

大腸を標的とする中・短期発がんモデルの開発に関する研究

研究分担者 吉見 直己 琉球大学大学院医学研究科・腫瘍病理学講座 教授

研究要旨

本研究の目的の一つとして多施設での病変を共有化することがあり、専門にしていなかった施設での大腸病変の検索のためのマニュアルを作成するとともに、他臓器での同様の病変のマニュアル集をまとめ、研究班に共有化を実施した。今後、他施設で実験された大腸粘膜での検討を実施することができると考えられる。また、今年度は、モデルでの病変として重要と考えられる粘液涸渇巣(mucin-depleted foci; MDF)に関係すると考えられる粘液成分の解析のために、これまでに作製していた腫瘍性病変における粘膜細胞に関する Klf4 遺伝子の発現を検討し、腫瘍での発現の低下を確認した。

A. 研究目的

ヒト大腸発がん過程において、腺腫・癌連鎖仮説で説明がつかない平坦型大腸癌が最近注目されている。動物モデルでみられる mucin-depleted foci (MDF)は平坦型の前がん病変の可能性がある。そのため、従前から動物モデルでの前がん病変として認識され、発がん予測バイオマーカーとして利用されている aberrant crypt foci (ACF)との病理組織学的な経時的な変化に関して検討し、本研究目的である中・短期での発がん試験への利用の可能性を検討した。

B. 研究方法

1. 共通化マニュアル集に関しては、大腸に関しては、従来、実施してきた方法論をできるだけ簡便化させて、写真等も加えて、作成した。
2. 4週齢のF344ラットに対し、発癌剤 azoxymethane (AOM; 15 mg/kg 体重)を投与して、20~40週時での大腸発癌を誘発された大腸腫瘍の凍結検体を用いて、その杯細胞形成に関係する遺伝子と考えられている Klf4 の mRNA 発現を検討した。

(倫理面への配慮)

倫理面の配慮については、琉球大学動物実験施設の実験動物委員会から動物実験の許可を得、動物実験指針を遵守して行い、動物愛護に十分に配慮した。

C. 研究結果

1. マニュアル集は班員全員分をまとめて、PDFとして12ページ程度にまとめた(本稿の別紙を参考)。ここへの収録は省略する。香川大から肺臓モデル実験系と国立衛研の膀胱モデルで得られた。琉球大へのホルマリン保存大腸は航空便では既存の宅配便では輸送できないことが判明したものの、船便では可能であった。現在、病変を検討している。

2. 33個の大腸腫瘍から抽出した mRNA において、Klf4 発現(GAPDH 遺伝子発現との比)は平均 0.79 であり、周辺の正常大腸粘膜の比の平均 2.15 と比べると有意な減少を認めた(下表)。前がん病変としての ACF や MDF での発現の比較を今後予定している。

Klf4 の発現	
	発現量 / GAPDH
正常大腸粘膜 (n=10)	2.15 ± 0.33
大腸腫瘍 (腺腫) (n=33)	0.79 ± 0.12

D. 考察

マニュアル集のまとめは、今後、研究班においてのみならず、こうした中・短期モデルでの発がん性試験としての確立に大いに役立つものと思われる。

また、大腸の前がん病変である ACF と MDF での粘液成分に關与する杯細胞発生に關与する(iPS 細胞作成にも必要な遺伝子でもあるが)Klf4 遺伝子の発現が大腸腫瘍で著明に抑制されている事実も今回確認できたので、特に MDF の病変は発がん性試験において、本研究の目的である中・短期での病変に強く関わることを示唆する結果と思われた。

E. 結論

大腸に関しては前がん病変での発がん性予測は可能と考えられるため、短中期モデルにより、新規化学物質リスクに利用できるとと思われる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Doguchi H., Yoshimi N. et al. The Enhancing Effects of Hyperbaric Oxygen in Mouse Skin Carcinogenesis. J. Toxicol Pathol 27: 67-72, 2014.
- 2) Morioka T., Yoshimi N. et al. Ionizing

radiation, inflammation, and their interactions in colon carcinogenesis in Mlh1-deficient mice. Cancer Sci, 2015 in press.

2. 学会発表

- 1) 高松 玲佳, 渡慶次 愛, 吉見 直己: Okinawan herb, *Bidens pilosa*, induces apoptosis through up-regulation of death receptor 5 in human colon carcinoma cells. 第73回日本癌学会学術総会, 横浜, 2014. 9.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし