

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号： 11401
研究種目： 奨励研究
研究期間： 2020～2020
課題番号： 20H01094
研究課題名 マクロファージの過剰炎症反応による炎症癌への治療応用

研究代表者

高金 くらら (Takagane, Kurara)

秋田大学・医学系研究科・技術職員

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 480,000円

研究成果の概要：SKAP2はsrc キナーゼによってリン酸化を受けるアダプタータンパク質である。大腸炎モデルでSKAP2 ノックアウトマウスにおいて強い炎症と腫瘍が見られたことから、SKAP2の炎症への関与が示唆された。SKAP2が炎症を制御するメカニズムを明らかにすることを目的とした。最初にSKAP2 KOマウスに増加する炎症性サイトカインを明らかにした。さらに、SKAP2と結合する分子を免疫沈降法で調べた。そしてそれら相互作用する分子が細胞の染色において共局在するか確認した。SKAP2の負の炎症制御は、SHP1,2を介してTLR4シグナル経路を負に制御する事に依存していることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題は近年増加傾向の日本の指定難病では最も多い潰瘍性大腸癌などを含む炎症性大腸癌に着目している。下痢、血便を伴う大腸炎は難治性や重症な場合、大腸全摘出が必要になる。炎症を伴う癌は予後が悪いことが多いので、炎症を負に制御するSKAP2のメカニズムを調べることは重要である。現在、炎症性大腸癌に関わるSKAP2の報告はないが今回SKAP2の炎症性癌の新たなメカニズムが明らかにしたことで治療標的分子としてさらなる研究が期待される。

研究分野： 炎症発癌

キーワード： 炎症性癌 サイトカイン TLR炎症経路 SKAP2

1. 研究の目的

SKAP2 は src キナーゼによってリン酸化を受けるアダプタータンパク質である。SKAP2 はマクロファージや骨髄細胞において発現している。このSKAP2 ノックアウトマウスに LPS 投与すると、野生型に比べ強い炎症が生じた。さらに AOM/DSS 投与によっても SKAP2 KO において強い炎症と腫瘍形成が見られた(図1)。これらのことから、SKAP2 は炎症を負に制御していることが示唆された。

本研究は近年増加傾向の日本の指定難病では最も多い潰瘍性大腸癌などを含む炎症性大腸癌に着目した。下痢、血便を伴う大腸炎は難治性や重症な場合、大腸全摘出が必要になる。臨床において炎症性癌は予後が悪い為、SKAP2 が炎症を負に制御する分子メカニズムを明らかにすることは重要である。SKAP2 が治療標的になるか判定し、メカニズムを明らかにし、基盤データを作ることを目的とした。

2. 研究成果

(1)SKAP2 KO マウスに増加する炎症性サイトカインについて、RealTime-PCR やサイトカインアレイ、ウェスタンブロットで確認した。SKAP2 KO マウスの LPS 投与群において野生型マウスと比較して IL1β や IL6、NFκB などの炎症性サイトカインの増加が見られた(図2)。このことから SKAP2 は炎症を負に制御する事が明らかになった。

(2)SKAP2 と結合する分子を免疫沈降法で調べた。炎症に関わる TLR4、MyD88、SHP1、SHP2、Sirpa をクローニングしてタグを付加した発現ベクターに遺伝子導入し、SKAP2 との結合を検証した。

結合が見られた分子について、内在性の分子の結合を免疫沈降法で検証した。その分子メカニズムとして、免疫沈降の結果から SKAP2 は MyD88 を介して TLR と結合することが分かった。同時に SKAP2 は炎症経路を抑制するチロシンホスファターゼ SHP-1, 2 と結合することが明らかとなった(図3)。その結果、SKAP2 を介して Sirpa/SHP-1, 2 と TLR4 の相互作用が促進され、SKAP2 KO マクロファージでは、その相互作用が減弱することが認められた。

(3)細胞の染色においても相互作用する分子が共局在するか調べた。蛍光染色においても SKAP2 と TLR4、SHP2 の共局在が確認できた(図4)。

これらのことから、SKAP2 の負の炎症制御は、SHP1, 2 を介して TLR4 シグナル経路を負に制御する事に依存していることが明らかになった(図5)。SKAP2 は治療標的分子として有望であり、炎症性大腸癌治療標的としてさらなる研究が必要である。

