

# 微小転移巢での発現遺伝子群の包括的解析に基づく 、新規がんマーカーの検索

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2018-04-20 キーワード: 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.24517/00050571">https://doi.org/10.24517/00050571</a>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



微小転移巢での発現遺伝子群の包括的解析  
に基づく、新規がんマーカーの検索

16390163

平成16年度～平成18年度科学研究費補助金

(基盤研究 (B)) 研究成果報告書

平成 19 年 5 月

研究代表者 向田 直史

金沢大学がん研究所 教授

金沢大学附属図書館



0800-04425-8



## はしがき

遠隔臓器への転移は、原発巣での増殖→脈管内への腫瘍細胞の漏出→他臓器への浸潤→他臓器での増殖の多段階を経て成立する。肝転移過程の研究から、癌細胞の塊が肝臓に着床して、臨床的に転移巣として診断可能な1cm前後までに達するまで1年以上経過すると考えられている。他の臓器への転移についても同様の時間経過を取ると推測されている。このため、画像診断などの従来の検査方法によって遠隔転移が検出されず、癌が局所に限局していると診断された場合でも、微小転移巣が肝臓などの遠隔臓器に存在していて、病巣局所の治療成功後に、再発が起きることがある。したがって、転移の存在を検出できるがんマーカーを開発することは、がんの予後の予測のみならず、治療法の選択に際しても有用な情報を与えることにつながると考えられる。

- 1) 発癌あるいは転移モデルにおいて、発現が選択的に亢進している遺伝子群の包括的検索
  - 2) 転移過程に関与する可能性が考えられる種々のサイトカイン関連遺伝子を欠損したマウスを用いた、転移モデル実験を通して、転移過程におけるサイトカインの役割の解析
- の2つの異なるアプローチで、転移に関係する遺伝子産物の検索を行うことを目的として、本研究計画を立案した。

### 研究組織

研究代表者： 向田 直史 (金沢大学がん研究所教授)  
研究分担者： 藤井 千文 (金沢大学がん研究所助手)

### 交付決定額

	直接経費 (円)	間接経費 (円)	合計 (円)
平成16年度	6,900,000	0	6,900,000
平成17年度	3,900,000	0	3,900,000
平成18年度	3,900,000	0	3,900,000
総計	14,700,000	0	14,700,000

