

令和元年6月17日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10493

研究課題名（和文）逆流性食道炎による食道発癌過程でのエピゲノム変化とがん微小環境の解明とその制御

研究課題名（英文）Antitumor Effects of Metformin Due to Regulation of the Immunosuppressive Tumor Microenvironment

研究代表者

宮下 知治（Miyashita, Tomoharu）

金沢大学・附属病院・助教

研究者番号：30397210

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：胃食道逆流症（GERD）による慢性炎症により制御性T細胞やM2型マクロファージといった抑制性免疫細胞が誘導され、これらの細胞によってTGF- β やIL-10といった免疫抑制性サイトカインが産生されることにより癌の微小環境が構築されると考えられた。またメトホルミン投与によりこれらのサイトカイン産生能が低下し、pSTAT3の発現も低下していた。さらに発癌率を低下させることが確認された。エピゲノム解析により、DNAメチル化酵素をコードする遺伝子の一つであるDnmt3aが低下し、ヒストン脱アセチル化酵素をコードする遺伝子の一つであるHdac9が低下していることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

型糖尿病治療薬であるメトホルミンが癌組織を構築する抑制性免疫細胞の浸潤を抑制することにより癌微小環境を改変し、発癌抑制作用を有する可能性が示唆された。がん微小環境に対する既存薬再開発（ドラッグリポジショニング）につながる研究の成果と思われる。

研究成果の概要（英文）：Recently, metformin has been reported to be an anti-inflammatory, inhibition of phospho-Stat3 and antitumor activity. We evaluated that the dynamic alterations of infiltrating immune cells in esophageal carcinogenesis and investigated the anti-cancer effects of metformin. Flow cytometric analysis demonstrated that the balance of M1- and M2-polarized macrophages, as well as the number of phospho-Stat3-positive macrophages, regulatory T cells, cytotoxic T cells, and natural killer cells, were dynamically changed at each stage of the disease. Metformin treatment stimulated immunomodulation at every stage. Overall, these findings suggest that metformin suppressed the esophageal carcinogenesis by improving the immunosuppressive tumor microenvironment.

研究分野：消化器外科

キーワード：食道発癌 逆流性食道炎 がん微小環境 化学予防

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

- (1) 慢性炎症と発癌は密接に関連しており、その過程には2つのステップが考えられる。
- (2) 一つは遺伝子のエピジェネティックな制御が異常になること、もう一つは炎症が向腫瘍作用に傾き“がんの微小環境”を形成することである。
- (3) 個々の細胞は遺伝子発現メモリーによる制御された細胞系譜を持つことが知られているが、細胞の分化系譜が変わった化生細胞が、さらに発癌へと進む過程では、単独の遺伝子変異ではなく、大規模なエピゲノム変化が起こっていることが推測されている。
- (4) 炎症から癌化の過程(炎症期、化生期、癌化期)で癌組織内の微小環境が immunogenic から tolerogenic な状態に変化していくことが推察されている。
- (5) 申請者らはラットを用いて発癌剤を投与せずに逆流性食道炎からバレット食道腺癌に至る自然発癌動物モデルを開発し、遺伝子発現の改変を行わず、手術後約40週で癌が発生することを報告してきた。
- (6) このモデルの特徴は、ヒトでも生理的に起こり得る胃液や十二指腸液の食道内への逆流による生理的モデルであること、組織像では腺癌が発生する前に食道扁平上皮基底部に腺上皮化生を示す細胞巣が観察でき、いわゆるヒトでの Inflammation-Metaplasia-Adenocarcinoma (IMA) sequence を再現していることなどが挙げられ、ヒトにおいて生理的に遭遇し得る環境因子が癌の誘因となる画期的な発癌モデルと考えられる。
- (7) 型糖尿病治療薬としてすでに臨床応用されているメトホルミンが、pStat3 の抑制や TGF- β の抑制効果をもつことが報告されている。さらに近年では細胞障害性 T 細胞の免疫疲弊を解除する薬物としても注目されている。

2. 研究の目的

本研究では我々が開発した自然食道発癌モデルを用いて

- (1) 発癌過程における“エピジェネティックな変化”を採取した食道組織を用いて解析する。
- (2) 発癌過程において組織内に浸潤した細胞のうち抑制性免疫細胞の浸潤度およびその機能を解析し、メトホルミンを使用した Drug repositioning による“がん微小環境”の変化について検討する。

3. 研究の方法

モデルラットを経時的に屠殺後、食道を採取し

- (1) エピゲノム解析を行い、DNAメチル化異常を検索する。
- (2) メトホルミンの投与による腫瘍抑制効果と抑制性免疫細胞の浸潤度およびその機能を flow cytometry を用いて解析する。

4. 研究成果

- (1) エピゲノム解析にて
de novo の DNAメチル化酵素をコードする遺伝子の一つである Dnmt3a が低下しており、DNAメチル化レベルが低下し遺伝子発現 (Junb, Vegfc など) が亢進している可能性が示唆された。
ヒストン脱アセチル化酵素をコードする遺伝子の一つである Hdac9 が低下しており、ヒストンのアセチル化が低下することにより遺伝子発現 (Lrrc2, rgs など) が抑制されている可能性が示唆された。
- (2) メトホルミン投与群ではコントロール群に比べ
発癌率が有意に低率であった。
食道への M2 マクロファージの浸潤度も有意に低率であった。
M2 マクロファージにおける TGF- β と IL-10 の産生能も低下していた。
マクロファージにおける pSTAT3 の発現も低下していた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1 件)

- (1) [Miyashita T](#), Kono T, Matsui D, Yamazaki Y, Sadatomi D, Fujitsuka N, Nakanuma S, Okamoto K, Makino I, Kinoshita J, Nakamura K, Oyama K, Tajima H, Takamura H, Ninomiya I, Fushida S, Mukaisho K, Harmon JW, [Ohta T](#). Preventive effect of oral hangeshashinto (TJ-14) on the development of reflux-induced esophageal cancer. Surgery. 2018 Mar 22. pii: S0039-6060(18)30037-0. doi:

〔学会発表〕(計 5 件)

1. Miyashita T et al. Impact of inflammation-metaplasia-adenocarcinoma sequence and inflammatory microenvironment in esophageal carcinogenesis using surgical rat models, The Jubilee 25th and associated 26th Czech-Japanese surgical symposiums (The Czech section of the International College of Surgeons), 2018.09.23~2018.09.29, Prague, Czech Republic.
2. 宮下知治 他, 逆流自然発癌モデルを用いた慢性炎症から発癌過程での微小環境の解明(ワークショップ), 第14回日本消化管学会総会学術集会, 2018.02.09~2018.02.10, 東京
3. 宮下知治 他, 逆流発癌モデルを用いた炎症から発癌過程での微小環境の解明とその抑制(シンポジウム), 第28回消化器癌発生学会総会, 2017.11.17~2017.11.18, 熊本
4. 宮下知治 他, 逆流自然発癌モデルを用いた慢性炎症から発癌過程での微小環境の解明と半夏瀉心湯(TJ-14)による抑制(シンポジウム), 第72回日本消化器外科学会総会, 2017.07.20~2017.07.22, 金沢
5. Miyashita T et al. Hangeshashinto Impedes the Development of Reflux-Induced Esophageal Cancer in a Surgical Rat Model, DDW2016, 2016.05.21~05.24, San Diego (USA)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年:
国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 太田 哲生

ローマ字氏名: Ohta Tetsuo

所属研究機関名: 金沢大学

部局名: 医学系

職名: 教授

研究者番号(8桁): 40194170

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。