

令和元年6月11日現在

機関番号：32661

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15626

研究課題名(和文) インターロイキン11産生癌関連間質細胞による腫瘍形成促進機構の解明

研究課題名(英文) IL-11 is a novel marker of stromal fibroblasts that promote tumors in a murine model of colitis-associated cancer

研究代表者

仁科 隆史 (NISHINA, Takashi)

東邦大学・医学部・助教

研究者番号：50598365

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト大腸癌部ではIL-11の発現が亢進しており、腫瘍マウスモデルを用いた解析からIL-11の阻害により腫瘍形成が抑制されることが報告されているがIL-11の産生細胞は不明であった。そこで、我々はIL-11遺伝子のレポーターマウスを新たに樹立し、大腸癌モデルマウスを用いて解析を行った。その結果、IL-11はあるシグナル伝達経路の活性化依存的に癌細胞周囲に存在する間質線維芽細胞でIL-11が産生されることを見出した。また、ヒト大腸癌検体をもちいて免疫組織学的解析を行った結果、腫瘍間質領域でIL-11の発現が確認され、マウスモデルの結果と相関した細胞分化マーカーの発現が見られる事を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸癌の増悪には、癌細胞だけでなく、その周囲に存在する間質細胞が重要な役割を担っていることが示されつつあるが、不明な点も多い。今回の我々の結果から癌細胞周囲に存在する特異的な間質線維芽細胞がサイトカインのひとつであるIL-11を産生することで、癌形成に寄与していることを見出した。また、このIL-11の産生機構を阻害剤により抑制すると、癌細胞の増殖抑制や細胞死が認められた。すなわち、IL-11の産生誘導機構の解明は、大腸癌の新たな治療標的の創出につながる研究基盤になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Interleukin (IL)-11 is a member of the IL-6 family of cytokines. Although IL-11 has been considered to promote the development of colitis-associated cancer in both human and mice, it is unclear which types of cells produce IL-11 under such conditions. To address this issue, we generated IL-11-EGFP reporter mice and characterized IL-11-producing cells by using colitis-associated cancer models and the mouse model for familial adenomatous polyposis. While EGFP-positive cells were absent in the colon of control IL-11-EGFP mice, large numbers of EGFP-positive cells appeared in the tumor of both murine tumor models in a kinase activity-dependent manner. Immunohistochemical and FACS analysis revealed that EGFP-positive cells were largely stromal fibroblasts, but not myofibroblasts. Moreover, in human colorectal cancer specimens, stromal fibroblasts produced IL-11 in the tumors. The increase of IL-11 production was positively correlated with the cancer progression.

研究分野：病態生化学

キーワード：レポーターマウス 大腸癌 IL-11 サイトカイン 間質細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々はこれまで、肝臓や腸管において炎症に伴い産生されるサイトカイン IL-11 が、抗酸化機構や細胞の代償性増殖を亢進させる働きをもつことを見出してきた(Nishina et al., Sci. Signal., 2012, Nishina et al., J. Biol. Chem. 2017)。一方で、ヒト大腸癌部では IL-11 の mRNA 量が亢進しており、腫瘍マウスモデルを用いた解析から IL-11 の阻害により腫瘍形成が抑制されることが報告されている(Calon et al, Cancer Cell, 2012, Putoczki et al, Cancer Cell, 2013)。しかし、各組織における IL-11 の産生細胞は不明であったことから、IL-11 の産生を *in vivo* でモニタリングするために、我々は IL-11 遺伝子のレポーターマウスを新たに樹立した(発表準備中)。そして炎症誘発性大腸癌モデルマウスを用いた解析の結果、癌細胞周囲に存在する間質細胞で IL-11 が産生されることを見出した(発表準備中)。癌細胞周囲に存在する間質線維芽細胞は大腸癌形成に重要であると考えられており(Isella et al., Nat. Genet., 2015, Calon et al., Nat. Genet., 2015)、その細胞の特性や機能の解明は、新たな治療戦略を考える上で非常に重要である。

2. 研究の目的

本研究で我々は、いまだ不明な大腸癌関連間質細胞の腫瘍形成促進機構を明らかにするために、IL-11 を産生する大腸癌関連間質細胞の特性ならびに機能を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究は、我々が新たに樹立した IL-11 レポーターマウスと IL-11 機能欠損マウスを用いて、癌関連間質細胞の特性を明らかにすることを目的とする。具体的な研究項目は以下の通りである。

- (1) 申請者が新たに樹立した IL-11 レポーターマウスを用いて、大腸癌形成時における IL-11 産生をイメージングし、腫瘍形成に関わる細胞の特性を明らかにする。
- (2) 腫瘍形成に関わる IL-11 がどのように産生誘導されているかを阻害剤スクリーニングにより明らかにする。

