

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08676

研究課題名(和文) 消化器癌リンパ節転移における細胞間接着因子Claudinの機能解析

研究課題名(英文) Functional analysis of the intercellular adhesion molecule Claudin in gastrointestinal cancer lymph node metastasis

研究代表者

三宅 亨 (Miyake, Toru)

滋賀医科大学・医学部・講師

研究者番号：70581924

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：癌細胞におけるClaudin9の発現意義を検討するため、Claudin9高発現CT26大腸癌細胞株を作成した。qPCRとWestern blottingでmRNAや蛋白の発現を確認し、Claudin9が高発現していることを確認した。これらの細胞株を用いて、マウス盲腸への同所移植を行った。その結果、Claudin9高発現のCT26大腸癌細胞株は親株と比較してリンパ節転移を多く認めた。これらの結果よりClaudin9の高発現株がリンパ節転移に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌は3大成人死因の1つであり、特に大腸癌は女性のがん死亡数の第1位であることから、喫緊の対応が必要な疾患である。大腸癌では3次治療以降の化学療法は生存期間を数ヶ月の延長するのみであり、大腸癌において予後を改善するには現在の治療法とは異なった新たな戦略の確立が必要であると考えられる。多くの癌腫で転移は強い予後規定因子の一つであるが、癌転移は多段階に制御されていることが知られており、その機序については十分解明されていないのが現状である。我々はClaudin9が癌の転移に関与していることマウスモデルを用いて明らかにした。今後、その機序を解明することで新たな治療薬の開発に貢献できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：To investigate the significance of Claudin9 expression in cancer cells, we generated a CT26 colorectal cancer cell line expressing high levels of Claudin9. qPCR and Western blotting were used to confirm the expression of mRNA and protein, and Claudin9 was found to be highly expressed. Using these cell lines, we performed orthotopic transplantation into the mouse cecum. The results showed that the CT26 colon cancer cell line with high Claudin9 expression showed more lymph node metastasis than the parental line. These results suggest that the high expression of Claudin9 may affect the lymph node metastasis.

研究分野：大腸癌

キーワード：癌転移 大腸癌 Claudin

1. 研究開始当初の背景

癌は3大成人死因の1つであり、特に大腸癌は女性のがん死亡数の第1位であることから、喫緊の対応が必要な疾患である。切除不能大腸癌は遺伝子変異に応じた分子標的薬の選択など、治療法の進歩により予後が3年にまで延長してきた。一方で、MSIが低い大腸癌ではPD-1など免疫治療が予後を延長せず、3次治療以降の化学療法は生存期間を数ヶ月の延長するのみであり、大腸癌において予後を改善するには現在の治療法とは異なった新たな戦略の確立が必要であると考えられる。多くの癌腫で転移は強い予後規定因子の一つであり、転移の制御により臨床的に癌患者の予後の改善が期待される。一方で、癌転移は多段階に制御されていることが知られており、その機序については十分解明されていないのが現状である。これまでに様々な癌の転移に関する研究が行われているが、その中で、免疫や血管新生、線維化や腸内細菌など癌細胞辞退ではなく、癌微小環境における各種細胞間の相互作用が癌の進展、転移に強く関与していることが示唆されている。転移の機序を解明するために、動物実験モデルは必要不可欠であるが、よく利用されているマウスモデルにおいても問題点が存在することが知られている。消化器癌の発癌マウスモデルは原発巣からの転移能が低く、臨床における癌の転移形式、頻度とは異なることが多い。また、血行性転移モデルは静脈内に癌細胞を投与することで簡便に遠隔臓器に転移を樹立することが可能となるが、原発巣からの癌細胞の遊走や血管内への intravasation の機序は反映されない。また、免疫は癌の転移に重要な役割を果たしていることが知られており、ヒトの生体内では免疫と癌細胞の相互作用により癌の増殖、進展が構築されるが、ヒト由来癌細胞をマウスに投与してもマウスによる獲得免疫により腫瘍が拒絶されるため、免疫不全マウスを使用する必要がある。このことから、癌転移の研究において *in vivo* での適切なマウスモデルを用いて、その実験系の限界と特徴を考慮して行う必要がある。

上述の点を考慮し、我々は大腸リンパ節癌転移モデルを樹立し、CT26 大腸癌高転移株と CT26 野生型大腸癌株のマイクロアレイを用いた網羅的解析を行い、Claudin9 が高転移株で高発現であった。Claudin ファミリーは、分子量が 20-37kDa の細胞膜 4 回貫通型の膜タンパクであり、tight junction 蛋白である。27 種類の Claudin ファミリーがあり、組織分布特異性と多様性があることが知られている。Tight junction は細胞間同士を接着し、細胞のホメオスタシスの維持に重要であり、Claudin9 は内耳や角膜に発現し、難聴との関連が報告されている。また、Claudin9/6 は癌の進展、転移において重要なカテニンを誘導することが知られている(F Nunes, et al: Journal of Cell Science; 2006)。興味深いことに TCGA (The Cancer Genome Atlas)を用いた予後解析で Claudin9 高発現大腸癌群は低発現大腸癌群と比較して有意に予後不良であった。これまでの報告で、原発巣において様々な細胞接着因子が重要であることが知られているが、一方で、Claudin9 と癌転移の関係に関するこれまでの報告は無い。

2. 研究の目的

癌細胞の Claudin 発現がリンパ節転移など癌転移に及ぼす影響について分子生理学的手法を用いて解明することを目的とする。我々は同所移植で CT26 大腸癌高転移株を樹立し、CT26 高転

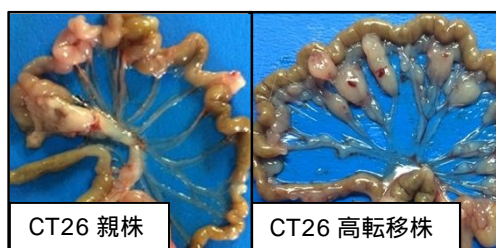


図 1: 大腸癌高転移株の樹立。
腸間膜に多数の転移を認めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三宅 亨
2. 発表標題 大腸癌転移における Claudin9 発現の機能解析
3. 学会等名 制癌剤適応研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 生田大二、三宅 亨、徳田 彩、村田 聡、谷 眞至
2. 発表標題 Establishment of murine colon cancer cell lines with high metastatic ability to mesenteric lymph nodes
3. 学会等名 日本癌学会
4. 発表年 2018年

〔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	谷 眞至 (Masaji Tani) (60236677)	滋賀医科大学・医学部・教授 (14202)	
研究分担者	生田 大二 (Ikuta Daiji) (00581935)	滋賀医科大学・医学部・客員助教 (14202)	

6. 研究組織（つづき）

	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	徳田 彩 (Tokuda Aya) (80814392)	滋賀医科大学・医学部・医員 (14202)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関