## 研究発表

### (1) 学会誌等

1. Nakamura M, Kyo S, Kanaya T, Yatabe N, Maida y, Tanaka M, Ishida Y, Fujii C, Kondo T, Inoue M, and Mukaida N. hTERT-promoter-based tumor-specific expression of MCP-1 effectively sensitizes cervical cancer cells to a low dose of cisplatin. *Cancer Gene Ther.* 11(1):1-7, 2004.
2. Ishida Y, Kondo T, Tsuneyama K, Lu P, Takayasu T, and Mukaida N. The pathogenic roles of tumor necrosis factor receptor p55 in acetaminophen-induced liver injury in mice. *J Leukocyte Biol.* 75 (1): 59-67, 2004.
3. Amano H, Morimoto K, Senba M, Wang H, Ishida Y, Kumatori A, Yoshimine H, Oishi K, Mukaida N, and Nagatake T. Essential contribution of monocyte chemoattractant protein (MCP)-1/C-C chemokine ligand-2 to resolution and repair process in acute bacterial pneumonia. *J Immunol.* 172 (1): 398-409, 2004.
4. Ishida Y, Kondo T, Takayasu T, Iwakura Y, and Mukaida N. The essential involvement of cross-talk between IFN- $\gamma$  and TGF- $\beta$  in the skin wound-healing process. *J Immunol.* 172 (3): 1848-1855, 2004.
5. Ishida Y, Maegawa T, Kondo T, Kimura A, Iwakura Y, Nakamura S, and Mukaida N. Essential involvement of IFN- $\gamma$  in *Clostridium difficile* toxin A-induced enteritis. *J Immunol.* 172 (5): 3018-3025, 2004.
6. Wada T, Furuichi K, Sakai N, Iwata Y, Kitagawa K, Ishida Y, Kondo T, Hashimoto H, Ishikawa Y, Mukaida N, Tomosugi N, Matsushima K, Egashira K, and Yokoyama H. Gene therapy via blockade of monocyte chemoattractant protein-1 for renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 15 (4): 940-948, 2004.
7. Ryoo S, Won M, Kim DU, Kim L, Han G, Park SK, Mukaida N, Maeng P, Yoo HS, and Hoe KL. PPAR $\alpha$  activation abolishes LDL-stimulated IL-8 production via AP-1 deactivation in human aortic smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 318: 329-334, 2004.
8. Hwang YS, Jeong M, Park JS, Kim MH, Lee DB, Shin BA, Mukaida N, Ellis LM, Kim HR, Ahn BW, and Jung YD. Interleukin-1 $\beta$  stimulates IL-8 expression through MAP kinase and ROS signaling in human gastric carcinoma cells. *Oncogene.* 23: 6603-6611, 2004.
9. Kitagawa K, Wada T, Iwata Y, Kitagawa K, Kobayashi K, Tomosugi N, Matsushima K, Mukaida N, and Yokoyama H. Blockade of CCR2 ameliorates progressive fibrosis. *Am J Pathol.* 165: 237-246, 2004.
10. Qiu Z, Fujimura M, Kurashima K, Nakao S, and Mukaida N. Enhanced airway inflammation and decreased subepithelial fibrosis in interleukin 6-deficient mice following chronic exposure to aerosolized antigen. *Clin Exp Allergy* 34: 1321-1328, 2004.
11. Imamura R, Konaka K, Matsumoto N, Hasegawa M, Fukui M, Mukaida N, Kinoshita T, and Suda T. Fas ligand induces cell-autonomous NF- $\kappa$  B activation and IL-8 production by a mechanism distinct from that of TNF- $\alpha$ . *J Biol Chem.* 279(45): 46415-46423, 2004.
12. Tomita Y, Yang X, Ishida Y, Nemoto-Sasaki Y, Kondo T, Oda M, Watanabe G, Chladakov GN, Fujii C, and Mukaida N. Spontaneous regression of lung metastasis in the absence of tumor necrosis factor receptor p55. *Int J Cancer* 112 (6): 927-933, 2004.
13. Kitamura K, Nakamoto Y, Kaneko S, and Mukaida N. Pivotal roles of interleukin-6 in transmural inflammation in murine T cell transfer colitis. *J Leukocyte Biol.* 76 (6): 1111-1117, 2004.
14. Yanaba K, Mukaida N, Matsushima K, Murphy PM, Takehara K, and Sato S. A role of C-C chemokine receptors 1 and 5 and macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$  on the cutaneous Arthus reaction: Possible attenuation of their inhibitory effects by compensatory production. *Eur J Immunol.* 34 (12): 3553-3561, 2004.

