

Essential Roles of Tumor Necrosis Factor Receptor p55 in Liver Metastasis of Intrasplenic Administration of Colon 26 Cells

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/4639

【総説】

第一回 高安賞優秀賞受賞論文

論文 「Essential Roles of Tumor Necrosis Factor Receptor p55 in Liver Metastasis of Intrasplenic Administration of Colon 26 Cells」
Cancer Research
Vol.62, No.22, pp.6682-6687 2002年11月掲載

Colon26脾内投与による肝転移過程における Tumor Necrosis Factor p55の役割

北方 秀一 (きたかた ひでかず)

肝転移は大腸がんをはじめ多くの腫瘍において、予後を決める重要な因子である。診断技術、治療法の進歩にもかかわらず、肝転移症例の予後は依然として悪く、転移の分子的機序の解明が待たれる。癌の血行性転移は、原発巣からの離脱、血管内への侵入と移動、標的組織の血管内皮細胞への接着、血管内から組織内への浸潤、増殖といった一連の過程により成立する¹⁾。それらの段階において、血管新生因子、基底膜破壊酵素(MMP)、接着分子などさまざまな分子が関与している。

Tumor Necrosis Factor (TNF) α は、腫瘍壊死を誘導するサイトカインとして同定された、主として活性化マクロファージから産生されるが、リンパ球や内皮細胞などからも産生される。腫瘍細胞の傷害、増殖抑制に関わるほか、炎症、免疫、アポトーシスなどに関与することが知られている。抗腫瘍効果を期待され、単独あるいはIL-2、INF γ などと併用した、動物実験や臨床試験が行われてきた²⁾。ヒト組み換えTNFを用いた臨床試験では、皮膚癌、肝細胞癌、肺癌、脳腫瘍に対し有効性が示されたものの、その奏効率はいづれも低く、満足な結果が得られなかった。動物実験では、TNF- α 投与により抗腫瘍効果が得られた一方で、逆に、TNF- α を投与したマウス、あるいは遺伝子導入したマウスで転移を促進するという結果も得られ、腫瘍に対するTNF- α の作用は議論の余地が残されている³⁾。

近年、TNF- α がNF- κ Bを介し、血管新生因子や接着分子などの発現を誘導することが示されるようになり、転移過程に関与すると考えられるようになってきた⁴⁾⁵⁾。そこで今回我々は、TNF- α の主要なレセプターであるTNF receptor (TNF-R) p55遺伝子を発生工学的に欠損させたノックアウトマウスを用い、肝転移におけるTNF- α の役割を検討した。

8-10週令のBALB/c野生型マウスおよび、BALB/c TNF-R p55ノックアウトマウスを用い、マウス結腸癌細胞株colon26を 5×10^4 細胞、脾臓内に投与した。このモデルでは、約2週間後に肉眼的肝転移を認めた。まず、colon26移植後、肝におけるTNF- α の産生を免疫染色、RT-PCR法にて確認した。次に、野生型マウスとTNF-R p55ノックアウトマウスを用い、colon26移植24日後の転移率、腫瘍径、個数を比較した。また、転移率の違いの原因を検討するため、colon26移植後の肝を摘

出し、血管新生因子、MMPs、接着分子のmRNA、蛋白の発現を比較検討した。

腫瘍細胞を移植していないマウスの脾臓内にTNF- α 陽性細胞はほとんど認めなかった。野生型マウスにcolon26を移植すると3日目より、脾臓周囲にTNF- α 陽性細胞を認めるようになり、6日目をピークにその数は増加した。マクロファージ/クッパー細胞の細胞表面マーカーである抗F4/80抗体と抗TNF- α 抗体を用いた二重染色により、動員されたマクロファージ/クッパー細胞とその周囲の肝細胞からTNF- α が産生されていることが示された。腫瘍細胞の侵入によりマクロファージ/クッパー細胞が動員、活性化され、TNF- α の産生が増強されたと考えられた。

腫瘍移植後、肝においてTNF- α の発現が増強することから、肝転移過程におけるTNF- α の役割を検討するため、TNF-R p55ノックアウトマウスを用い、肝転移率の比較を行った。野生型群では26例中24例(92%)に多発性肝転移巣が観察されたのに対し、ノックアウト群では、転移巣は26例中12例(46%)にしかなかった。原発巣の直径、脾臓の重量には有意差は認めなかったが、肝重量、転移巣の最大径、体積では、ノックアウト群で有意に減少した(表1)。

肉眼的肝転移が成立する以前の、移植後6時間から12日までの肝組織を摘出し、TNF- α mRNAの発現の変化を検討した。TNF- α の発現は、野生型群では、colon26移植後すみやかに亢進し、24時間をピークに、コントロール群と比較し約4倍まで増強したが、ノックアウト群では発現亢進が見られなかった。VEGF、HB-EGFなど血管新生因子のmRNA発現は、colon26移植により増加したが、野生型群、ノックアウト群の2群間に有意差は認めなかった。基底膜の破壊、浸潤に関わるMMP-9、TIMP-1のmRNAの発現は、colon26移植により増加したが、2群間に有意差は認めなかった。

