

金沢大学がん研究所共同研究成果報告書

平成23年4月26日提出

対象研究テーマ：マウスモデルを用いた消化器がんの発がん分子機序に関する基礎研究

研究期間：2010年4月8日～2011年3月31日

研究題目：転写因子 Runx3 の胃がん発がんの分子機序における役割

研究代表者：長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 准教授 伊藤公成

研究成果の概要：

Runx3 遺伝子欠損マウスの胃上皮と、Runx3 遺伝子欠損マウスから樹立した胃上皮細胞株を解析した結果、胃がん発がん過程には、Runx3 の不活性化によって惹起される Wnt のがん化シグナルが必須で、その過程で Cdx2 の発現が誘導され、胃上皮細胞に腸型化がもたらされるものと考えられた。ヒト胃がん検体より見出された RUNX3 の点変異体 RUNX3(R122C)は、 β -catenin/TCFs と相互作用できず、Wnt のがん化シグナルを抑制できない変異体であることが判明した。

研究分野：分子腫瘍学

キーワード：RUNX3、胃がん、Wnt 経路、Cdx2、SPEM

1. 研究開始当初の背景

転写因子 RUNX3 は胃がんにおけるがん抑制遺伝子であり、「がん抑制シグナル伝達系」と呼ばれる TGF- β /BMP シグナル伝達系の下流で、転写因子として機能することが知られている。これまでに研究代表者は、Runx3 遺伝子欠損マウスおよびヒト臨床検体を用いて、その胃がんにおけるがん抑制遺伝子としての機能を解析し報告してきた。研究代表者は最近になって、腸がんの解析から新たな RUNX3 の作用機序を報告した。すなわち、RUNX3 は、 β -catenin および TCFs と直接結合し、その 2 量体の DNA 結合能を阻害することによって、Wnt のがん化シグナルを負に制御する因子であることが判明した。これらの解析結果から、多くのヒトがんにおいて共通してみられる発がんの作用点、すなわち、「がん抑制シグナル伝達系」である TGF- β /BMP シグナルと、「がん化シグナル伝達系」である Wnt シグナルの「接点」で、RUNX3 はがん抑制遺伝子として機能していることが明らかになった。

2. 研究の目的

胃がんが、どの細胞からどのように出現してくるのかは未だ不明である。研究代表者の所有する Runx3^{-/-}マウスの胃を経時的に詳細に観察すると、SPEM (Spasmolytic Polypeptide Expressing Metaplasia) と呼ばれる、

ヒト胃がんおよびマウス胃がん発がんモデルで特徴的な前がん病変が出現していた。さらに化学発癌剤 *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU) を低濃度で投与すると、野生型マウスでは発がんが観察されなかったが、Runx3^{-/-}マウスでは、SPEM を呈する細胞群のある種の細胞ががん化して、粘膜筋板を越えて筋層にまで浸潤した。低濃度 MNU 投与 Runx3^{-/-}マウスの胃に出現した「胃がんの発生母地」と思われる細胞群を詳細に解析した結果、以下のことが判明した。

1. 発生母地は SPEM を呈する細胞である。
2. 腸上皮分化のマスターレギュレーターである Cdx2 を発現する。
3. Wnt シグナルの典型的なターゲット遺伝子の発現が亢進している。

そこで本研究の目的は、胃がん発がん過程における、Runx3 の不活性化がもたらす Wnt シグナルの亢進の重要性を、マウスモデルおよびマウス胃上皮細胞を用いて検証することとした。

3. 研究の方法

マウスの胃上皮から樹立した Runx3^{+/+}および Runx3^{-/-}胃上皮細胞 (GIF 細胞) を用いて、Wnt のがん化シグナルの重要性を、ヌードマウス皮下における造腫瘍性にて評価した。さらに Cdx2 の発現調節機構を解析する目的で、レポーターアッセイ、ChIP アッセイを行い、Wnt シグナルと Runx3 による Cdx2 調節機

構を解析した。研究代表者らがヒト胃がん検体より見出した RUNX3 の点変異体 RUNX3(R122C)の意義を、同じく GIF 細胞を用いて検討した。

加えて、胃上皮で Wnt シグナルを特異的に亢進させるマウスラインと Runx3 遺伝子欠損マウスを交配し、胃がん発がん過程における、Runx3 の不活性化と Wnt のがん化シグナルの重要性を、マウスレベルで検証することにした。

4. 研究成果

GIF細胞を用いて検討した結果、以下の事実が判明した。

1. Cdx2のプロモーターにはTcfs結合部位が存在し、Wntの活性化によりβ-catenin/Tcfs依存的にCdx2の発現が誘導される。

2. Runx3は、β-catenin/TcfsのDNA結合能を阻害することによって、間接的にCdx2の発現を抑制する。

3. Runx3^{-/-}GIF細胞は、ヌードマウス皮下において造腫瘍性を有するが、その造腫瘍性は異所的に発現が亢進したCdx2によるものではない。

4. Runx3^{-/-}GIF細胞の造腫瘍性は、Wntのがん化シグナルに依存する。

5. RUNX3 (R122C) は、β-catenin/TCFsと相互作用できず、Wntのがん化シグナルを抑制できない。

これらの解析結果から、Runx3 の不活性化による前がん病変の出現とそこからの胃がん発がん過程には、Runx3 の不活性化によって惹起される Wnt のがん化シグナルが必須で、その過程で Cdx2 の発現が誘導され、胃上皮細胞に腸型化がもたらされると結論づけた。

そこで、これらの機構の重要性をさらに検証する目的で、Runx3 遺伝子欠損マウスと、胃上皮で Wnt シグナルを特異的に亢進させるマウスライン、K19-Wnt1 マウスおよびK19-Wnt1/C2mE マウスの交配を開始し、それらの胃上皮病変の観察を開始したところである。

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)

Ito, K., Chuang, L.S.H., Ito, T., Chang, T.L., Fukamachi, H., Salto-Tellez, M., Ito, Y.
Loss of Runx3 is a key event in inducing precancerous state of the stomach.
Gastroenterology (2011) in press

Ito, K.

RUNX3 in oncogenic and anti-oncogenic signaling in gastrointestinal cancers.

Journal of Cellular Biochemistry, 112, 1243-1249 (2011)

〔学会発表〕(計2件)

Ito, K., Chuang, L.S.H., Ito, Y. RUNX3(R122C) does not attenuate oncogenic Wnt in gastric epithelial cells.

International RUNX 2010 Meeting, July 11, 2010.

伊藤公成、深町博史、伊藤嘉明

「がん抑制遺伝子 RUNX3 の点変異体 RUNX(R122C)は、胃上皮細胞において Wnt によるがん化シグナルを抑制できない」

第 69 回 日本癌学会学術総会

2010 年 9 月 23 日

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・准教授
伊藤公成

(2)研究分担者

なし

(3)本研究所担当者

腫瘍遺伝学・教授 大島正伸