15. Mukaida N. :Cancer gene therapy using cytokine and chemokine genes. *Ann Cancer Res Ther.* 12: 33-51, 2004.
16. Kimura A, Ishida Y, Wada T, Yokoyama H, Mukaida N., and Kondo T. MRP-1 expression levels determine strain-specific susceptibility to arsenic-induced renal injury between C57BL/6 and BALB/c mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 203: 53-61, 2005.
17. Fujii C., Nakamoto Y, Lu P, Tsuneyama K, Popivanova B, Kaneko S, and Mukaida N. Aberrant expression of serine/threonine kinase Pim-3 in hepatocellular carcinoma development and its role in the proliferation of human hepatoma cell lines. *Int J Cancer* 114: 209-218, 2005.
18. Iizasa H, Yoneyama H, Mukaida N., Kataoka Y, Naito M, Yoshida N, Nakashima E, and Matsushima K. Exacerbation of granuloma formation in IL-1 receptor antagonist-deficient mice with impaired dendritic cell maturation associated with Th2 cytokine production. *J Immunol.* 174 (5) 3273-3280, 2005.
19. Edwards MR, Mukaida N., Johnson M, and Johnston SL. IL-1 $\beta$  induces IL-8 in bronchial cells via NF- $\kappa$ B and NF-IL6 transcription factors and can be suppressed by glucocorticoids. *Pulmon Ther Pharmacol* 18: 337-345, 2005.
20. Sato K, Imai Y, Higashi N, Kumamoto Y, Mukaida N., and Irimura T. Redistributions of macrophages expressing the macrophage galactose-type C-type lectin (MGL) during antigen-induced chronic granulation tissue formation. *Int Immunol* 17 (5): 559-568, 2005.
21. Kurashima K, Tamura J, Fujimura M, Qiu Z, Nakako S, and Mukaida N. Reduced serum antibody production and acute airway inflammation in interleukin-6-deficient mice challenged with ovalbumin. *Allergology Int.* 54 (2): 331-338, 2005.
22. Kuroda T, Kitadai Y, Tanaka S, Yang X, Mukaida N., Yoshihara M, and Chayama K. Monocyte chemoattractant protein-1 transfection induces angiogenesis and tumorigenesis of gastric carcinoma in nude mice via macrophage recruitment. *Clin Cancer Res.* 11 (21): 7629-7636, 2005.
23. Yang X, Lu P, Ishida Y, Kuziel WA, Fujii C., and Mukaida N. Attenuated liver tumor formation in the absence of CCR2 with a concomitant reduction in the accumulation of hepatic stellate cells, macrophages, and neovascularization. *Int J Cancer* 118 (2): 335-345, 2006.
24. Kagaya T, Nakamoto Y, Sakai Y, Tsuchiyama T, Yagita H, Mukaida N., and Kaneko S. Monocyte chemoattractant protein-1 gene delivery enhances antitumor effects of herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir system in a model of colon cancer. *Cancer Gene Ther.* 13 (4): 357-366, 2006.
25. Yang X, Lu P, Fujii C., Nakamoto Y, Gao J-L, Kaneko S, Murphy PM, and Mukaida N. Essential contribution of a chemokine, CCL3, and its receptor, CCR1, to hepatocellular carcinoma progression. *Int J Cancer* 118 (8): 1869-1876, 2006.
26. Ishida Y, Kondo T, Kimura A, Tsuneyama K, Takayasu T, and Mukaida N. Opposite roles of neutrophils and macrophages in the pathogenesis of acetaminophen-induced acute liver injury. *Eur J Immunol.* 36 (4): 1028-1038, 2006.
27. Ishida Y, Kondo T, Kimura A, Matsushima K, and Mukaida N. Absence of IL-1 receptor antagonist impaired wound healing along with aberrant NF- $\kappa$ B activation and a reciprocal suppression of TGF- $\beta$  signal pathway. *J Immunol.* 176 (9): 5598-5606, 2006.
28. Li Y-Y, Popivanova BK, Nagai Y, Ishikura H, Fujii C., and Mukaida N. Pim-3, a proto-oncogene with serine/threonine kinase activity, is aberrantly expressed in human pancreatic cancer and phosphorylates Bad to block Bad-mediated apoptosis in human pancreatic cancer cell lines. *Cancer Res.* 66 (13): 6741-6747, 2006.
29. Kimura A, Ishida Y, Hayashi T, Wada T, Yokoyama H, Sugaya T, Mukaida N., and Kondo T. Interferon- $\gamma$  plays protective roles in sodium arsenite-induced renal injury by up-regulation of intrarenal multidrug resistance-associated protein 1 expression. *Am J Pathol.* 169 (4): 1118-1128, 2006.

