

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10651

研究課題名（和文）肥満関連大腸癌の発癌過程におけるADAM17の役割

研究課題名（英文）The role of ADAM17 in obesity-associated associated tumorigenesis

研究代表者

岡林 剛史（OKABAYASHI, Koji）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師

研究者番号：00338063

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：高脂肪食を摂食した肥満マウスでは、大腸粘膜におけるADAM17の発現が亢進していた。さらに、ADAM17を不活化させるChemokine ligand 14（CXCL14）の発現が、肥満マウスで低下していた。肥満環境下ではADAM17の上流に位置するCXCL14の活性が低下することでADAM17の発現が亢進し、肥満関連cytokineの一種であるTNF- α の活性化から発がんにつながっていると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満関連cytokineの一種であるTNF- α が、大腸がんの発がんに関与していることは知られていたが、そのメカニズムについては不明な点が多かった。本研究の結果から、肥満環境下ではADAM17の上流に位置するCXCL14の活性が低下することでADAM17の発現が亢進し、結果的にTNF- α の活性化につながるメカニズムが明らかとなった。この結果は肥満関連大腸がんの予防や治療につながる有用な知見であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：In obese mice fed a high-fat diet, ADAM17 expression was enhanced in the large intestine mucosa. Furthermore, the expression of Chemokine ligand 14 (CXCL14), which inactivates ADAM17, was decreased in obese mice. In the obese environment, the activity of CXCL14 is decreased, and the expression of ADAM17 is enhanced. It was expected that the activation of TNF- α , which is a kind of obesity-related cytokine, enhanced colorectal carcinogenesis in obese state.

研究分野：大腸疾患

キーワード：大腸癌 発がん 肥満

1. 研究開始当初の背景

近年、肥満が様々な癌の原因となっていることが報告されている (Renahan AG, Lancet, 2008)。大腸癌の発癌メカニズムには、adenoma-carcinoma sequence・de novo 発癌・dysplasia carcinoma sequence などがある。申請者は、肥満により前癌病変である adenoma の発生が増加することをメタ解析にて明らかにした(K Okabayashi, Am J Gastroenterol, 2012)。さらに、肥満は小病変が増加させるだけでなく 10mm 以上の大きな adenoma も増加させ、その影響は発癌初期段階にとどまらず持続的であることを初めて疫学的に証明した。

過去に検討した、アゾキシメタン (AOM) を用いた肥満関連大腸癌発癌マウスモデルを用いた検討では、肥満マウスで大腸腫瘍数が有意に増加することが確認できた (図 1)。その大腸粘膜には高度の F4/80 陽性単球の浸潤を認め、肥満による慢性持続炎症による cytokines の強い影響が示唆された。Multiplex assay にて cytokines 濃度を網羅的に測定したところ、特に TNF- α の濃度が体重依存性に増加しており、TNF- α が肥満関連大腸癌の発生機序に大きな役割を果たす可能性が示唆された。

TNF- α は膜型分子として発現し、TNF- α 変換酵素である ADAM17 による切断 (shedding) によって遊離型 TNF- α となり、オートクライン・パラクライン機序により各種の細胞を活性化させる。また、ADAM17 は、Amphiregulin などの EGFR のリガンドの shedding に関与し、癌との関連がある。またわれわれは、ADAM17KO マウスを用い、ADAM17-EGFR シグナル伝達経路が潰瘍性大腸炎の粘膜治癒促進機構に重要な役割を果たしていることを報告した (図 2 Shimoda, EBioMedicine, 2016)。

