

「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」
平成24年度採択研究代表者

H24 年度 実績報告

大島 正伸

金沢大学・がん進展制御研究所・教授

消化器がんの発生・進展過程における慢性炎症の誘導と役割の解明

§1. 研究実施体制

(1)「大島」グループ

① 研究代表者:大島 正伸 (金沢大学がん進展制御研究所、教授)

② 研究項目

- ・ 研究の統括推進
- ・ 炎症反応による発がん・悪性化機構の解析
- ・ がん組織における炎症反応の誘導・慢性化機構の解析

§2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

研究のねらい

本課題研究は、消化器がん発生および悪性化進展過程における慢性炎症の誘導機序および慢性炎症の役割について解明する事を目的としている。それにより、慢性炎症の制御による「がんの先制医療」の可能性を追求する。そのため、胃がんおよび腸がん発生・悪性化マウスモデルを用いた各種遺伝子欠損マウスとの交配実験、薬物投与実験を中心に、慢性炎症反応による発がんおよび悪性化促進機序、およびがん組織での炎症反応誘導・慢性化機序に着目した研究を進める。

これまでの研究の概要

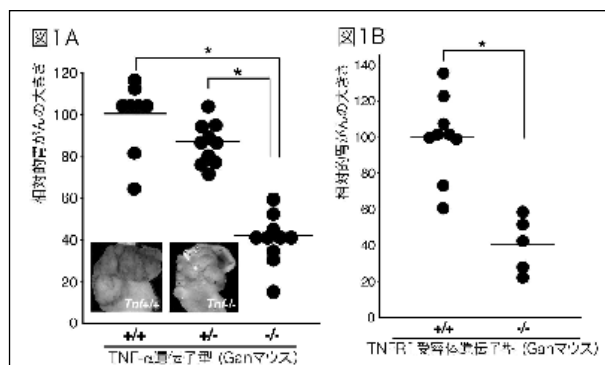
胃がん発生モデルマウス (*Gan* マウス) と TNF- α 遺伝子 (*Tnf*) および TNF- α 受容体 TNFR1 遺伝子 (*Tnfrsf1a*) 欠損マウスとの交配実験を実施し、TNF- α /TNFR1 経路が胃がん発生過程に重要であることを明らかにした。また、網羅的遺伝子発現解析により、TNF- α 依存的に誘導される因子の中から新規発がん促進因子を同定した。また、がん悪性化における炎症反応の作用として、TGF- β 阻害と DSS 投与で誘導した腸炎の相互作用が、浸潤性腸がんの発生を誘導する事を明らかにした。さらに、がんにおける炎症誘導機序の解析のため、また、*Gan* マウスと *Myd88* 欠損マウスとの交配実験を進めており、MyD88 を介した自然免疫反応が、がん組織での炎症誘導に関与する可能性を示す結果が考えられた。

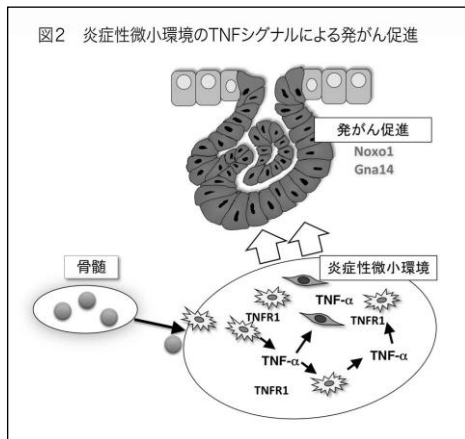
研究成果

(1) TNF- α /TNFR1 シグナルによる胃がん発生促進機序

ヒトと同じ分子機序で胃がんを自然発生する *Gan* マウス胃がん組織では、ヒト胃がん同様に炎症性サイトカイン/ケモカイン発現が誘導されている。TNF- α には皮膚の実験発がんモデルでがん促進作用が報告されているため、*Gan* マウスと TNF- α 遺伝子 (*Tnf*) 欠損マウスとの交配実験を行なうと、*Tnf*^{-/-} *Gan* マウスでは胃がん発生が顕著に抑制された(図1A)。また、TNF- α 受容体の一つである TNFR1 を欠損した *Tnfrsf1a*^{-/-} *Gan* マウスでも同様の腫瘍発生抑制が見られたため(図1B)、TNF- α /TNFR1 シグナルが発がんを促進することが明らかとなった。LMD により分離した組織を用いた発現解析により、TNF- α 、TNFR1 とともに間質細胞で発現を認めた。さらに *Tnf*^{-/-} *Gan* マウスに野生型マウスの骨髄を移植すると腫瘍が発生し、また、*Gan* マウスに *Tnfrsf1a*^{-/-}マウスの骨髄を移植すると腫瘍増殖が抑制された。以上の結果から、腫瘍組織に浸潤した骨髄由来細胞で構築される微小環境における TNF- α /TNFR1 シグナルが、胃がん発生促進に作用すると考えられた(図2)

TNF- α 依存的に胃がん組織で発現誘導する遺伝子群には CD44、CD133、Sox9 などの幹細胞マーカーが含まれており、TNF- α /TNFR1 シグナルは腫瘍細胞の未分化性維持に作用すると考えられた。そこで、TNF- α 依存的誘導遺伝子と Lgr5 陽性胃上皮幹細胞の遺伝子発現プロファイルと比較解析し、