30. Yoshida N, Imamoto E, Uchiyama K, Kuroda M, Naito Y, Mukaida N, Kawabe A, Shimada Y, Yoshikawa T and Okanoue T. Molecular mechanisms involved in interleukin-8 production by normal human esophageal epithelial cells. *Aliment Pharmacol Ther Symp Ser. 2*: 219-226, 2006.
31. Yamashita T, Popivanova BK, Guo J, Kotani S, Wakayama T, Iseki S, Sawamonoto K, Okano H, Fujii C, Mukaida N, and Tonchev AB. Implication of Down syndrome cell adhesion molecule in the hippocampal neurogenesis of ischemic monkeys. *Hippocampus*. 16: 924-935, 2006.
32. Edwards MR, Hewson CA, Laza-Stanca V, Lau H-T H, Mukaida N, Hershenson MB, and Johnston SL. Protein kinase R, I $\kappa$ B kinase- $\beta$  and NF- $\kappa$ B are required for human rhinovirus induced pro-inflammatory cytokine production in bronchial epithelial cells. *Mol Immunol*. 44 (7): 1598-1608, 2007.
33. Lu P, Li L, Mukaida N, and Zhang X. Alkali-induced corneal neovascularization occurs independently of CXCR2-mediated neutrophil infiltration. *Cornea*. 26(2): 199-206, 2007.
34. Tsuchiyama T, Nakamoto Y, Sakai Y, Marukawa Y, Kitahara M, Mukaida N, and Kaneko S. Prolonged, NK cell-mediated antitumor effects of suicide gene therapy combined with monocyte chemoattractant protein-1 against hepatocellular carcinoma. *J Immunol*. 178 (1): 574-583, 2007.
35. Tachibana Y, Nakamoto Y, Mukaida N, and Kaneko S. Intrahepatic interleukin-8 production during disease progression of chronic hepatitis C. *Cancer Lett.* (in press).
36. Popivanova BK, Li Y-Y, Zhen H, Omura K, Fujii C, Tsuneyama K, and Mukaida N A proto-oncogene, Pim-3 with serine/threonine kinase activity, is aberrantly expressed in human colon cancer cells and can prevent Bad-mediated apoptosis. *Cancer Sci*. 98 (3): 321-328, 2007.
37. Nakamoto Y, Mizukoshi E, Tsuji H, Sakai Y, Kitahara M, Arai K, Yamashita T, Yokoyama K, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O, and Kaneko S. Combined therapy of transcatheter hepatic arterial embolization with intratumoral dendritic cell infusion for hepatocellular carcinoma; clinical safety. *Clin Exp Immunol*. 147 (2): 296-305, 2007.
38. Tucker RM, Hendrickson RJ, Mukaida N, Gill RG, and Mack CL. Progressive biliary destruction independently of functional tumor necrosis factor- $\alpha$  pathway in a rhesus rotavirus-induced murine model of biliary atresia (BA). *Viral Immunol.* (in press).
39. Ishida Y, Kimura A, Kondo T, Hayashi T, Ueno M, Takakura N, Matsushima K, and Mukaida N. Essential involvement of the CC chemokine ligand 3-CC chemokine receptor 5 axis in bleomycin-induced pulmonary fibrosis through regulation of macrophage and fibrocyte infiltration. *Am J Pathol*. 170: 843-854, 2007.
40. Yoshida N, Katada K, Handa O, Takagi T, Kokura S, Naito Y, Mukaida N, Soma T, Shimada Y, Yoshikawa T, and Okanoue T. Interleukin-8 production via protease-activated receptor 2 in human esophageal epithelial cells. *Int J Mol Med*. 19 (2): 335-340, 2007.

(12、17、23、25、28、36の本文を掲載している)

## (2) 口頭発表

1. Yang X, Lu P, Ishida Y, Kuziel WA, Fujii C, and Mukaida N. Reduced liver tumor formation in the absence of CCR2. Concomitant reduction in Kupffer and hepatic stellate cell accumulation and neovascularization. 13<sup>th</sup> Intl. Symp. Molec. Cell Biol. Macrophages. June, 2004, Osaka.
2. Ishida Y, Kondo T, Iwakura Y, and Mukaida N. Essential involvement of crosstalk between interferon- $\gamma$  and transforming growth factor- $\beta$  in the skin wound healing process. Joint Meeting of ICS and ISICR. October, 2004, San Juan, Puerto Rico.
3. Lu P, Fujii C, Yang X, Nakamoto Y, Gao J-L., Murphy PM, and Mukaida N. Essential involvement of a chemokine receptor, CCR1 and its ligand, CCL3 in hepatocellular carcinoma progression. Joint Meeting of ICS and ISICR. October, 2004, San Juan, Puerto Rico.

