

京都大学	博士 (医学)	氏 名	美谷島 杏子
論文題目	Matrix metalloproteinase 7 is required for tumor formation, but dispensable for invasion and fibrosis in SMAD4-deficient intestinal adenocarcinomas (マトリックスメタロプロテアーゼ7はSMAD4が欠損した腸管の腺癌において腫瘍形成には必要だが、浸潤や間質増生には必須の要素ではない。)		
(論文内容の要旨)			
<p>大腸癌の多くはAPC遺伝子の変異により生じた腺腫にKRAS、P53、SMAD4、TGFB2 (TGF-βII型受容体) などの変異が加わり腺癌へと進行する。中でも、TGF-βシグナルの伝達因子であるSMAD4の欠損が腸腫瘍の悪性化に重要であることが実験的に証明されている。すなわち、腸管に良性の腫瘍を発症するApc遺伝子変異マウス(Apc^{d716})にSmad4遺伝子の変異を導入したApc/Smad4複合変異マウスでは、良性の腺腫が浸潤や間質増生(線維芽細胞や細胞外基質の増加)を伴う悪性の腺癌へと進展することが報告されている。最近になってDNAマイクロアレイ解析により、Apc/Smad4複合変異マウスの腺癌ではApc^{d716}マウスの腺腫に比べてケモカインCCL9の発現が増加していることが明らかになった。さらにマウスを用いた解析からApc/Smad4複合変異マウスの腺癌では腫瘍上皮細胞が産生するCCL9によって、その受容体CCR1およびマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP) 2/9を発現する未分化骨髄球(imature myeloid cell; iMC)が腺癌の浸潤先端に集簇することで腫瘍細胞の浸潤が促進されることが明らかになった。</p> <p>一方、上述のDNAマイクロアレイの結果から、Apc/Smad4複合変異マウスの腺癌ではCCL9に加えて、MMP7の発現も増加していることが示された。</p> <p>MMP2やMMP9を含む多くのMMPは間質細胞に発現しているのに対してMMP7は主に腫瘍上皮細胞に発現することが知られており、その発現増加が浸潤、転移の頻度や患者の予後と相関することが示されている。またMMP7は細胞外基質の産生を担う大腸線維芽細胞の増殖を促進することが示されている。これらの報告からMMP7は浸潤や間質増生といった大腸癌でみられる病態に関与すると考えられるが、これまで腸腫瘍の悪性化における役割を個体レベルで検討した報告はなかった。そこで本研究では、Apc/Smad4複合変異マウスにMmp7の遺伝子変異を導入したApc/Smad4:Mmp7複合変異マウスを作出し腸癌の形成におけるMMP7の役割を検討した。</p> <p>初めに、腫瘍の数と大きさを検討したところ、Apc/Smad4:Mmp7複合変異マウスでは、Apc/Smad4複合変異マウスに比べて腫瘍の数が約半分に減少していた。またApc/Smad4:Mmp7複合変異マウスでは、直径1~3mmの大きな腫瘍の割合が優位に減少しており、逆に直径1mm以下の小さな腫瘍の割合が増加していた。</p> <p>次に浸潤の深さを検討したところ、Apc/Smad4複合変異マウスの腫瘍では粘膜下層、筋層、漿膜への浸潤がそれぞれ35、35、30%で認められるのに対してApc/Smad4:Mmp7複合変異マウスでも54%が粘膜下層へ、34%が筋層へ、12%が漿膜へ浸潤しており、両者に優位な差は認められなかった。またいずれのマウスにおいても浸潤先端には未分化骨髄球が集簇していた。</p> <p>さらに間質増生への影響を検討するために、腫瘍組織内の線維芽細胞の数や細胞外基質(I型コラーゲン、ファイブロネクチン、テネンシン)の発現を免疫染色にて検討した。これらはいずれもApc/Smad4複合変異マウスの腺癌ではApc^{d716}マウスの腺腫と比べ増加していたが、Apc/Smad4:Mmp7複合変異マウスの腫瘍との間に差は見られなかった。</p> <p>これらの結果からMMP7はSMAD4を欠損した腺癌において、腫瘍形成には必要だが、浸潤や間質増生には重要でないことが明らかになった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

大腸癌においてマトリックスメタロプロテアーゼ7(MMP7)は浸潤、転移、間質増生などの病態に関与することが臨床検体や、細胞株を用いた解析で示唆されている。しかし個体レベルで大腸腫瘍の悪性化におけるMMP7の役割を検討した報告はなかった。そこで本論文は、SMAD4遺伝子の変異によるTGF-βファミリーシグナルの遮断により、腸管に浸潤や間質増生を伴う腺癌を発症するApc/Smad4複合変異マウスに、Mmp7の遺伝子変異を導入しMMP7の腸腫瘍の悪性化における役割を検討した。

Apc/Smad4:Mmp7複合変異マウスでは、Apc/Smad4複合変異マウスに比べて腫瘍の数が約半分に減少していた。また腫瘍を大きさごとに分類すると、直径1~3mmの大きな腫瘍の割合が有意に減少しており、逆に直径1mm以下の小さな腫瘍の割合が増加していた。一方で、両者の間に浸潤の深さ、間質増生の指標である線維芽細胞の数、I型コラーゲン等の細胞外基質の蓄積には差が見られなかった。

以上のマウスモデルを用いた研究によりSMAD4を欠損した腺癌において、MMP7は浸潤、間質増生には必須の要素ではなく、むしろ腺腫の拡張(expansion)の段階に重要な役割を果たしていることが明らかになった。これは大腸腫瘍の悪性化におけるMMP7の役割を個体レベルで初めて実験的に検証したものであり重要な知見である。したがって本論文は博士(医学)の学位論文として価値のあるものと認める。

なお本学位授与申請者は平成21年2月4日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降