さらに、siRNA 導入実験により Noxo1 および Gna14 の発現が胃がん細胞の腫瘍原性と幹細胞性維持に重要であることを明らかにした（図2）。以上の結果から、TNF- α /TNFR1 により誘導される Noxo1 と Gna14 は発がん促進作用があり、新規抗がん剤の標的候補分子と考えられた（特許出願: 2013-030503）。

（2）TGF- β 経路遮断と炎症反応の相互作用による粘膜下浸潤機構

多段階発がん仮説によると、Wnt 活性化と TGF- β 経路遮断により上皮細胞は浸潤能を獲得して浸潤性の悪性がんが発生する。この悪性化過程への炎症反応の関与はこれまでに示されていない。しかし、TGF- β 受容体遺伝子欠損マウスを用いた解析の結果、TGF- β シグナル遮断だけでは形態変化は認めないが、腸炎組織で TGF- β シグナルを遮断すると腸管上皮細胞が粘膜下に浸潤し、浸潤性腺がんが発生した（図3）。これまでの研究により、Wnt 活性化で発生する良性腫瘍組織では、COX-2/PGE₂ 経路の誘導による微小環境が構築されていることが知られている。したがって、以上の結果から Wnt 活性化と TGF- β 遮断が上皮細胞を悪性化したのではなく、Wnt 活性化で発生した腫瘍組織に形成された炎症性微小環境と、TGF- β シグナル遮断の相互作用が腫瘍の悪性化を誘導したと考えられた。

がん浸潤誘導には、基底膜成分の IV 型コラーゲンを分解する MMP2 の活性化が重要である。これまでに、炎症反応により浸潤するマクロファージが MT1-MMP を産生し、それにより浸潤局所で MMP2 が活性化していることを明らかにした。

（3）MyD88 経路遮断による腫瘍組織炎症誘導の抑制

腫瘍組織での炎症反応誘導における自然免疫反応の役割を明らかにするため、TLR のアダプター分子である MyD88 遺伝子欠損マウスと *Gan* マウスとの交配実験を進めている。これまでに、MyD88 欠損により炎症誘導が認められずに腫瘍発生が抑制された個体を認めている。したがって、MyD88 を介した自然免疫反応ががん組織における炎症誘導に重要な可能性が考えられる。

今後の見通し

TNF- α 依存的に誘導される因子 Noxo1 と Gna14 の、腫瘍原性における役割を明らかにするための実験を進めており、今後は臨床検体における発現確認も行ない、阻害薬探索に進めるための rationale を確立する。同時に Noxo1 または Gna14 の遺伝子改変モデルを作製し、発がん促進分子機序を明らかにする。また、TGF- β 遮断と炎症の相互作用による浸潤がん発生機序について、現在 *in vitro* における細胞浸潤再現系の確立を進めている。この系が出来れば、炎症反応依存的な浸潤誘導因子の特定のためのスクリーニングを開始する事が可能となる。また、腺がん発生と転移に重要と考えられる変異型 p53 マウスをすでに導入しており、来年度から、これまでに作製した浸潤がん発生モデルとの交配により転移再発モデルの作製を行なう。このモデルを使って、悪性化過程における慢性炎症の作用についての研究を進める。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

● 論文詳細情報

1. Kong D, Piao YS, Yamashita S, Oshima H, Oguma K, Fushida S, Fujimura T, Minamoto T, Seno H, Yamada Y, Satou K, Ushijima T, Ishikawa T, and Oshima M. “Inflammation-induced repression of tumor suppressor miR-7 in gastric tumor cells” *Oncogene*, vol. 31, pp.3949-3960, 2012 (DOI: 10.1038/onc.2011.558)
2. Tye H, Kennedy CL, Najdovska M, McLeod L, McCormach W, Hughes N, Dev A, Sievert W, Ooi CH, Ishikawa TO, Oshima H, Bhathal PS, Parker A, Oshima M, Tan P, and Jenkins B. “STAT3-driven upregulation of TLR2 promotes gastric tumorigenesis independent of tumor inflammation” *Cancer Cell*, vol. 22, pp.466-478, 2012. (DOI: 10.1016/j.ccr.2012.08.010)
3. Oshima H and Oshima M, “The inflammatory network in the gastrointestinal tumor microenvironment: lessons from mouse models.” *J Gastroenterol*, vol 47, pp.97-106, 2012. (DOI: 10.1007/s00535-011-0523-6)
4. Oshima H and Oshima M, “The role of PGE₂-associated inflammatory responses in gastric cancer development”, *Semin Immunopathol*, vol. 35, pp.139-150, 2013 (DOI: 10.1007/s00281-012-0353-5)
5. Fujita H, Hamazaki Y, Noda Y, Oshima M, and Minato N. “Claudin-4 deficiency results in urothelial hyperplasia and lethal hydronephrosis” *PLoS One*, vol. 7, e52272, 2013. (DOI: : 10.1371/journal.pone.0052272)
6. Baird M, Ang PW, Clark I, Bishop D, Oshima M, Cook MC, Hemmings C, Takeishi S, Worthley D, Boussioutas A, Wang TC, and Taupin D. The unfolded protein response is activated in *Helicobacter*-induced gastric carcinogenesis in a non-cell autonomous manner. *Lab Invest*, 93: 112-122, 2013. (DOI: 10.1038/labinvest.2012.131)

(3-2) 知財出願

- ① 平成 24 年度特許出願件数(国内 1 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 1 件)