

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 28 日現在

機関番号：82654

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860538

研究課題名(和文)消化管の炎症性発癌におけるオートファジーの意義の解明と治療応用

研究課題名(英文)The role of autophagy in gastrointestinal carcinogenesis

研究代表者

崎谷 康佑 (Kosuke, Sakitani)

公益財団法人朝日生命成人病研究所・その他部局等・その他

研究者番号：60631299

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：大腸癌の治療法として、癌細胞が生存に利用する経路を複数同時に阻害すると、単独の治療では効果がでにくくなるような遺伝子異常を癌細胞が持っていたとしても、効果的であることを示した。マウスモデル、ヒト大腸癌細胞株を用い検討を行った。分子標的治療として、「オートファジー」と「小胞体ストレス応答」の経路を同時に阻害すると、癌抑制遺伝子p53に変異があっても、効果的にアポトーシスが誘導できた。

研究成果の概要(英文)：We showed that suppression of autophagy in colon cancer cells caused anti-tumor effects via enhanced apoptosis through p53 and unfolded protein response (UPR) activation. In addition, our study implies that suppressing UPR pathway is a valid strategy when colon cancer cells with mutant p53 are resistant to autophagic inhibition.

研究分野：消化器内科学

キーワード：大腸癌 オートファジー 小胞体ストレス アポトーシス p53 分子標的治療 クロロキン HCT116

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本人の死因第1位は癌であり、部位別では胃癌が男性2位、女性3位、大腸癌が女性1位、男性3位である(厚生労働省、人口動態統計2012年)。消化管の癌は我が国を含め世界的に罹患率、死亡率が高い。消化管癌の発癌の分子メカニズムの解明を進め新たな治療法を開発すれば多くの人命を救うことができる。

2. 研究の目的

完成した癌に対する十分な治療法が確立していないことが問題である。StageIVの胃癌の生存期間中央値(MST)は1年程度にとどまる。大腸癌発癌についてはApc/-catenin経路、p53遺伝子などの関与が知られるがこれらのみでは全症例を説明できない(New Eng J M 1988)。近年、切除不能進行大腸癌についてEGFRやVEGFに対する分子標的治療も行われるが、抗癌剤に抵抗性の症例もありMSTは2年程度である。完成した胃癌・大腸癌に対する治療標的遺伝子を検討することとした。

3. 研究の方法

申請者は、オートファジー(Molecular cell 2008)に注目した。オートファジーは細胞内アミノ酸再利用機構であり(FEBS letters 1993)、炎症や癌でも役割を持つことが明らかになりつつあるが(New Eng J M 2013)、完成した胃癌や大腸癌に抑制的に働くのか、促進的に働くのか不明である。全身オートファジー不能マウスは生後24時間で致死のため、開発者の水島昇博士より譲り受けたATG5 flox/floxマウス(Nature 2006)とCK19-CreERTマウスを交配し消化管特異的オートファジー不能マウスを作成し、炎症性発癌におけるオートファジーの役割を検討した。

4. 研究成果

完成した大腸癌のオートファジー遺伝子を欠損させることにより、オートファジーの抗腫瘍効果を検討した。消化管特異的オートファジー不能マウスCK19^{CreERT}; Atg5^{flox/flox}に炎症性腸疾患からの発癌モデルであるAOM/DSS誘発大腸癌を作成した。

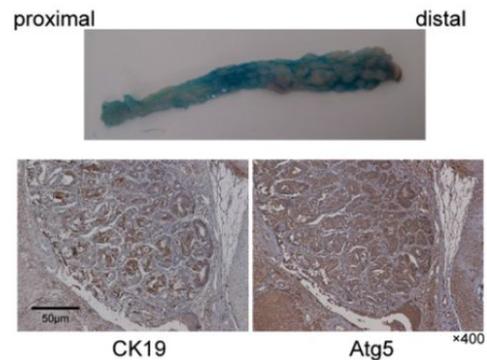


Fig1

この腫瘍は免疫染色にてCK19, Atg5陽性であり(Fig1)、腫瘍の完成後にTAMを投与しオートファジーを欠損させた。AOM/DSS腫瘍の個数は、オートファジー欠損群とコントロール群では共に約10個で統計学的有意差はなかったが、平均腫瘍径はオートファジー欠損群2.3mm vs コントロール群2.8mm ($p = 0.018$)で、オートファジー阻害による腫瘍縮小を認めた(Fig2)。

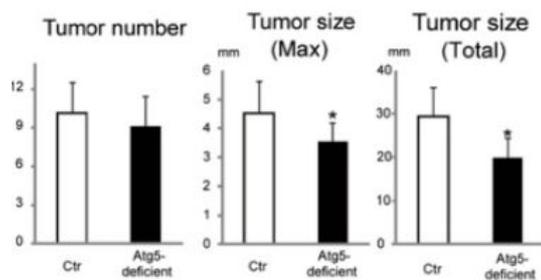


Fig2

オートファジー阻害による「癌抑制遺伝子p53活性化 cleaved caspase3増強 apoptosis増加」を免疫染色、western blotting(Fig3), real time PCR, FACS analysisにてin vivo, in vitroで示した。

