

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2015～2016

課題番号：15H05574

研究課題名(和文) マウスモデルを用いた大腸癌転移の研究

研究課題名(英文) Studies on Metastasis of Colon Cancer Using Mouse Models

研究代表者

有村 純暢(Arimura, Sumimasa)

東京大学・医科学研究所・助教

研究者番号：60552015

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,100,000円

研究成果の概要(和文)：がんによる死亡原因の多くは、腫瘍細胞の組織浸潤を介した他臓器への遠隔転移にある。これまでに研究代表者らは、腸管悪性腫瘍の新たなモデルマウスの作出に成功した。そこで、本研究では、当該モデルマウスでの腸管腫瘍の悪性化機構の解析を進め、微小環境による制御機構の重要性を示す結果を得た。得られた知見は、腫瘍悪性化制御の新たな治療戦略の可能性を提示するものである。

研究成果の概要(英文)：Most malignant tumor deaths are caused by metastasis with tissue invasion capacity of tumor cells. We previously developed a new mouse model for intestinal malignant tumors. In this study, we demonstrate that tumor progression in these model mice is regulated by tumor microenvironment. Our finding may open new horizons in research of tumor progression and treatment of malignant tumors.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：腸管腫瘍 悪性化 モデルマウス

1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍（がん）による死亡原因の約9割は、他臓器への遠隔転移である。悪性化した腫瘍細胞は、1) 原発巣から離脱し、2) 血管内への侵入、3) 血流中での生存、4) 遠隔組織における血管外への遊出を経て、5) 微小転移巣を形成し、6) 拡大することが可能となる（図1参照）。現時点では、転移巣拡大の制御が極めて困難であることから、悪性腫瘍克服の治療標的として、転移巣拡大以前の上記1)～5)の各過程が注目されている。

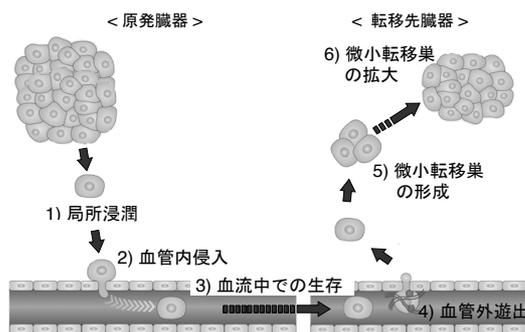


図1 転移カスケード。悪性化した腫瘍細胞は原発巣浸潤から転移形成までの各素過程を突破していく。

(Nature Rev. Immunol. 15: 73-86, 2015を改変)

大腸癌は、ここ30年で約5倍に増加し、男女共に最も罹患数の多いがんになりつつあるが、早期発見・早期治療が功を奏しており、早期の大腸癌であれば、ほぼ完治する。一方、大腸癌による死亡原因も他のがん種と同様に、主として遠隔転移によるものであるが、未だに遠隔転移の制御には至っていないため、より適切な大腸癌の悪性化モデルを用いた多角的なアプローチによる新規治療技術の創出が必要とされていた。しかしながら、大腸癌の研究分野においては、腫瘍を発生してから、原発巣内で浸潤し、血管を介して遠隔転移までを引き起こす自然発症モデルマウスに関する報告が極めて少なく、腸管悪性腫瘍モデルマウスの作出及びその解析が希求されていた。

このような状況下、研究代表者らは腸管に上皮由来の腫瘍を発生するモデルマウスとして、全世界で活用されているApc^{MIN}マウス（以下、Apcマウスと略す）を用いた研究を実施した。その過程で、ApcマウスとXyz欠損マウスとの交配で作出したApc/Xyz二重変異マウス（以下、Apc/Xyzマウスと略す）を解析したところ、Apcマウスでの腸管腫瘍が、Xyz欠損の導入によって、悪性化することを見出した。当該マウスに発生した分化型の悪性腫瘍が腺腔構造を保持していること

やヒト大腸癌の9割以上が分化型の癌であることなどを考慮すると、Apc/Xyzマウスは大腸癌の悪性化制御機構を解明する上で、適切なモデルマウスとなると期待された。

2. 研究の目的

上述の通り、研究代表者らは腸管悪性腫瘍モデルマウス（Apc/Xyzマウス）の作出に成功した。そこで、本研究では、独自に作出したApc/Xyzマウスでの腸管腫瘍の悪性化機構の解明に挑戦し、その成果に基づき、新たな悪性化制御技術基盤の確立を目的とした。

3. 研究の方法

1) 腸管悪性腫瘍モデルマウス（Apc/Xyzマウス）での腫瘍悪性化に対する造血系細胞の関与の検討

Apc/Xyzマウスでの腸管腫瘍の悪性化に対する造血系細胞の関与の有無を検証する目的で、以下の3項目の機能解析実験を計画し、実施した。

1-1) 造血系細胞の単独・多重欠損Apc/Xyzマウスでの腫瘍悪性化レベルの評価

Apc/Xyzマウス腸管の悪性化における造血系細胞の影響を検討するために、Apc/Xyzマウスと各種の造血系細胞欠損マウスとの交配により、多様な複合変異マウスを作成し、それぞれの造血系細胞群の欠落による腸管腫瘍の悪性化レベルを評価した（図2参照）。