4. 研究成果

(1. 大腸癌時における IL-11 産生癌間質細胞の特性の解明) 腫瘍形成に関わる IL-11 の産生細胞を同定するために、我々が樹立した IL-11 レポーターマウスを用いて炎症誘発性大腸癌モデルマウスを作製、または APC^{min/+}マウスと交配し散発性大腸癌モデルを作製し、*in vivo* で IL-11 産生細胞の同定を試みた。その結果、IL-11 の産生細胞が腫瘍形成に伴って、腫瘍間質領域に出現することを確認し、フローサイトメトリー及び免疫組織学的解析から産生細胞を各種分化マーカーや特異的細胞表面タンパク質から特徴付けることができた。実際に、これらのマーカー発現が、ヒト病理所見と一致するかを、ヒト大腸癌検体(大腸腺腫、早期癌、進行癌)をもちいて免疫組織学的解析を行った。その結果、腫瘍間質領域で IL-11 の発現が確認され(図1)、マウスモデルの結果と関連した細胞分化マーカーの発現が見られる事が分かった。また、進行に伴って、IL-11 産生細胞が増大することが示された。

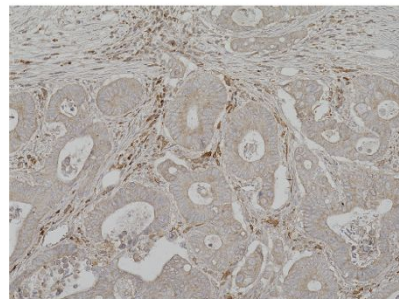


図1
進行癌患者検体において
腫瘍間質領域にIL-11の産生が認められる

(2. 大腸癌における IL-11 産生機構の解明) どのようにして IL-11 の産生が誘導されているかを明らかにするために、過去の報告から IL-11 の産生誘導することが報告されているサイトカインが、腫瘍部位において高発現しているかを調べた。その結果、報告されている分子において、わずかながらでは腫瘍部における発現亢進が見られた。しかしながら、この分子に対する中和抗体を用いても IL-11 産生に影響が見られなかったことから、他の経路を介して産生が誘導されている可能性が示唆された。そこで、どのようにして IL-11 の産生が誘導されているかを明らかにするために、IL-11 の発現を抑制できる阻害剤の探索を行った結果、ある阻害剤を用いた場合に、IL-11 の発現が腫瘍部で減少することが示された(図2)。そして、その際に、腫瘍細胞の細胞増殖の減少、細胞死亢進が認められた。また、これらの解析を進めるために、IL-11 の機能を抑制する中和抗体の樹立に成功した。

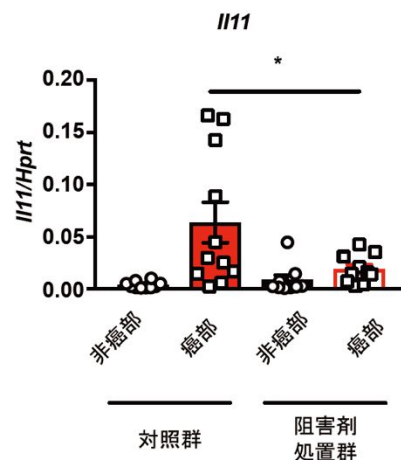


図2
阻害剤の処理により、癌部において、
IL-11のmRNA量が著明に減少する。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

1: Katagiri T, Yamazaki S, Fukui Y, Aoki K, Yagita H, Nishina T, Mikami T, Katagiri S, Shiraishi A, Kimura S, Tateda K, Sumimoto H, Endo S, Kameda H, Nakano H. JunB plays a crucial role in development of regulatory T cells by promoting IL-2 signaling. *Mucosal Immunology*. 2019 (in press). (査読有り)

2: Shindo R, Ohmuraya M, Komazawa-Sakon S, Miyake S, Deguchi Y, Yamazaki S, Nishina T, Yoshimoto T, Kakuta S, Koike M, Uchiyama Y, Konishi H, Kiyama H, Mikami T, Moriwaki K, Araki K, Nakano H. Necroptosis of Intestinal Epithelial Cells Induces Type 3 Innate Lymphoid Cell-Dependent Lethal Ileitis. *iScience*. 2019 May 14;15:536-551. doi: 10.1016/j.isci.2019.05.011. PubMed PMID: 31132747. (査読有り)

3: Kurosawa T, Miyoshi S, Yamazaki S, Nishina T, Mikami T, Oikawa A, Homma S, Nakano H. A murine model of acute lung injury identifies growth factors to promote tissue repair and their biomarkers. *Genes to Cells*. 2019 Feb;24(2):112-125. doi: 10.1111/gtc.12659. (査読有り)

