

京都大学	博士（医学）	氏 名	河野（秋武） 玲子
論文題目	Inhibitory role of Gas6 in intestinal tumorigenesis （腸管腫瘍発生における Gas6 の抑制的役割）		
（論文内容の要旨） <背景>大腸癌は世界で最も頻度の高い癌のひとつであるが、他臓器の癌とは異なり、多数の腸内細菌に常に暴露される特徴をもつ。実際、Toll-like 受容体（TLR）などの自然免疫系を介して、腸内細菌が腸の腫瘍形成に重要な役割を担うことが報告されている。Growth arrest-specific gene (Gas) 6 は、protein S と 43%のアミノ酸相同性を有し、Tyro3、Axl、Mer の三者（TAM）を受容体とする。TAM 受容体は、TLR を介した自然免疫応答を抑制すると報告されている。これまで、Gas6 の腫瘍進展過程における役割は培養細胞系での報告が中心で、腸内細菌や自然免疫応答が存在する生体腸管では検討されてこなかった。そこで、Gas6 が生体内での腸腫瘍発生にどのような役割を果たすかを、Gas6 ノックアウト（KO）マウスを用いて検討することとした。 <方法>まず、リコンビナントGas6 を大腸癌細胞株（SW480, HT29）およびマクロファージ細胞株（THP1）に投与し、培養細胞系における反応を検討した。続いて野生型（WT）マウスとGas6 KOマウスにazoxymethane/dextran sulfate sodium (AOM/DSS)またはDSS単独投与を行い、Gas6 がマウスの炎症性腸腫瘍形成および腸炎に及ぼす影響を検討した。さらに、多段階発癌のモデルであるApc^{Min}マウスをGas6 KOマウスと交配してApc^{Min}; Gas6 KOマウスを作成し、顕著な腸炎が存在しない条件下で、Gas6 が腸腫瘍形成に及ぼす影響を検討した。最後に、ヒト大腸癌臨床検体を用いてGas6 に対する免疫染色を行い、臨床的因子との関連を検討した。 <結果>培養細胞系にリコンビナントGas6 を投与すると、大腸癌細胞株（SW480, HT29）は弱いながらも有意に細胞増殖が亢進した。一方、マクロファージ細胞株（THP1）では、炎症性サイトカインの発現が有意に抑制された。次に、WTマウスとGas6 KOマウスにAOM/DSSを投与すると、Gas6 KOマウスはWTマウスに比べ、大腸腫瘍の数と炎症性サイトカイン発現が有意に増加した。このことから、Gas6 がマウスの炎症性腸腫瘍形成を抑制することが示された。DSSの単独投与では、Gas6 KOマウスは、組織学的腸炎と炎症性サイトカイン発現が有意に強く、Gas6 が腸炎を抑制することが示された。また、Gas6 KOマウスのDSS腸炎では、Gas6/TAMシグナルの標的であるSocs1/3 が間質の浸潤細胞で有意に低下し、TLRの下流因子であるNF-κBの活性が間質の浸潤細胞で有意に上昇していた。そのため、Gas6 の標的は腸間質の浸潤細胞と考えられた。次に、Apc^{Min}マウスとの交配では、Apc^{Min}; Gas6 KOマウスはsimple Apc^{Min}マウスに比べ、腸腫瘍の数と炎症性サイトカイン発現が有意に増加した。また、Apc^{Min}; Gas6 KOマウスはsimple Apc^{Min}マウスより有意に生存期間が短かった。したがって、Gas6 は多段階発癌モデルにおいても腸腫瘍形成を抑制することが示された。最後に、ヒト大腸癌臨床検体を用いた免疫染色では、Gas6 の発現は大腸癌の炎症反応と有意に逆相関、術後生存率と有意に相関していた。			

<結論>生体内の Gas6 は、培養細胞系とは異なり、腸腫瘍の発生に抑制的に作用することが示された。本研究は、腸管における間質の炎症反応制御を介した、大腸癌の新しい治療法の可能性を示唆すると考えられた。 (論文審査の結果の要旨) 大腸癌は、他臓器の癌と異なり膨大な数の腸内細菌に常に暴露されているため、自然免疫応答がその進展に影響を及ぼすとされる。本論文は、Toll 様受容体シグナルを抑制する機能をもつTAM 受容体のリガンドGrowth arrest-specific gene (Gas)6 が腸管腫瘍に及ぼす影響を、培養細胞系、マウス生体、ヒト臨床検体を対比させて検討したものである。 これまでの報告では、Gas6 と癌の関係は主に培養細胞系を用いて検討されてきた。本研究で申請者らは、腸内細菌に暴露される大腸癌特有の微小環境に着目し、Gas6 ノックアウトマウスを用いて、生体内での検討を試みた。その結果、Gas6 は培養細胞系で弱いながらも癌細胞増殖を促進する一方、マウス生体内では逆に炎症性発癌モデルと多段階発癌モデルの双方で、腫瘍増殖を抑制することを示した。これにより腸管という特殊な環境では培養細胞系とマウス生体で異なった表現系が出現しうることが示唆された。また、骨髄移植等の実験により、Gas6 の産生は上皮・間質の双方から行われること、Gas6 の標的は間質の炎症細胞であることも示した。さらにヒト大腸癌においても Gas6 が癌進展に抑制的に働く可能性を示した。 以上の研究は、自然免疫応答を介した大腸癌進展機序の解明に貢献し、新しい治療法の開発に寄与する可能性がある。 したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成 25 年 5 月 15 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			