

腫瘍遺伝学研究分野

[研究スタッフ]

教授	大島 正伸		
助教	大島 浩子	大学院生(D4)	杜 宇深(~Sep 2009)
研究員	小熊 圭祐(学振 PD)	(D3)	孔 丹
	Boryana Popivanova	(M1 医学)	野村 歩未
技能補佐員	渡邊 真奈美	(M1 薬学)	西尾 千尋

[研究概要]

胃がん・大腸がんの発生には、癌遺伝子や癌抑制遺伝子の変異とともに感染や慢性炎症などの宿主生体反応が重要な役割を果たしている。当研究分野では腫瘍発生モデルマウスを作製し、それを用いた解析により発がんにおける生体反応の作用を解明する事を目的として研究を進めている。

[2009年度の成果、進行状況と今後の計画]

(1) 「若年性ポリープ症」モデルマウス (*K19-Nog/C2mE*) の作製と解析

これまでに作製した *K19-Wnt1/C2mE* (*Gan*) マウスは、胃粘膜上皮での Wnt シグナル活性化と PGE₂ 経路の亢進により腺管型胃がんを自然発生する。一方で、「若年性ポリープ症」は BMP typeIA 受容体遺伝子変異に起因して消化管に過誤腫 (hamartoma) を発生することが知られている。そこで、BMP シグナルの内在性阻害因子である Noggin を胃粘膜で発現する *K19-Nog* マウスを作製したが、BMP シグナルの抑制だけでは胃粘膜上皮に形態的变化は認めなかった。そこで、*K19-Nog* と胃粘膜で PGE₂ 経路を亢進させた *K19-C2mE* マウスの交配実験を行なった結果、*K19-Nog/C2mE* マウスの胃では BMP 抑制と PGE₂ 経路誘導の相互作用により過誤腫が発生した。以上の結果は、Wnt や BMP などの腫瘍発生原因の種類に関係なく、PGE₂ 経路の誘導が腫瘍発生に必要であることを示している。(Oshima H *et al*, *Cancer Res*, 69: 2729, 2009)

以上のマウスモデルに発生した胃腫瘍組織を用いてマイクロアレイ解析を共同研究で実施し、*Gan* マウスと *K19-Nog/C2mE* マウスの双方で発現誘導される因子を複数同定した。これらは、PGE₂ 経路活性化に依存的に誘導される因子と考えられ、今後、これらの遺伝子産物による腫瘍発生への影響について研究を進める。

(2) 消化管腫瘍発生過程における Sox17 遺伝子発現

Sox17 は SRY ファミリーに属する転写因子であり、大腸がん細胞ではプロモーター領域のメチル化により発現抑制されている。また、Sox17 には Wnt シグナル阻害作用があり、

がん細胞で強制発現させると腫瘍原性が低下することから、Sox17 は癌抑制遺伝子と考えられている。しかし、*Gan* マウスの胃腫瘍組織や *Apc*⁴⁷¹⁶ マウスに発生する腸管ポリープ組織では、予想に反して Sox17 の強い発現誘導が認められた。さらに、Wnt シグナルの活性化に依存して Sox17 発現が誘導されることも明らかにした。すなわち、Wnt シグナル亢進は、消化管腫瘍発生原因であると同時に、Sox17 の発現誘導により Wnt 活性を抑制し、腫瘍発生に対して抑制的に作用している可能性が考えられた。そこで、胃粘膜で Sox17 を発現するトランスジェニックマウス *K19-Sox17* を作製し、*Gan* マウスとの交配実験を行なった結果、腫瘍組織での Wnt シグナル活性低下と腫瘍サイズ縮小が認められた。これにより、腫瘍発生初期過程では、Sox17 の発現誘導により腫瘍形成が抑制し得ることが確認された。(Du YC *et al*, *Gastroenterology*, 137: 1346, 2009)

今後、Sox17 発現が腫瘍の悪性化に予防的に作用している可能性を解析するため、胃および腸粘膜でコンディショナルに *Sox17* 遺伝子を欠損するマウスモデルと *Gan* マウスおよび *Apc*⁴⁷¹⁶ マウスとの交配実験を行なう予定。

(3) 細菌感染による胃腫瘍発生への影響

胃粘膜に生存する細菌数は約 $10^3 \sim 10^4$ 程度と少ないが、無菌の野生型マウスを作製すると、胃粘膜のサイトカイン・ケモカインの発現レベルが有意に低下することから、細菌感染刺激が胃粘膜上皮を恒常的に刺激している可能性が考えられた。そこで、無菌の *Gan* マウスを作製して解析すると胃腫瘍発生が顕著に抑制されており、感染刺激が腫瘍発生に重要である事が明らかとなった。さらに、30 週齢まで無菌環境で飼育した *Gan* マウスの胃内に *Helicobacter* を強制的に感染させると、再び腫瘍が発生することを確認した。腫瘍組織マクロファージ (tumor-associated macrophage) は腫瘍発生に重要であることが知られているが、無菌環境では胃腫瘍組織へのマクロファージ浸潤が著しくて以下し、それが腫瘍発生を抑制している可能性が考えられた。今後、感染刺激によるマクロファージ浸潤や活性化メカニズムを *in vitro*、*in vivo* の解析を組み合わせることで明らかにしたい。