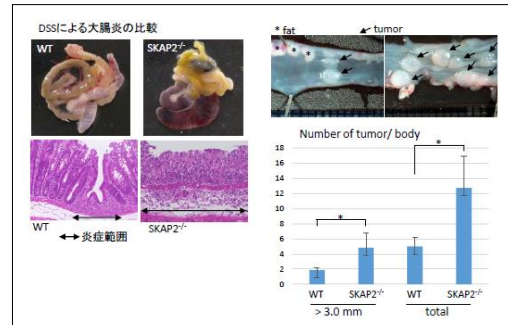


図1 AOM/DSS 投与のマウスの大腸

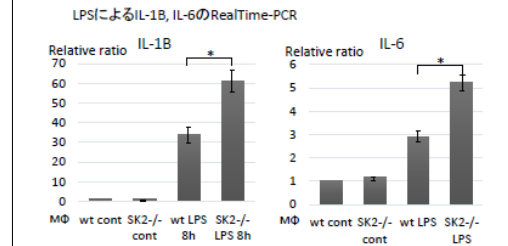


図2 IL1B, IL-6 の RealTime-PCR

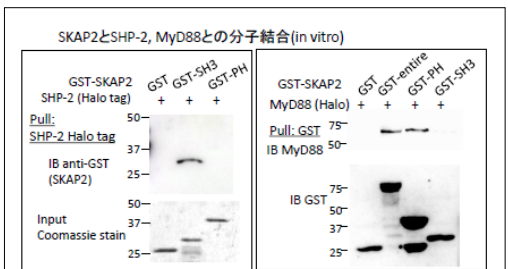


図3 SKAP2 と SHP2, Myd88 との分子結合

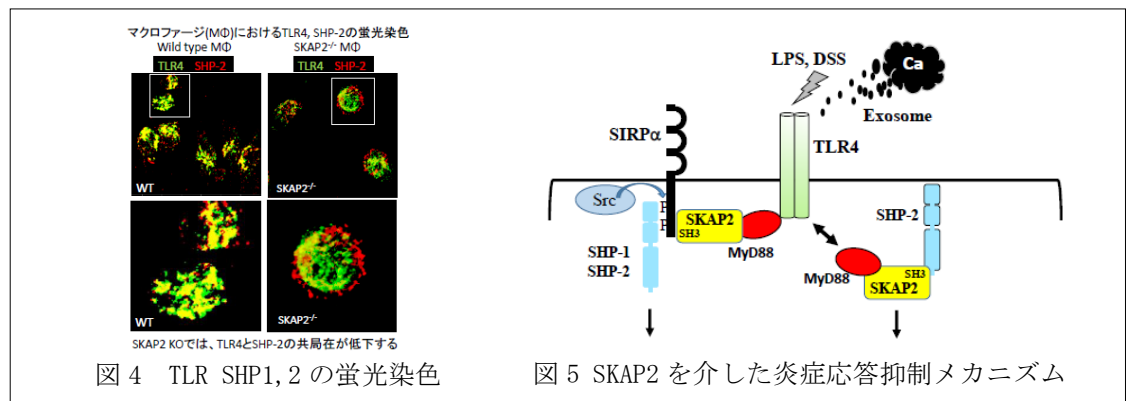


図4 TLR SHP1, 2 の蛍光染色

図5 SKAP2 を介した炎症応答抑制メカニズム

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 Yuto Sasaki , Kurara Takagane , Takumi Konno , Go Itoh , Sei Kuriyama , Kazuyoshi Yanagihara , Masakazu Yashiro , Satoru Yamada , Shinya Murakami , Masamitsu Tanaka	4. 巻 112
2. 論文標題 Expression of asporin reprograms cancer cells to acquire resistance to oxidative stress.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1251-1261
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.14794.	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4件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田中正光、高金くらら 他
2. 発表標題 がんサポート線維芽細胞CEFの産生機構
3. 学会等名 第109回日本病理学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中正光、伊藤剛、高金くらら、栗山正、八代正和
2. 発表標題 CAFにより教育された線維芽細胞の特性変化
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中正光、高金くらら
2. 発表標題 Asporinによる癌細胞の酸化ストレス抵抗性獲得と免疫抑制作用
3. 学会等名 第110回日本病理学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高金くらら、馬越通信、後藤明輝、田中正光
2. 発表標題 SKAP2はチロシンホスファターゼSHP-1,2を介してTLR炎症経路を抑制する
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
田中 正光	(Tanaka Masami tsu)