

京都大学教育研究振興財団助成事業  
成果報告書

平成27年9月1日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会長 辻 井 昭 雄 様

所属部局・研究科 医学研究科 消化管外科学

職名・学年 ポストドクトラルフェロー

氏名 板谷喜朗

助成の種類	平成26年度・若手研究者在外研究支援・在外研究長期助成		
研究課題名	SMAD4欠損大腸癌の腫瘍微小環境におけるサイトカイン/ケモカインや血管新生の関与の解明と新規治療戦略の構築		
受入機関	カリフォルニア大学サンディエゴ校、モーレスがんセンター		
渡航期間	平成26年7月1日 ～ 留学継続中（助成期間は平成27年6月30日まで）		
成果の概要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input type="checkbox"/> 無		
会計報告	交付を受けた助成金額	3,000,000円	
	使用した助成金額	3,000,000円	
	返納すべき助成金額	0円	
	助成金の使途内訳	旅費(航空券、燃料サーチャージ等):20万円	
		ホテル滞在費(渡米直後):10万円	
滞在費(家賃、光熱費、食費):270万円			
当財団の助成について	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) 日本人研究者が海外で学ぶにあたって、大きな障壁と成り得るのが、金銭援助の有無です。今回私は貴財団からの援助により、生活面での不安を抱えることなく研究活動に打ち込むことができました。今後ますます貴財団の援助を受けて世界で活躍できる日本人研究者が増えることを、切望しております。		

SMAD4 欠損大腸癌の腫瘍微小環境におけるサイトカイン/ケモカインや血管新生の関与の解明と新規治療戦略の構築

1. 研究目的

癌の浸潤転移においては、癌細胞の悪性度はもちろんのこと、腫瘍組織を構成する正常細胞と癌細胞との相互作用が、腫瘍組織を成立させるのに非常に重要な役割を担うことが知られている（腫瘍微小環境）。血管新生因子は腫瘍微小環境において癌の発育浸潤を促進させる代表的な因子である。

一方、TGF-beta シグナルの転写因子である SMAD4 タンパクは、大腸癌の癌細胞側の抑制因子として機能し、SMAD4 欠損大腸癌は予後が悪い事が知られている。しかし、大腸癌における癌細胞の SMAD4 の欠損と、微小環境での血管新生因子の相関に関してはあまり多くは研究されていない。

そこで我々は、京都大学遺伝薬理学教室が作出した大腸腫瘍モデルマウス (*Apc* ノックアウトマウス [良性の大腸腺腫モデル]、*Apc/Smad4* ノックアウトマウス [悪性の大腸癌モデル]) を用いて、腫瘍微小環境における血管新生因子を多く研究しているカリフォルニア大学サンディエゴ校、モーレスがんセンターの Ferrara 教授のもとで、SMAD4 欠損大腸癌の血管新生因子の関与の解明と新規治療戦略の構築を目的として研究を開始した。Ferrara 教授は血管内皮細胞増殖因子 (Vascular Endothelial cell Growth Factor、VEGF) を同定し、さらに抗 VEGF 中和抗体が幅広い固形腫瘍に対して抗腫瘍効果をもたらすことを解明した、血管新生因子や腫瘍微小環境の大家である。

2. 研究成果

[SMAD4 欠損大腸癌において発現上昇が見られる血管新生因子の探索]

われわれ遺伝薬理学教室の作出した遺伝子改変大腸癌モデルマウス (*Apc* ノックアウトマウス [良性大腸腺腫モデル] と、*Apc/Smad4* ノックアウトマウス [悪性大腸癌モデル]) をカリフォルニア大学サンディエゴ校のモーレスがんセンターに輸送し、コロニーを確立した。これらのマウスを用いて、SMAD4 発現の有無に起因する良性悪性両方の腫瘍組織を比較することで、SMAD4 欠損大腸癌に特異的な（あるいは有意に発現が上昇している）血管新生因子を同定することを試みた。マイクロアレイ法や qRT-PCR 法による両腫瘍組織の比較において、血小板由来成長因子 (Platelet Derived Growth Factor, PDGF) が良性腫瘍組織に比較して SMAD4 欠損腸癌組織で上昇していることが分かった。また、ヒト大腸癌細胞株においても、SMAD4 を過剰発現させると PDGF の発現が抑制され、SMAD4 を

ノックダウンさせると PDGF の発現が亢進するという、マウスと同様の結果が得られた。SMAD4 癌組織特異的に PDGF の発現が亢進する詳細な分子生物学的機序は、今後ヒト大腸癌細胞株を用いて、*in vitro* で引き続き解析を継続する予定である。

#### [SMAD4 欠損大腸癌における抗 VEGF 治療の癌形成初期過程における効果]

現在、抗 VEGF 治療は進行・再発大腸癌における化学療法の標準治療として位置づけられている。増大し血流豊富となった固形腫瘍における、抗 VEGF 治療における抗腫瘍効果は知られているが、術後補助化学療法としての効果に対しては検証されていない。われわれは、SMAD4 欠損腸癌モデルマウス (*Apc/Smad4* ノックアウトマウス) を使用し、抗 VEGF 抗体を用いてこれを検証した。このモデルマウスは異時的多発的に腸管癌を形成するため、比較的幼若な週齢から抗 VEGF 治療を開始することで、大腸癌術後補助化学療法を模倣できると考えている。抗 VEGF 治療 (anti-VEGF antibody、クローン B20-4.1.1 を投与) を行ったマウスでは、コントロール群 (アイソタイプ IgG を投与) に比較して、腸管の腫瘍数は変わらないが腫瘍の平均サイズが顕著に小さいことが示された。このことから、抗 VEGF 治療が発癌抑制効果はないが、すでに形成された微小な大腸癌の増大を単独で著明に抑制することが示された。今後実験規模を拡大し、統計解析に耐えられるマウス数で同様実験を繰り返す予定である。

#### [IRDye800-conjugated tilmanocept を用いたマウス腸管腫瘍の可視化]

京都大学遺伝薬理学教室から腸管腫瘍マウスモデルを持っていくことで、同がんセンターの Vera 教授との共同研究にもつながった。Tilmanocept は CD206 陽性のマクロファージや樹状細胞に特異的に取り込まれる物質である。これらの細胞は固形腫瘍周囲に集簇することが知られている。IRDye800 で標識した tilmanocept を腸癌マウスに投与することで、腫瘍周囲に集簇した CD206 陽性細胞を観察することで間接的に腫瘍部位を観察できることを確認した。このプロジェクトは開始直後であるが、今後の発展が見込まれる。