(4) Wnt 活性プロモーション機序の解析

活性化マクロファージが産生する TNF- α が、上皮細胞の Wnt 活性を亢進させて腫瘍発生に関与している可能性を昨年度に報告した (Oguma K *et al*, *EMBO J*, 2008)。今年度は、Wnt シグナル活性化の原因となる遺伝子変異のパターンによって、TNF- α 依存的な Wnt プロモーションの感受性が異なる可能性を示唆する研究成果が得られた。今後、*APC* 遺伝子の変異形式と TNF- α による Wnt 活性化との相関について、新たな細胞株を作製して詳細な解析を進める。

[発表論文・総説]

1. Oshima H, Itadani H, Kotani H, Taketo MM, and Oshima M. Induction of prostaglandin E₂ pathway promotes gastric hamartoma development with suppression of bone morphogenetic protein signaling. *Cancer Res* 69: 2729-2733, 2009.
2. Du Y-C, Oshima H, Kitamura T, Itadani H, Fujimura T, Piao YS, Yoshimoto T, Minamoto T, Taketo, MM, and Oshima M. Induction and downregulation of *Sox17* and its roles during the course of gastrointestinal tumorigenesis. *Gastroenterology* 137: 1346-1357, 2009.
3. Oshima H, Oguma K, Du Y-C, and Oshima M. Prostaglandin E₂, Wnt and BMP in gastric tumor mouse models. *Cancer Sci* 100: 1779-1785, 2009 [Review].

[発表論文(共同研究)]

1. Ishimoto T, Oshima H, Oshima M, Kai K, Torii R, Masuko T, Baba H, Saya H, Nagano O. CD44(+) slow-cycling tumor cell expansion is triggered by cooperative actions of Wnt and PGE₂ in gastric tumorigenesis. *Cancer Sci* 2009 Dec 18 [Epub ahead of print].
2. Itadani H, Oshima H, Oshima M, Kotani H. Mouse gastric tumor models with PGE₂ pathway activation show similar gene expression profiles to intestinal-type human gastric cancer. *BMC Genomics* 10: 615, 2009.
3. Akaboshi S, Watanabe S, Hino Y, Sekita Y, Xi Y, Araki K, Yamamura K, Oshima M, Ito T, Baba H, and Nakao M. HMGA1 is induced by Wnt/ β -catenin pathway and maintains cell proliferation in gastric cancer. *Am J Pathol* 175: 1675-1685, 2009.
4. Miyoshi H, Deguchi A, Nakau M, Kojima Y, Mori A, Oshima M, Aoki M, and Taketo MM. Hepatocellular carcinoma development induced by conditional Wnt signal activation in Lkb^{+/-} mice. *Cancer Sci* 100: 2046-2053, 2009.

[日本語総説]

1. 小熊 圭祐, 大島 正伸: 分子細胞治療, 2009
2. 大島 正伸: COX-2/プロスタグランジンと消化器がん, The Lipid, 2009

[国際学会・国際シンポジウム] (*発表者)

1. Oguma K, Oshima H, Aoki M, Taketo MM, and *Oshima M: Activated macrophages promote Wnt/ β -catenin signaling activity in gastric epithelial cells through TNF- α . *100th Annual Meeting of American Association for Cancer Research (AACR)*, (Denver) April 18-22, 2009.

2. *Oshima M. Gastric tumorigenesis caused by cooperation of inflammation and oncogenic activation: *17th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages*, (Kanazawa) July 3-4, 2009.
3. *Oguma K, Oshima H, Takeo MM, and Oshima M: Activation of Wnt signaling in gastric cancer cells by inflammatory macrophages. *17th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages*, (Kanazawa) July 3-4, 2009.
4. *Oshima M: Prostaglandin E₂ signaling and inflammation in gastric tumorigenesis. *29th International Symposium on Cancer*, (Sapporo) July 13-14, 2009.
5. *Du Y-C, Oshima H, Oguma K, Kitamura T and Oshima M: Expression of Wnt antagonist Sox17 during the course of gastrointestinal tumorigenesis. *29th International Symposium on Cancer*, (Sapporo) July 13-14, 2009.
6. *Oshima M: Gastric tumorigenesis through cooperation of oncogenic activation and COX-2/PGE₂ pathway. *International Symposium on TGF- β , Inflammation, and Cancer Prevention*, (Incheon, Korea), Nov 20, 2009.
7. *Oshima M, Oguma K, and Oshima H: Tumor macrophages and inflammatory pathway on gastric tumorigenesis. *14th Korea-Japan Cancer Research Workshop*, (Kanazawa) Dec 19-20, 2009.
8. *Popivanova BK, Oshima M, and Mukaida N: Crucial involvement of the CCL2/CCR2 signaling in azoxymethane/dextran sulfate sodium-induced colon carcinogenesis in mice. *14th Korea-Japan Cancer Research Workshop*, (Kanazawa) Dec 19-20, 2009.

[国内学会] (*発表者)

1. *Oshima H, Oguma K, and Oshima M: Inflammation and gastric tumor mouse model [Symposium]. *68th Annual Meeting for Japanese Cancer Association*, (Yokohama) Oct 1-3, 2009. [日本癌学会学術総会]
2. Oshima H, and *Oshima M: Gastric tumorigenesis through suppression of BMP signaling [International Session]. *68th Annual Meeting for Japanese Cancer Association*, (Yokohama) Oct 1-3, 2009. [日本癌学会学術総会]
3. *大島 正伸: 胃がん発生における COX-2/PGE₂ 経路の役割. 第 51 回日本消化器病学会大会(京都), Oct 16, 2009.
4. *小熊 圭祐, 大島 浩子, 大島 正伸: Promotion of Wnt/ β -catenin signaling by TNF- α in gastrointestinal tumor cells. 第 32 回日本分子生物学会年会(横浜), Dec 9-12, 2009.