4. 向田直史、富田剛治、羊暁勤、藤井千文。TNFレセプターp55欠損マウスにおける、肺転移巣の自然退縮過程の解析。第13回日本がん転移学会学術集会。2004年6月、東京。
5. 石田裕子、近藤稔和、松島綱治、向田直史。マウスプレオマイシン肺障害におけるCCケモカインレセプター5の関与。第25回日本炎症・再生医学会。2004年7月、東京。
6. 木村章彦、石田裕子、向田直史、近藤稔和。砒素誘導性腎障害の病態生理学的研究。第25回日本炎症・再生医学会。2004年7月、東京。
7. 藤井千文、向田直史。セリン/スレオニンキナーゼ Pim-3 の肝細胞がんでの異常発現と役割。第63回日本癌学会総会。2004年10月、福岡。
8. 向田直史、藤井千文、陸培榮。肝細胞癌の発症・進展過程への、ケモカイン・レセプターCCR1とそのリガンドであるCCL3の関与。第63回日本癌学会総会。2004年10月、福岡。
9. 黒田剛、北台靖彦、児玉美千世、趙成大、落海健彦、木村茂、桑井寿雄、小野川靖二、田中信治、吉原正治、向田直史、茶山一彰。マウス移植モデルを用いた胃癌における monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)の役割の検討。第63回日本癌学会総会。2004年10月、福岡。
10. 柿木嘉平太、中本安成、酒井佳夫、加賀谷尚史、向田直史、金子周一。自殺遺伝子と単球走化活性因子を用いた肝癌の免疫遺伝子治療。一門脈播種モデルでの検討。第63回日本癌学会総会。2004年10月、福岡。
11. Fujii C, Popivanova BK, Yamazaki K, and Mukdaida N. The role of serine/threonine kinase Pim-3 in the proliferation of human hepatoma cell lines. 第77回日本生化学学会大会。2004年10月、横浜。
12. Yang X, Fujii C, Ishida Y, Kuziel WA, and Mukdaida N. Reduced liver tumor formation in the absence of CCR2 with a concomitant reduction in Kupffer and hepatic cell accumulation and neovascularization. 第33回日本免疫学会・学術集会。2004年12月、札幌。
13. 築場広一、中川秀巳、佐藤伸一、竹原和彦、向田直史、松島綱治、Murphy PM。皮膚アルサス反応においてCCR1、CCR5、CCL3/MIP-1 $\alpha$ の抑制効果は他のケモカインの対照的産生によって減弱される。第33回日本免疫学会・学術集会。2004年12月、札幌。
14. 石田裕子、近藤稔和、向田直史。マウスアセトアミノフェン肝障害における好中球の関与。第33回日本免疫学会・学術集会。2004年12月、札幌。
15. 木村章彦、石田裕子、向田直史、近藤稔和。マウス急性砒素腎障害におけるIFN- $\gamma$ の役割解析。第33回日本免疫学会・学術集会。2004年12月、札幌。
16. Mukdaida N, Yang X, Wu Y, and Fujii C. Essential role of chemokine receptor, CCR2, in murine liver metastasis model. (Workshop oral presenter and co-chairperson) Intl. Cytokine Society Conference 2005, October 2005, Seoul, Korea.
17. Hayashi T, Ishida Y, Kimura A, Mukdaida N, and Kondo T. IFN- $\gamma$  plays protective roles in cerulean-induced acute pancreatitis. Intl. Cytokine Society Conference 2005, October 2005, Seoul, Korea.
18. 向田直史、羊暁勤、藤井千文。ケモカイン・レセプターCCR2欠損マウスにおける肝腫瘍形成過程の遅延。第14回日本がん転移学会、2005年6月、大阪。
19. 石田裕子、木村章彦、松島綱治、向田直史、近藤稔和。皮膚損傷治療におけるIL-1 $\alpha$ の病態生理学的役割解析。第26回日本炎症・再生医学会、2005年7月、東京。
20. 木村章彦、石田裕子、和田隆志、横山仁、向田直史、近藤稔和。マウス急性砒素腎障害におけるIFN- $\gamma$ の役割解析。第26回日本炎症・再生医学会、2005年7月、東京。
21. 向田直史、羊暁勤、藤井千文。ケモカイン・レセプターCCR2欠損マウスにおける肝転移形成の減弱。第64回日本癌学会学術総会、2005年9月、札幌。
22. 土山智也、中本安成、丸川洋平、酒井佳夫、向田直史、金子周一。ケモカインMCP-1が誘導する肝癌自殺遺伝子治療の再発予防効果の検討。第64回日本肝癌学会学術総会、2005年9月、札幌。
23. 石田裕子、近藤稔和、向田直史。Gefitinibのプレオマイシン肺障害マウスモデルに及ぼす影響。第64回日本肝癌学会学術総会、2005年9月、札幌。
24. Kimura A, Ishida Y, Matsushima K, Mukdaida N, and Kondo T. Essential involvement of CCR5 in the recruitment of fibrocytes as evidenced by attenuated bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice lacking

