

論 文 内 容 要 旨

題目 TIMP1 Promotes Cell Proliferation and Invasion Capability of Right-sided Colon Cancers via the FAK/Akt Signaling Pathway (右側大腸癌では TIMP1 が FAK/Akt シグナル経路を介して細胞増殖活性及び浸潤能を促進する)

著者 Beibei Ma, Hiroyuki Ueda, Koichi Okamoto, Masahiro Bando, Shota Fujimoto, Yasuyuki Okada, Tomoyuki Kawaguchi, Hironori Wada, Hiroshi Miyamoto, Mitsuo Shimada, Yasushi Sato, Tetsuji Takayama
令和4年発行 Cancer Science に掲載予定

内容要旨

大腸癌は世界的に癌関連死亡率の上位を占めており、予後の改善が求められている。早期大腸癌は内視鏡治療や外科手術により根治可能であるが、進行癌の予後は不良である。ことに右側大腸癌は左側大腸癌に比べて生存期間が短い。その機序やシグナル伝達の詳細は不明である。一方、最近内視鏡生検や手術摘出標本より得られた大腸癌組織を single cell 化し、種々の成長因子を加えて3次元的にオルガノイドとして培養することが可能となった。そこで本研究では、右側及び左側大腸癌よりオルガノイドを樹立し、それぞれの細胞増殖活性や転移浸潤能を比較検討した。また、PCR アレイにより左右大腸癌の遺伝子発現を網羅的に解析し、右側大腸癌のシグナル伝達経路の特徴を明らかにするとともに、public database を用いて得られた結果を検証した。

64例の大腸癌患者より大腸癌オルガノイドを樹立し、条件を揃えるためにRAS 遺伝子変異(-)、BRAF 遺伝子変異(-)、p53 遺伝子変異(+)の癌をそれぞれ4種類実験に用いた。初めに、左右大腸癌の細胞増殖活性を CellTitre-Gro assay により調べたところ、右側大腸癌では有意に高い活性を示した。同様に、左右大腸癌の浸潤能を Transwell assay により比較検討したところ、右側大腸癌では有意に高い活性を示した。薬剤感受性は左右大腸癌に有意な差を認めなかった。細胞増殖活性や浸潤能に関連する 30 pathway、184 遺伝子の発現を realtime PCR により調べたところ、右側大腸癌では TIMP1 の発現が最も亢進していた。TIMP1 蛋白質の発現を調べたところ、右側大腸癌ではいずれも正常大腸上皮より有意に高い発現を認めたが、左側大腸癌では正常大腸上皮より発現が低下していた。TIMP1 の機能を調べるために、左右大腸癌オルガノイドに TIMP1 shRNA

様式(8)

レンチウイルス発現ベクターを導入したところ、右側大腸癌では細胞増殖活性及び浸潤能が有意に抑制されたが、左側大腸癌はいずれも変化しなかった。TIMP1 ノックダウン細胞を用いて、TIMP1 のシグナル伝達経路であるの一つである FAK/Akt 経路のリン酸化蛋白質を western blot 法により調べたところ、いずれも有意に抑制されていた。一方、TIMP1 のもう一つのシグナル伝達経路である MAPkinase 経路のリン酸化蛋白質には変化を認めなかった。従って、右側大腸癌では TIMP1/FAK/AKT pathway が活性化して細胞増殖活性や浸潤能が高まっていることが示された。実際に、FAK 選択的阻害剤や Akt 選択的阻害剤により細胞増殖活性や浸潤能は有意に抑制された。TCGA database を用いて 587 例の大腸癌症例を解析したところ、右側大腸癌では TIMP1 発現が有意に高く、TIMP1 高発現群では低発現群に比べて生存期間が有意に短かった。

以上より、右側大腸癌では左側大腸癌に比べて TIMP1 発現が高く、TIMP1/FAK/AKT pathway の活性化を介して細胞増殖活性及び浸潤能が有意に亢進し、予後不良となる機序が想定された。TCGA database の解析においても、右側大腸癌における TIMP1 発現が高く、TIMP1 高発現群では低発現群に比べて予後不良であることが示され、TIMP1-FAK/Akt 経路を標的とした右側大腸癌治療ストラテジーの有用性が示唆された。