図2 造血系細胞の単独・多重欠損Apc/Xyzマウスでの腫瘍悪性化レベルの評価

1-2) 野生型マウスからの骨髄移植を受けたApc/Xyzマウスでの腫瘍悪性化レベルの評価

前項の実験結果を踏まえ（「4. 研究成果」の1-1に詳述）、Apc/Xyzマウスの腸管腫瘍悪性化における造血系細胞の役割に着目した。そこで、当該機能におけるXyz欠損の意義を知る目的で、Apc/Xyzマウスへの骨髄移植実験を実施した。具体的には、Apc/XyzマウスへのX線照射後に野生型（正常）マウスの骨

髓細胞を移植することで、ドナーの野生型造血系細胞をもつ **Apc/XYZ** マウスを作出し、腸管腫瘍の悪性化レベルを評価した（図3参照）。なお、**Apc** マウスへのX線照射後に野生型マウスの骨髄細胞を移植する対照実験も同時に実施した。



図3 野生型マウスからの骨髄移植を受けた**Apc/XYZ**マウスでの腫瘍悪性化レベルの評価

1-3) 特定の造血系細胞種特異的に **XYZ** 欠損を導入した **Apc** マウスでの腫瘍悪性化レベルの評価

前項の実験結果を踏まえ（「4. 研究成果」の1-2に詳述）、引き続き、**Apc/XYZ** マウスの腸管腫瘍悪性化に対する造血系細胞での **XYZ** 欠損の意義を知る目的で、**XYZ** の条件付き欠損に必要な **floxed** マウスを作出し、**Cre-loxP** システムによる特定の造血系細胞種特異的な **XYZ** 欠損の導入を進めた（図4参照）。



図4 特定の細胞種特異的に**XYZ**欠損を導入した**Apc**マウスでの腫瘍悪性化レベルの評価

4. 研究成果

下記の通り、研究代表者らは独自に樹立した腸管悪性腫瘍の自然発症モデルにおける腫瘍の悪性化には、造血系細胞による未解明の微小環境制御機構が重要であることを見出した。

1-1) 造血系細胞の単独・多重欠損 **Apc/XYZ** マウスでの腫瘍悪性化レベルの評価

本研究によって、**Apc/XYZ** マウスでの腸管腫瘍の悪性化レベルが、特定の造血系細胞種の欠損によって著しく減弱することが明らかとなった。そこで、現在、当該細胞種を単一、もしくは、それに準ずる細胞種に絞り込むことを目的として、より詳細な造血系細胞欠損を導入した **Apc/XYZ** マウスを作出し、その解析に着手している。

1-2) 野生型マウスからの骨髄移植を受けた **Apc/XYZ** マウスでの腫瘍悪性化レベルの評価

本研究の対照実験として実施した、**Apc** マウスへの野生型マウスの骨髄移植実験において、腸管腫瘍の悪性化が認められた。このため、放射線照射による突然変異の影響を懸念し、骨髄移植実験に

よる悪性化レベルの評価を中断した。

1-3) 特定の造血系細胞種特異的に **XYZ** 欠損を導入した **Apc** マウスでの腫瘍悪性化レベルの評価

上記1-1)の研究成果により、**Apc/XYZ** マウスでの腫瘍細胞の悪性化に特定の造血系細胞が重要な役割を担っていることが判明した。しかしながら、当該成果のみでは、その役割における **XYZ** 欠損の意義を示すことはできない。そこで、前項1-2)の実験中断を受け、**XYZ** の条件付き欠損に必要な **floxed** マウスを作出した。さらに、当該マウスに **Apc** 変異を導入した二重変異マウスと各種造血系細胞特異的な **Cre** 発現マウスとの交配による多様な複合変異マウスの作出も完了した。既に、それらの複合変異マウスに対する病態組織学的・生化学的解析に着手している。

以上の研究成果を踏まえ、腸管腫瘍の悪性化に重要な造血系細胞の特定と、その役割や分子メカニズムの解明を推進することで、革新的な悪性化制御技術の開発基盤の確立を引き続き目指す。

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2件）

- (1) Miyoshi S, Tezuka T, Arimura S, Tomono T, Okada T, and Yamanashi Y. *DOK7* gene therapy enhances motor activity and life span in ALS model mice. *EMBO Molecular Medicine*, in press（査読有）
- (2) Waseda M, Arimura S, Shimura E, Nakae S, and Yamanashi Y. Loss of Dok-1 and Dok-2 in mice causes severe experimental colitis accompanied by reduced expression of IL-17A and IL-22. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 478: 135-142 (2016)（査読有）
doi: 10.1016/j.bbrc.2016.07.079.

〔学会発表〕（計2件）

- (1) 有村純暢：神経筋シナプス形成増強治療の創出、第31回日本整形外科学会基礎学術集会（福岡）、2016年10月13-14日（招待講演）
- (2) 有村純暢：DOK7 Gene Therapy Benefits Mouse Models of Diseases Characterized by Defects in the Neuromuscular Junction（DOK7 遺伝子治

療は神経筋接合部の形成不全を伴う神経筋疾患モデルマウスの病態を改善する)、第34回日本骨代謝学会学術総会/第3回アジア太平洋骨代謝学会議(大阪)、2016年7月22-24日(招待講演)

〔図書〕(計1件)

(1) 有村純暢、山梨裕司: NMJ 形成不全を伴う神経筋疾患に対する新規治療概念の創出、医学のあゆみ、医歯薬出版、255 巻 12・13 合併号、2015、1195-1196

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/genetics/html/home.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有村 純暢 (Sumimasa Arimura)
東京大学・医科学研究所・助教
研究者番号: 60552015

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

山梨 裕司 (Yuji Yamanashi)
東京大学・医科学研究所・教授
研究者番号: 40202387