- CCR5. 第 35 回日本免疫学会総会・学術集会、2005 年 12 月、横浜。
25. Popivanova B, Wu Y, and Mukaida N. Potential involvement of TNF receptor p55-mediated signals in chronic colitis associated carcinogenesis in mice. 第 35 回日本免疫学会総会・学術集会、2005 年 12 月、横浜。
  26. Hayashi T, Ishida Y, Kimura A, Mukaida N, and Kondo T. Protective roles of IFN-gamma in cerulean-induced acute pancreatitis. 第 35 回日本免疫学会総会・学術集会、2005 年 12 月、横浜。
  27. Ishida Y, Kondo T, Kimura A, Matsushima K, and Mukaida N. Essential involvement of IL-1ra in skin wound healing process as evidenced by delayed wound healing in IL-1ra-deficient mice. 第 35 回日本免疫学会総会・学術集会、2005 年 12 月、横浜。
  28. Li Y-Y, Popivanova BK, Fujii C, and Mukaida N. Pim-3, a serine/threonine kinase is aberrantly expressed in human pancreatic cancer (HPC) and phosphorylates Bad to block Bad-mediated apoptosis in HPC cell lines. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress. June 2006, Kyoto, Japan.
  29. Popivanova BK, Espinoza JL, Fujii C, and Mukaida N. Potential involvement of TNF receptor p55-mediated signals in chronic colitis-associated carcinogenesis. Intl. Symposium of Molecular Cell Biology of Macrophages and Dendritic Cells. June 2006, Tokyo, Japan.
  30. Mukaida N, Wu Y, Li Y-Y, and Fujii C. Essential contribution of a chemokine, CCL3 and its receptor, CCR5 to lung metastasis. 6<sup>th</sup> Intl. Cytokine Conference. August 2006, Vienna, Austria.
  31. Mukaida N, Yang X, and Kitakata H. Tumor necrosis factor and a chemokine, CCL2, contribute to liver metastasis process by acting on different liver non-parenchymal cell populations. 11<sup>th</sup> Intl. Congress of Metastasis Research Society, September 2006, Tokushima, Japan. (Invited speaker)
  32. Wu Y, Li Y-Y, and Mukaida N. Essential contribution of a chemokine, CCL3 and its receptor, CCR5 to lung metastasis. 11<sup>th</sup> Intl. Congress of Metastasis Research Society, September 2006, Tokushima, Japan. (Travel award)
  33. 向田直史。膵臓がんで過剰発現しているセリン/スレオニン・キナーゼ、Pim-3 の、膵癌細胞株の増殖過程での役割。第 10 回がん分子標的治療研究会総会、2006 年 6 月、東京。
  34. 藤井千文、Popivanova BK、Li Y-Y、向田直史。大腸癌発症過程におけるセリン/スレオニン・キナーゼ Pim-3 の発現と役割。第 65 回日本癌学会学術総会、2006 年 9 月、東京。
  35. 李影奕、Popivanova BK、藤井千文、向田直史。セリン/スレオニン・キナーゼ Pim-3 の膵臓がんでの異常発現と役割の検討。第 65 回日本癌学会学術総会、2006 年 9 月、東京。
  36. 向田直史、Popivanova BK、藤井千文。マウス大腸がん発症モデルにおける、腫瘍壊死因子レセプター-p55 の関与。第 65 回日本癌学会学術総会、2006 年 9 月、東京。
  37. Wu Y, Li Y-Y, and Mukaida N. Reduced lung metastasis in the absence of a chemokine, CCL3, or its receptor, CCR5. 第 36 回日本免疫学会総会・学術集会、2006 年 12 月、大阪。
  38. Popivanova BK, Kitamura K, Espinoza J, and Mukaida N. Potential involvement of TNF receptor p55-mediated signals in chronic colitis-associated carcinogenesis. 第 36 回日本免疫学会総会・学術集会、2006 年 12 月、大阪。

### (3) 出版物

1. Mukaida N. Chemokines. In *The Encyclopedia of Endocrine Diseases, Four-Volume Set* (Martini L Editor-in-Chief), Elsevier Science Ltd, London, UK, vol. 1, pp.490-494, 2004.