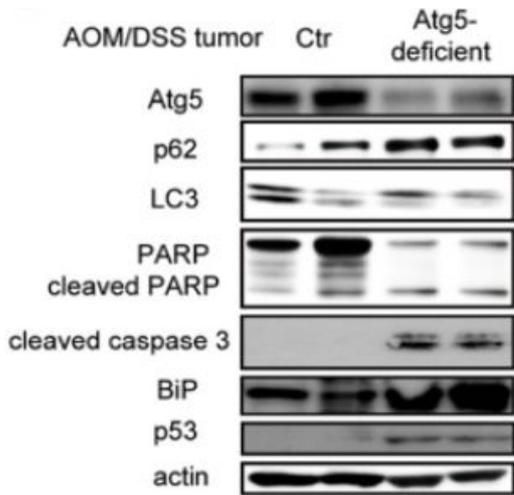


Fig3

また、オートファジー阻害に代償的に ER ストレスマーカーが増加していた (Fig4)。p53 mutant の cell line はオートファジー阻害による抗癌治療に抵抗性であったが、オートファジーと ER ストレス応答の経路を同時に阻害すると、良好な抗腫瘍効果を示した (Fig5)。

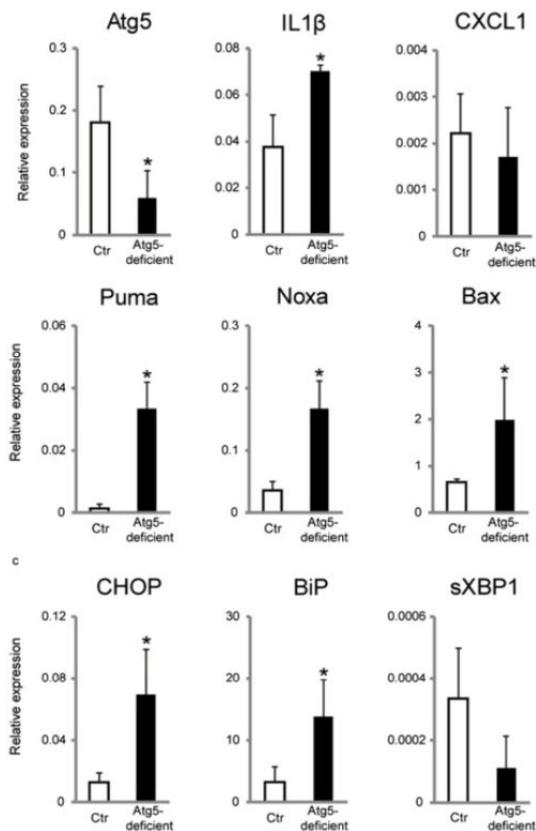


Fig4

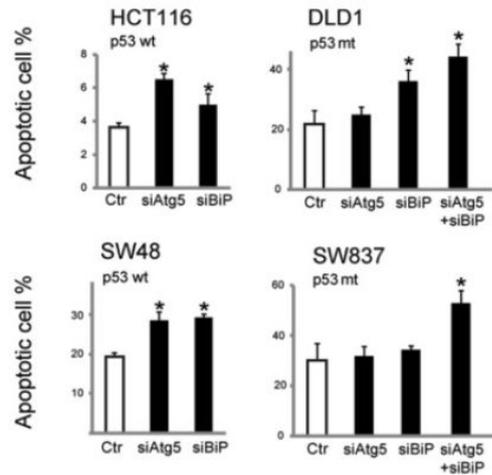


Fig5

一連の検討で、オートファジーが大腸癌の治療標的となる、大腸癌におけるオートファジー阻害の効果がp53とERストレスによるアポトーシスを介する、p53 変異による治療抵抗性には ER ストレス応答を同時に阻害することが有用である、ことを示した(Fig6)。

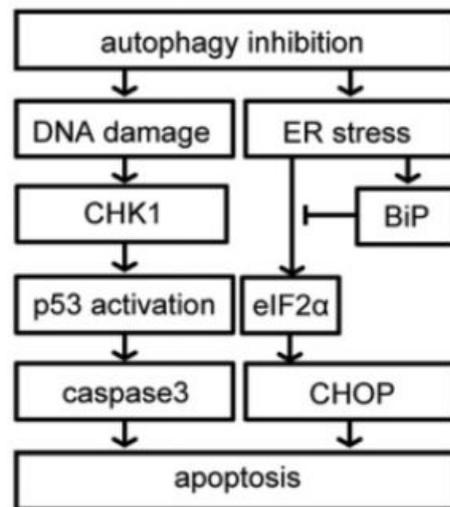


Fig6

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

Sakitani K, Hirata Y, Hikiba Y, Hayakawa Y, Ihara S, Suzuki H, Suzuki N, Serizawa T, Kinoshita H, Sakamoto K, Nakagawa H, Tateishi K, Maeda S, Ikenoue T, Kawazu S, Koike K.

Inhibition of autophagy exerts anti-colon cancer effects via apoptosis induced by p53 activation and ER stress. BMC Cancer. 2015 Oct 24;15:795.

〔学会発表〕(計1件)

K.Sakitani, Y.Hirata, Y.Hikiba, T.Shinpo, S.Ihara, T.Serizawa, N.Suzuki, H.Kinoshita, H.Nakagawa, T.Ikenoue, K. Koike
CK19-specific Autophagy Knockout Mice Model to Examine the Colon Cancer Progression
Digestive Disease Week 2014 / Chicago, IL, USA : May 4 - 6, 2014

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者 崎谷康佑
(SAKITANI KOSUKE)

公益財団法人朝日生命成人病研究所, その他部局等, 教授

研究者番号 : 60631299

(2) 研究分担者
()

研究者番号 :

(3) 連携研究者
()

研究者番号 :