesis

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2019-05-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 川村, 崇文 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003546

博士（医学）川村 崇文

論文題目

Tenascin-C produced by intestinal myofibroblasts promotes colitis-associated cancer development through angiogenesis

（腸管筋線維芽細胞によって産生されるテネイシン C は血管新生を通じて腸炎関連性発がんの発育を促進させる）

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

腸炎関連性発がん（CAC）は炎症性腸疾患患者において重要な予後規定因子の一つであるが、その発がんメカニズムはまだ不明な点が多く、予防法の確立は重要な克服すべき問題点である。またがんの進展にはがん細胞自体の特性だけではなく、腫瘍微小環境を構成する筋線維芽細胞の関与が重要であるが、CACに影響を与える腸管筋線維芽細胞（IMF）の役割については十分解明されていない。本研究では IMF の遺伝子発現プロファイリングを解析することにより、CAC の発がん過程における IMF の関与を明らかにし、新規予防薬の探索を行った。

〔方法〕

マウス実験: モデルマウスとして、発がん物質であるアゾキシメタン（AOM）を腹腔内投与後、腸炎を誘発するデキストラン硫酸ナトリウム（DSS）の自由飲水を繰り返し行う AOM/DSS モデルを使用した。新規予防薬の候補である ATN-161 をモデルマウスに投与し腫瘍抑制効果の検証を行った。本研究は浜松医科大学動物実験委員会の承認を得て実施した。

フローサイトメトリー（FCM）: モデルマウスの大腸からエンドポイント時に採取した細胞混濁液を FCM にかけて白血球や上皮細胞を取り除き、線維芽細胞の表面マーカーである PDGFR α 陽性細胞のみを採取した。

遺伝子発現解析: FCM により採取した PDGFR α 陽性細胞から RNA を抽出し、SMARTer Stranded Total RNA-seq kit を用いて RNA sequencing（RNA-seq）ライブラリーを作成した。RNA-seq ライブラリーは 75bp ペアエンドリードにて NextSeq 500 High Output Kit v2 を使用しシーケンスを行い、GeneData Expressionist for Genomic Profiling v9.1.4a を用いて有意差のある遺伝子の同定を行った。

免疫組織化学染色: モデルマウスから採取した、ホルマリン固定大腸組織標本を抗マウス tenascin-C（TNC）モノクローナル抗体、抗マウス Integrin α v β 3 モノクローナル抗体を用いて免疫染色した。

〔結果〕

AOM/DSS モデルマウスにおいて DSS2 回投与終了後 2 週間で前がん病変である dysplasia を認め、また DSS3 回投与終了後 2 週間で carcinoma を認めたため、それぞれ dysplasia モデルと CAC モデルと定義した。FCM から採取したコント

ロールマウスの腸管線維芽細胞と dysplasia モデルの IMF の比較トランスクリプトーム解析を行い、q-value 0.05 以下の有意差を持ち、2 倍以上の有意な変化を認めた 1045 個の遺伝子を抽出した。発現変動遺伝子群を KEGG pathway 解析にかけ、より有意な発現変動を示した focal adhesion、ECM-receptor interaction、PI3K-Akt signaling の 3 つの pathway に注目した。これらの遺伝子群に共通する 24 個の遺伝子の中でより有意差があり変化量が多い、細胞外マトリックスの一つである TNC に着目した ($q=0.00232$ 、 $\text{Log}_2(\text{Fold Change}) = 3.87$)。TNC タンパク質の局在を免疫染色で評価したところ、コントロールの正常粘膜と dysplasia モデルの背景粘膜ではほとんど発現は認められなかったが、dysplasia の存在する間質で TNC タンパク質の過剰発現を認めた ($P<0.001$)。TNC は血管内皮上の integrin $\alpha\beta 3$ に結合し血管新生を促進することがこれまでに報告されているため、免疫染色で dysplasia 病変における TNC と integrin $\alpha\beta 3$ の関係の評価を行うと integrin $\alpha\beta 3$ 陽性の腫瘍微小血管を取り囲むように TNC タンパク質の発現が亢進していることが示された。そこで integrin $\alpha\beta 3$ と TNC の結合を阻害する薬剤である ATN-161 を CAC モデルに投与したところ血管新生を有意に抑制し ($P<0.01$)、CAC の発生も有意に抑制されることが示された ($P<0.05$)。

[考察]

本研究ではこれまで十分解明されていなかった IMF の遺伝子発現の特徴を網羅的に解析し CAC 発がんにおける IMF の役割を明らかにした。解析の結果、大腸がんに関連の深い Wnt signaling や Hippo signaling pathway などの遺伝子群で発現に有意な変動があることが示され、IMF が CAC の腫瘍進展に強く関連することが示唆された。中でも今回注目した TNC は炎症などの影響を受け発現が亢進し、様々ながんとの関係性が知られている。特に大腸がんにおける TNC の発現は肝転移のバイオマーカーになりうるなど腫瘍進展の後期に作用すると報告されているが、本研究では IMF が産生する TNC が前がん病変である dysplasia の段階で発がんに関与することが示された。すなわち通常の大腸がんと異なる繰り返す炎症を伴う CAC の発がん過程における特有のメカニズムを示していると考えられた。

[結論]

IMF を標的とする新たな治療法により CAC の発生を強力に抑制することが出来る可能性が示唆された。今後更に機能解析を進めていくことにより CAC 発生メカニズムの解明と予防戦略の構築へと発展させていきたいと考えている。