

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860519

研究課題名(和文)大腸発癌におけるTNF-R1の検討

研究課題名(英文)Increased TNF-R1 expression as a promising biomarker of human colorectal cancer

## 研究代表者

細野 邦広 (HOSONO, Kunihiro)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：50537339

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)：炎症性サイトカインである腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor: TNF)は、種々のサイトカインの誘導や細胞増殖、分化、アポトーシスによる細胞死の誘導など多様な細胞現象に重要な役割を果たしている。TNFの過剰な産生はさまざまな炎症性疾患や癌の発症(胃癌、乳癌など)に関与し、TNFはこれらの治療の標的となっているが、大腸癌においてはその臨床応用は未だ途上である。本研究ではこれらの知見に基づき、大腸発癌過程におけるTNF-R1関連因子の分子機構を明らかにし、また大腸癌におけるTNF-R1のバイオマーカーとしての臨床応用を目指すものである。

研究成果の概要(英文)：The proinflammatory cytokine, tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , is a major mediator of cancer-related inflammation. However, little has been reported on the relation between TNF- $\alpha$  and sporadically occurring colorectal neoplasms. The aim of this study was to determine the expression statuses of TNF- $\alpha$  and its receptors in colorectal cancer. We measured the serum concentrations of TNF- $\alpha$  and those of its receptors in colorectal cancer patients and healthy controls. The serum levels of sTNF-R1 in cancer patients were significantly higher as compared with those in the control group. ROC analysis revealed the high diagnostic sensitivity of TNF-R1 measurements (AUC was 0.928) in patients for the diagnosis of colorectal cancer. These results suggest that TNF-R1 may only be a promising biomarker of colorectal cancer, but also play an important role in the very early stage of colorectal carcinogenesis.

研究分野：消化器内科学

キーワード：大腸癌 バイオマーカー TNF- $\alpha$  TNF-R1

## 1. 研究開始当初の背景

炎症性サイトカインである腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor: TNF) は種々の病態で産生が亢進し、血中濃度が上昇する。産生が高まる原因としては、感染に伴う反応性、敗血症性ショック、関節リウマチなどの骨・関節疾患、心不全・動脈硬化などの心血管疾患、気管支喘息などの呼吸器疾患、アレルギー性・自己免疫性疾患、炎症性腸疾患、腫瘍性、肥満、糖尿病などが挙げられている。炎症性腸疾患のクローン病の炎症部腸管粘膜局所では、単球や活性化マクロファージから産生される TNF- $\alpha$  が増加しており、サイトカイン標的療法として抗 TNF- $\alpha$  抗体療法が行われ有効性が確認されている。悪性疾患に関しては、胃癌、乳癌などの癌の発症に関与し、TNF- $\alpha$  高値は乳癌、慢性リンパ性白血病、膵癌、腎細胞癌などの予後不良因子とされるが、大腸癌に関する報告は少なくその意義は完全には解明されていない。TNF には2つの特異的受容体が存在し、TNF 受容体 1 型 (TNF-R1) と TNF 受容体 2 型 (TNF-R2) のいずれかによって媒介され、TNF-R1 は全身の組織、TNF-R2 は主に免疫系の細胞に発現しており、TNF- $\alpha$  の生理活性の大部分は TNF-R1 を介していると考えられている。我々はこの TNF-R1 に着目し、大腸腺腫患者において血清 TNF-R1 値が高いこと、またヒト大腸組織の解析で大腸腺腫周囲の間質において TNF- $\alpha$  の高発現があり、大腸腺腫では TNF-R1 の発現が正常大腸上皮より有意に高く、下流の phospho-c-Jun N-terminal kinase (p-JNK) が高発現していることを解明した。これらの結果は TNF-R1/JNK 経路が腺腫において亢進されていることを示唆し、この経路は大腸癌のごく初期の段階を表す腺腫形成に重要な役割を果たしている可能性がある。

## 2. 研究の目的

TNF は、種々のサイトカインの誘導や細胞増殖、

分化、アポトーシスによる細胞死の誘導など多様な細胞現象に重要な役割を果たしている。TNF の過剰な産生はさまざまな炎症性疾患や癌の発症 (胃癌、乳癌など) に関与し、TNF はこれらの治療の標的となっているが、大腸癌においてはその臨床応用は未だ途上である。研究代表者らはこれまでに大腸癌の前癌病変である大腸腺腫において TNF- $\alpha$  の受容体の一つである TNF-R1 の発現を世界に先駆けて実証し、血清 TNF-R1 が大腸腺腫のバイオマーカーとなることを突き止めた。本研究ではこれらの知見に基づき、大腸発癌過程における TNF-R1 関連因子の分子機構を明らかにし、また大腸癌の早期発見における TNF-R1 のバイオマーカーとしての臨床応用を目指すものである。

