

論 文 内 容 要 旨

Mesenchymal Stem Cells Induce Epithelial to
Mesenchymal Transition in Colon Cancer Cells through
Direct Cell-to-Cell Contact

(間葉系幹細胞による、直接的な細胞-細胞間接触を介した
大腸癌の上皮間葉系転換誘導)

Neoplasia, 19 (5): 429–438, 2017.

主指導教員：茶山 一彰 教授

(医歯薬保健学研究科 消化器・代謝内科学)

副指導教員：田中 信治 教授

(広島大学病院 内視鏡医学)

副指導教員：伊藤 公訓 准教授

(医歯薬保健学研究科 消化器・代謝内科学)

瀧川 英彦

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【背景】

骨髄由来間葉系幹細胞 (Mesenchymal Stem cell; MSC) は創傷部のみならず癌間質に遊走することが報告されている。我々はこれまでに、ヌードマウス同所性大腸癌モデルにおいて MSC が大腸癌間質形成に寄与し、癌の増殖・転移を促進することを報告してきた (Shinagawa K, et al. Int J Cancer, 2010) が、その相互作用に関する詳細な機序は明らかとされていなかった。

【研究の目的】

MSC は腫瘍の進展を促進するという報告がある一方、少ないながら腫瘍進展を阻害するという報告もなされている。MSC の向腫瘍性から薬剤輸送の手段としての期待がある一方、腫瘍増殖促進作用を有しており、癌に対する MSC の影響を明らかにすることは臨床的意義が高いと考える。これまでのマイクロアレイなどを用いた癌細胞と MSC の相互作用機序に関する報告では、MSC が癌細胞における CD44、lysyl oxidase、TWIST, MMP、WNT5A、TGF- β type I receptor、CD133 などの遺伝子発現上昇を介して、腫瘍進展や上皮間葉系転換 (Epithelial Mesenchymal Transition; EMT) の促進を起こすことが報告されてきているが、その癌細胞と MSC との相互作用の機序については十分には明らかとなっていない。本研究において、癌細胞と MSCs の相互作用において、どのような、遺伝的、病理学的、細胞生物学的な変化が起こっているかを明らかにする。さらには、その変化が、細胞-細胞間直接接触に伴うものか、液性因子を介した paracrine 機序によってもたされるのかなど、詳細な機序を明らかにすることを目的とした。

【結果】

(1) 癌と MSC の共培養実験

MSC と癌細胞を接触性共培養すると癌細胞の増殖、遊走能は上昇し、癌細胞には EMT がみられた。一方、非接触性共培養ではそれらの変化はみられなかった。

(2) 癌細胞と MSC の接触性共培養における癌細胞での遺伝子発現変化

MSC との接触性共培養における、癌細胞の遺伝子発現変化をマイクロアレイで網羅的に解析すると、fibronectin (FN) などの EMT 関連遺伝子の上昇がみられ、real time PCR でも validation がえられ、非接触性共培養ではそれらの遺伝子発現の上昇はみられなかった。

(3) MSC との直接接触により誘導される癌部における FN 発現上昇とそれに伴う EMT

チャンバースライドによる実験では、癌細胞と MSC が接する、癌細胞のクラスター辺縁で FN 発現上昇がみられ、ヌードマウスを用いた同所移植モデルにおいても同様に、間質領域と接する癌辺縁部において FN の高発現がみられ、いずれの実験も MSC と癌の直接接触が癌に EMT を誘導することを示唆していた。

(4) 臨床検体を用いた検討

ヒト大腸癌手術標本から得られた組織における検討で、腫瘍先進部では、FN の高発現がみられ、EMT が認められた。非浸潤癌と比べて浸潤癌では FN の発現が高く、とくに浸潤先進部で高かった。FN 発現は腫瘍進展と関連し、FN 発現は予後不良因子であった。

【考察】

本研究では、MSC の大腸癌増殖・転移促進機構を、*in vitro*（非接触性・接触性の共培養実験）、*in vivo*（ヌードマウス同所性大腸癌モデル、ヒト大腸癌）の両面から検討した。

癌細胞における腫瘍増殖能、遊走能の上昇は癌細胞と MSC の接触においてのみ誘導された。接触性共培養によって癌細胞において誘導される遺伝子をマイクロアレイ法にて網羅的に検討したところ、FNをはじめとする、EMT 関連遺伝子の発現上昇が多くみられた。

ヌードマウス同所性大腸癌組織において、FN を発現している癌胞巣では上皮マーカーの発現が減弱しており、MSC により形成される腫瘍間質が癌細胞の上皮間葉移行（EMT）を誘導しており、臨床検体においても、腫瘍先進部における FN 発現は予後不良因子であることを見出した。従来、癌細胞と MSC はパラクライン様式を介して相互作用することが報告されていたが、本研究結果からは、MSC が細胞-細胞間直接接触を介して、癌細胞の EMT を誘導し、腫瘍の進展を促進していることが示唆された。