4: Deguchi Y, Nishina T, Asano K, Ohmuraya M, Nakagawa Y, Nakagata N, Sakuma T, Yamamoto T, Araki K, Mikami T, Tanaka M, Nakano H. Generation of and characterization of anti-IL-11 antibodies using newly established IL11-deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 Oct 28;505(2):453-459. doi:10.1016/j.bbrc.2018.09.128. (査読有り)

〔学会発表〕(計 12 件)

1. 竹田 若水, 仁科 隆史, 出口 裕, 西山 千春, 中野 裕康、家族性大腸腺腫症モデルマウスにおけるインターロイキン-11 産生細胞の解析、第 41 回日本分子生物学会年会(パシフィコ横浜)、2018 年

2. Takashi Nishina, Yutaka Deguchi, Wakami Takeda, Tetuo Mikami, Hiroyasu Nakano, IL-11 is a novel marker of stromal fibroblasts that promote tumors in a murine model of colitis-associated cancer、第 77 回日本癌学会学術総会(Osaka International Convention Center)、2018 年

3. 竹田 若水, 仁科 隆史, 出口 裕, 西山 千春, 中野 裕康、家族性大腸腺腫症モデルマウスにおけるインターロイキン-11 産生細胞の解析、平成 30 年度研究ブランディング事業リトリート(湯河原、神奈川)、2018 年

4. 仁科 隆史, 出口 裕, 竹田 若水, 中野 裕康、インターロイキン(IL)-11 は大腸癌形成を促進する stromal fibroblast のマーカーとなる、第 27 回日本 Cell Death 学会学術集会(京都、日本)、2018 年

5. Ryodai Shindo, Masaki Ohmuraya, Sachiko Komazawa-Sakon, Sanae Miyake, Soh Yamazaki, Takashi Nishina, Manolis Pasparakis, Kimi Araki, Hiroyasu Nakano, RIPK3-dependent necroptosis of intestinal epithelial cells results in RORgt+ innate lymphoid cell-dependent lethal ileitis. Australia-Japan Meeting on Cell Death (Tokyo, Japan)、2018

6. Takashi Nishina, Yutaka Deguchi, Wakami Takeda, Tetsuo Mikami, Hiroyasu Nakano, Analysis of Interleukin-11-producing cells in a colitis-associated cancer model using IL-11 reporter mice., Australia-Japan Meeting on Cell Death (Tokyo, Japan)、2018 年

7. 仁科 隆史, 出口 裕, 竹田 若水, 大村谷 昌樹, 田中 正人, 中野 裕康、インターロイキン(IL)-11 を介した腸管の恒常性維持機構の解明、新学術領域研究 酸素生物学・ダイニングコード 合同若手会議(宮城県、日本)、2018 年

8. 竹田 若水, 仁科 隆史, 西山 千春, 中野 裕康、家族性大腸腺腫症および、クローン病モデルマウスにおけるインターロイキン 11 産生細胞の同定、新学術領域研究 酸素生物学・ダイニングコード 合同若手会議(宮城県、日本)、2018 年

9. 仁科 隆史、インターロイキン(IL)-11 を介した腸管の恒常性維持機構の解明、平成 29 年度研究ブランディング事業リトリート(湘南、神奈川)、2017 年

10. 仁科 隆史, 出口 裕, 三浦 亮介, 山崎 創, 新開 泰弘, 小島 裕子, 奥村 康, 熊谷 嘉人, 中野裕康, 親電子リガンドによる IL-11 産生機構とその生体における役割の解明、第 44 回日本毒性学会学術年会(横浜、日本)、2017 年

11. 三好 嗣臣, 黒澤 武介, 仁科 隆史, 山崎 創, 本間 栄, 中野 裕康、型肺胞上皮細胞障害の障害と再生に関する解析、第 26 回日本 Cell Death 学会学術集会(東京都大田区)、2017 年

12. 進藤 綾大, 大村谷 昌樹, 駒澤 幸子, 三宅 早苗, 山崎 創, 仁科 隆史, 小西 博之, 木山 博資, 三上 哲夫, 荒木 喜美, 中野 裕康, ROR t 陽性細胞は RIPK3 および MLKL

依存性に小腸炎を誘導する、第 26 回日本 Cell Death 学会学術集会(東京都大田区)、2017 年

〔図書〕(計 1 件)

1. 仁科 隆史、出口 裕「親電子物質によるインターロイキン 1 1 の発現制御と生体における役割」『臨床免疫・アレルギー科』科学評論社、第 68 巻、5 号、pp556-pp562、2017

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://tohobiochemi.jp/index.html>

https://researchmap.jp/N_Takashi/

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：出口 裕

ローマ字氏名：(DEGUCHI, Yutaka)

研究協力者氏名：竹田 若水

ローマ字氏名：(TAKEDA, Wakami)

研究協力者氏名：中野 裕康

ローマ字氏名：(NAKANNO, Hiroyasu)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。