次に接着分子のmRNA発現について検討した。E-selectin、ICAM-1の発現はcolon26移植による有意な変化は認めなかった。一方、VCAM-1の発現は、野生型群でcolon26移植6時間後、コントロール群と比べ有意な発現増強を認めた。しかし、ノックアウト群では発現増強を認めず、有意に抑制されていた。発

Table 1. Metastasis assay

	TNFRp55 KO	Wild type	P
Liver metastasis			
Incidence	12/26 (46.2%)	24/26 (92.3%)	0.002
Weight (g)	1.47±0.19	1.70±0.27	0.012
Volume (mm ³)	147.0±131.8	287.9±186.4	0.026
(Range, median)	(8.0-507.5, 108.0)	(94.5-671.5, 220.5)	
Maximum (mm)	5.0±1.9	7.1±1.8	0.003
Number	2.9±1.7	4±1.8	0.1
Spleen tumor			
Diameter (mm)	14.2±4.4	12.9±4.9	0.31
Weight (g)	1.11±0.15	1.03±0.21	0.29

Colon 26 cells (5×10^4) were injected into the spleen of wild-type and TNF-Rp55 deficient mice. Mice were sacrificed at 24 days after tumor injection, to determine the incidence of liver metastasis, the numbers of metastatic foci in the liver and tumor sizes. Tumor sizes were calculated by an equation of $a \times b^2/2$, while a and b indicate long and short diameters of the tumor, respectively. The parameters of liver weight and tumor size were determined in mice, which developed liver metastases. Each value represents mean \pm SEM.

疫染色でも、野生型群で colon26 移植後、類洞内皮に VCAM-1, E-selectin の発現を認め、ノックアウト群では E-selectin は野生型群と同程度に発現が増強したのに対し、VCAM-1 の発現は有意に抑制されていた。

以上の結果から、colon26 の転移成立過程に VCAM-1 の発現が関与していることが示唆された。このことを確認するため、flow cytometry を行い、colon26 の細胞表面に VCAM-1 のリガンドである VLA-4 (integrin $\alpha 4/\beta 1$) が発現していることを確認した。

野生型マウスでは colon26 移植により、TNF- α - TNF-R p55 を介して、肝類洞内皮における VCAM-1 の発現が増強し、その結果 colon26 の接着が起こるのに対し、TNF-R p55 ノックアウトマウスでは VCAM-1 の発現亢進が起こらないため、colon26 の接着が軽度となり、転移率が減少したと考えられた (図1)。

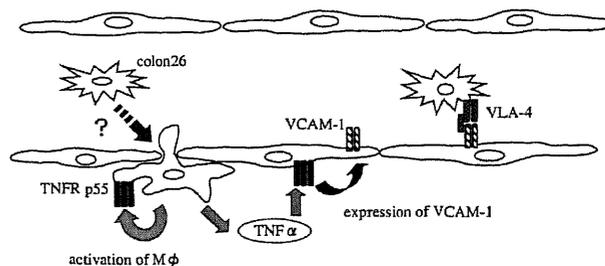


Fig. 1. Role of TNFR p55 in liver metastasis. Colon 26 cells stimulate macrophages that increase TNF- α production. TNF- α induces VCAM-1, which facilitates the adhesion of colon 26 cells to hepatic sinusoidal endothelium (HSE), via TNF-R p55.

文 献

- 1) Fidler IJ, Ellis LM. The implication of angiogenesis for the biology and therapy of cancer metastasis. *Cell* 79: 185-188, 1994
- 2) van der Schelling GP, IJsermaans JN, Kok TC, Scheringa M, Marquet RL, Splinter TA, Jeekel J. A Phase I study of local treatment of liver metastases with recombinant tumor necrosis factor. *Eur J Cancer* 28A: 1073-1078, 1992
- 3) Orosz P, Kruger A, Hubbe M, Ruschoff J, von Hoegen P, Mannel DN. Promotion of experimental liver metastasis by tumor necrosis factor. *Int J Cancer* 60: 867-871, 1995
- 4) Ryuto M, Ono M, Izumi M, Yoshida S, Weich H, Kohno K, Kuwano M. Induction of vascular endothelial growth factor by tumor necrosis α in human glioma cells: Possible roles of SP-1. *J Biol Chem* 271: 28220-28228, 1996
- 5) Mackay F, Loetscher H, Stueber D, Gehr G, Lesslauer W. Tumor necrosis factor α (TNF- α)-induced cell adhesion to human endothelial cells is under dominant control of one TNF receptor type, TNF-R55. *J Exp Med* 177: 1277-1286, 1993

Profile



所属：金沢大学がん研究所腫瘍外科

1998年3月 金沢大学医学部卒業。

1998年4月 金沢大学がん研究所腫瘍外科入局。

2000年4月 金沢大学がん研究所組織分子構築分野にて、向田直史教授の指導のもと、肝転移に関する基礎的研究を行う。

2002年3月 金沢大学大学院医学系研究科 (外科系専攻) 修了。

現在は、消化器外科医として、診療に従事しています。興味を持っている分野は、ケモカインと転移の関わりについて。