## 研究成果の概要

1) マウス肝発癌モデルおよびヒト肝臓癌における、前癌病変での異型細胞と肝癌細胞の一部で、セリン/スレオニン・キナーゼ Pim-3 が選択的に発現していることを見出した。さらに、RNA 干渉法にて培養肝癌細胞株での Pim-3 遺伝子発現を抑制すると、肝癌細胞株のアポトーシスが誘導されることを明らかにした。Pim-3 は、正常の肝臓組織では発現が認められないにもかかわらず、肝癌由来細胞株と肝癌組織において発現が増強していたことから、肝癌での新たな癌マーカーとして有用である可能性が示唆された。(文献 17)。Pim-3 は、膵臓・大腸などの他の内胚葉由来臓器でも正常状態では発現が認められないのに対して、これらの臓器の前癌から癌病変部位において発現が亢進していた。ヒト膵癌細胞株ならびにヒト大腸癌細胞株においても、Pim-3 の恒常的な発現とともに、好アポトーシス分子である Bad が 112 番目のセリン残基がリン酸化された不活型として存在している上に、Pim-3 と共局在していた。Pim-3 の発現を siRNA 法にて抑制すると、Bad の 112 番目のセリン残基のリン酸化が減弱するとともに、抗アポトーシス分子である Bcl-XL の発現も低下し、細胞のアポトーシスが誘導された(文献 28、36)。以上の結果から、Pim-3 は肝臓・膵臓・大腸などの内胚葉由来臓器において Bad のリン酸化・Bcl-XL の発現誘導を通して、アポトーシスを抑制することによって癌化に関与していること、さらには癌化に伴って発現が亢進するがんマーカーとしての挙動を示すことが示唆された。

2) マウス腎癌細胞株 Renca 細胞を、野生型マウスの尾静脈に接種すると、接種後 2 週で肉眼的に肺転移結節が生じ、その後も結節数は増加し、接種 26 日目で全例が死亡した。転移巣では、TNF- $\alpha$  遺伝子・蛋白の発現が亢進していた。TNF レセプター-p55 欠損マウスに Renca 細胞を同様に接種すると、接種 21 日目までは肺での転移結節の数に、野生型マウスと有意な差は認めなかった。しかし、接種 21 日目以降、TNF レセプター-p55 欠損マウスでは、血管内皮増殖因子の発現と転移巣での血管新生が減弱し、腫瘍細胞のアポトーシスが顕著となり、接種後 23 日目以降で転移巣が自然退縮し、接種後 26 日目で大半のマウスが生存していた。以上の結果から、TNF レセプター-p55 が転移巣内での血管新生、ひいては転移巣の維持に密接に関与していること、さらにはこのモデルでの遺伝子発現パターンを検索することで転移巣の維持に関与している因子を同定できる可能性が示唆された(文献 12)。

3) 野生型マウスならびにケモカインである CCL2 の特異的レセプターである CCR2 を欠損したマウスの門脈に、マウス結腸癌細胞株 colon 26 を接種した。CCR2 欠損マウスでは、接種 10 日目以降において腫瘍内新生血管数・腫瘍の大きさ・腫瘍内へのクッパー細胞ならびに伊東細胞の集積が、野生型マウスに比べて減弱していた。さらに、CCR2 欠損マウスでは、血管新生作用を保有しているマトリックスメタロプロテナーゼ (MMP) -2 の発現が、野生型マウスに比べて減弱していた。MMP-2 の発現が伊東細胞に選択的に認められたことから、CCL2-CCR2 系は MMP-2 を発現している伊東細胞の腫瘍内への集積を誘導し、腫瘍内新生血管形成を誘導することによって、腫瘍形成を促進している可能性が強く示唆された(文献 23)。

4) ジエチルニトロサミンを新生児のマウス腹腔内に投与すると、投与 10 月後に肝癌が多発性に発生した。同様の処置を、ケモカイン CCL3 とそのレセプター CCR1 の欠損マウスに行うと、野生型マウスに比べ、生じる肝内の腫瘍の大きさと腫瘍内新生血管が顕著に減弱していた。さらに腫瘍内へのクッパー細胞の集積と、クッパー細胞が発現している MMP-9 の発現が減弱していた。CCL3-CCR1 系は MMP-9 を発現するクッパー細胞の腫瘍内への動員を引き起こして、肝内腫瘍の進展に働いていると考えられた(文献 25)。