## 3. 研究の方法

大腸発癌過程における TNF-R1 関連因子の分子機構を明らかにし、また大腸癌における TNF-R1 の臨床的意義を解明することを目的とする。まず、分子機構の解明は TNF-R1/JNK 経路に着目し、TNF-R1 ノックアウトマウスと TNF-R2 ノックアウトマウスでの大腸発癌実験を行い腫瘍形成への影響を明らかにし、正常部と腫瘍部の JNK 活性や下流シグナルの発現をタンパク解析や免疫染色法で解析し、大腸発癌における分子機構を解明することを計画している。さらには抗 TNF- $\alpha$  抗体 (MP6-TX22) を投与した大腸発癌モデルマウスを作成し、抗腫瘍効果や TNF 受容体発現状況、JNK 活性などを解析する。また TNF-R1 の臨床的意義として大腸癌患者を対象に血清 TNF- $\alpha$ 、TNF-R1、TNF-R2 値の解析を計画している。それぞれ ROC カーブを算出し、腫瘍マーカーとしての有効性や、それ以外に悪性度や治療効果との関係性を検証し大腸癌のバイオマーカーとして臨床的意義を明らかにしていく。

#### 4 . 研究成果

我々は、TNF-R1 ノックアウトマウスや TNF-R2 ノックアウトマウスを用いて大腸発癌実験を行い腫瘍形成への影響や、正常粘膜・腫瘍粘膜における TNF- $\alpha$  と受容体の発現などを PCR 法や免疫染色法で明らかにしつつ、その下流シグナルである JNK、NF- $\kappa$ B、caspase3 の発現をリン酸化ウエスタンや免疫染色法で明らかにした。さらには抗 TNF- $\alpha$  抗体 (MP6-TX22) を投与した大腸発癌モデルマウスを作成し、抗腫瘍効果を確認した。

また TNF- $\alpha$  レベルは病態の活動性を反映するマーカーとしても注目されるが、TNF- $\alpha$  の血中半減期は 20 分以下と短く、しかも pg/mL という非常に低濃度のレベルで存在するため、測定を困難なものとしている。一方、TNF- $\alpha$  受容体の TNF-R1、TNF-R2 は TNF- $\alpha$  刺激による可溶化 (Shedding) を受け、血中に可溶性 TNF-R1、R2 として放出される。TNF-R1 については、潰瘍性大腸炎患者において健常者より有意に高いという報告があるが大腸癌に関する報告は少なく、我々は大腸腺腫患者における血清 TNF-R1 値を世界に先駆けて測定し、有意に高いことを突き止めた。また ROC 曲線下面積も 0.928 と高くバイオマーカーとしての有用性が示唆された。

#### 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 5 件)

Higurashi T, Hosono K, Takahashi H, Komiya Y, Umezawa S, Sakai E, Uchiyama T, Taniguchi L, Hata Y, Uchiyama S, Hattori A, Nagase H, Kessoku T, Arimoto J, Matsushashi N, Inayama Y, Yamanaka S, Taguri M, Nakajima A.

Metformin for chemoprevention of metachronous colorectal adenoma or polyps in post-polypectomy patients without diabetes: a multicentre double-blind, placebo-controlled, randomised phase 3 trial.

Lancet Oncol. 2016 Apr;17(4):475-83.

doi: 10.1016/S1470-2045(15)00565-3.

Epub 2016 Mar 3. 査読有

Kobayashi N, Watanabe S, Hosono K, Kubota K, Nakajima A, Kaneko T, Sugimori K, Tokuhisa M, Goto A, Mori R, Taniguchi K, Matsuyama R, Endo I, Maeda S, Ichikawa Y.

Endoscopic inside stent placement is suitable as a bridging treatment for preoperative biliary tract cancer.

BMC Gastroenterol. 2015 Feb 5;15:8.

doi: 10.1186/s12876-015-0233-2. 査読有

Oshima A, Hosono K, Ito S, Sekino Y, Iida H, Nonaka T, Yamanaka S, Nakajima A, Maeda S, Gotoh E, Inamori M.

Ischemic gastritis.

Turk J Gastroenterol. 2014 Dec;25 Suppl 1:289-90.

doi: 10.5152/tjg.2014.4114. 査読有

Koide T, Iinuma M, Sakai E, Yamada E, Higurashi T, Ohkubo H, Iida H, Hosono K, Endo H, Nonaka T, Fujita K, Takahashi H, Yoneda M, Goto A, Ida T, Kusakabe A, Nakajima A, Maeda S, Gotoh E, Inamori M. Percutaneous endoscopic gastrostomy in a patient with hemophilia A.

Turk J Gastroenterol. 2014 Dec;25 Suppl 1:241. doi: 10.5152/tjg.2014.5262. 査読有

Kubota K, Fujita Y, Sato T, Sekino Y,  
Hosono K, Kobayashi N, Fujisawa N,  
Kagawa K, Fujisawa T, Matsuhashi N,  
Tanida E, Sakaguchi T, Endo I, Nakajima A.  
Autoimmune pancreatitis associated with  
pancreatic cyst: how can we manage it?  
J Hepatobiliary Pancreat Sci. 2014  
Dec;21(12):902-10.  
doi: 10.1002/jhbp.160. Epub 2014 Sep 12.  
査読有

## 6 . 研究組織

### (1) 研究代表者

細野 邦広 (HOSONO, Kunihiro )  
横浜市立大学・附属病院・助教  
研究者番号 : 50537339