以上のことから、ADAM17 は肥満・炎症・細胞増殖に強く関連し、本遺伝子の抑制により肥満関連大腸癌が減少すると予想された。

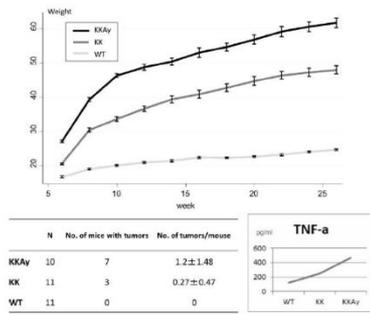


図 1. 肥満による大腸腫瘍形成促進と血清 TNF- α 濃度の関係について

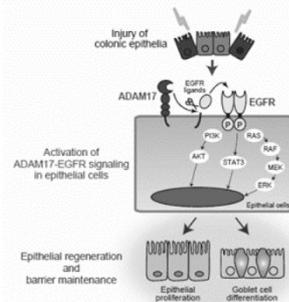


図 2. 粘膜治癒機構における ADAM17 の働き

2. 研究の目的

肥満環境下での ADAM17 の発現と大腸癌発癌の関連を検討することで、肥満関連大腸癌の新たな制御遺伝子としての ADAM17 のはたらきを解明する。

3. 研究の方法

(1) ADAM17 コンディショナル KO マウスを用いた肥満関連大腸癌のメカニズムの解明

ADAM17 コンディショナル KO マウスと発癌モデルの作成

ADAM17flox/flox マウスと腸管上皮細胞で Cre を発現する Villin-Cre マウスを交配し、腸管上皮細胞特異的な ADAM17 コンディショナル KO マウスを作成する。このマウスと ADAM17flox/flox マウスに 42% の脂肪を含んだ高脂肪食を摂取させた後に AOM を投与し、肥満関連大腸癌モデルを作成する。

肥満関連大腸癌発癌メカニズムの検討

先のモデルから得られた腸管上皮粘膜から抽出した mRNA に対して microarray を行い、発現プロファイルを比較する。Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) を用い、ADAM17 を抑制することでどのようなメカニズムに変化が生じ、発癌抑制につながっているのかを明らかにする。また、ADAM17 の shedding を受けるリガンドには TNF- α 、TGF- β 、Amphiregulin などが報告されており、これらのレセプターのシグナル伝達をウエスタンブロットで評価する。

(2) 臨床検体を用いた ADAM17 発現と肥満関連因子の比較検討

手術の際に採取したヒト臨床サンプルを用いて、ADAM17 発現と Body Mass Index、内臓脂肪量、皮下脂肪量、腹囲などを比較し、ヒト大腸癌における ADAM17 発現と肥満に関する臨床的な意義について検討する。

4. 研究成果

本研究の根幹をなすのは、ADAM17flox/flox マウスと腸管上皮細胞で Cre を発現する Villin-Cre マウスを交配し、腸管上皮細胞特異的な ADAM17 コンディショナル KO マウスを作成することであるが、飼育区域に発生した感染症によりそれぞれのマウスが殺処分となってしまいマウスの作成が遅れてしまった。そこで、マウスの交配を続けながら通常マウスに高脂肪食を摂取させ、肥満マウスを作成し、得られた肥満マウスと同期間通常の餌で飼育した通常マウスの腸管粘膜中の ADAM17 の発現を、qPCR で比較した (図.3)。肥満マウスでは通常マウスと比較して ADAM17 の mRNA の発現が亢進していることが確認できた。ADAM17 は肥満マウスで mRNA の発現が亢進していた。加えて、ADAM17 を活性化させるカスケードのアンタゴニストにあたる Chemokine

ligand 14 (以下 CXCL14)の mRNA の発現が、肥満マウスで低下していることも確認できた。肥満環境下では ADAM17 の上流に位置する CXCL14 の活性が変化し、ADAM17 の発現、しいては TNF- α といった肥満関連 cytokine の発現に影響を与えている可能性が示唆された。

腸管上皮細胞特異的な ADAM17 コンディショナル KO マウスの交配は概ね完了したため、実験に必要な個体数を確保した後に肥満関連大腸癌発癌モデルを作成する方針である。上記モデルの完成の後には、microarray 解析を施行する。

ヒト検体における ADAM17, CXCL14 などの発現と肥満に関する因子との関連に関しても、現在データを集積中である。

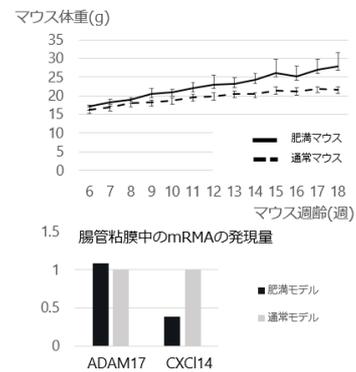


図3. 肥満モデルマウスの作成と腸管粘膜中のADAM17とCXCL14の測定

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shimpei Matsui, Koji Okabayashi, Masashi Tsuruta, Kohei Shigeta, Ryo Seishima, Takashi Ishida, Takayuki Kondo, Yoshiyuki Suzuki, Hirotooshi Hasegawa, Masayuki Shimoda, Shinya Sugimoto, Toshiro Sato, Yuko Kitagawa	4. 巻 110
2. 論文標題 Interleukin-13 and Its Signaling Pathway Is Associated With Obesity-Related Colorectal Tumorigenesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2156-2165
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.14066	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	長谷川 博俊 (HASEGAWA Hirotoshi) (00218455)	慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師（非常勤） (32612)	
研究分担者	鶴田 雅士 (TSURUTA Masashi) (00348666)	慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師 (32612)	