

京都大学	博士（医学）	氏 名	村 上 哲 平
論文題目	The role of CXCR3 and CXCR4 in colorectal cancer metastasis (大腸癌転移におけるケモカイン受容体 CXCR3 及び CXCR4 の役割について)		
(論文内容の要旨)			
大腸癌は原発巣にとどまっている場合は手術で良好な予後が期待できるものの、リンパ節、肝臓、肺といった他臓器に転移していると治療成績はいまだ良好とはいえない。ケモカイン（リガンド）とその受容体は炎症、感染、アレルギーばかりでなく癌転移にも関与することが明らかとなってきた。当教室ではこれまでに 1) ケモカイン受容体 CXCR3 がリンパ節転移を促進すること、2) ケモカイン受容体 CXCR4 が肝転移巣形成を促進すること、3) 大腸癌臨床検体（92 例）の検討では約 1/3 の症例で CXCR3 発現を、約 1/2 の症例で CXCR4 発現を伴っており、CXCR3 と CXCR4 を共発現している約 1/4 の症例が最も予後が悪いことを報告してきた。今までに CXCR3 と CXCR4 を併せて検討した報告はなく、臨床応用の可能性を考える上で更なる詳細な検討が必須である。 最初に、臨床検体を用いて大腸癌原発巣および転移巣における癌細胞の CXCR3 と CXCR4 の発現を定量的 RT-PCR 法と免疫組織染色法にて評価した。CXCR3 と CXCR4 はいずれも転移巣（リンパ節、肝臓）では原発巣に比べ発現が有意に増加しており、また原発巣における CXCR3 の発現は Stage I / II にくらべ Stage III / IV では有意に増加していた。一方、CXCR3 のリガンド（CXCL9, CXCL10, CXCL11）、CXCR4 のリガンド（CXCL12）の発現はいずれも原発巣と転移巣の間に差は認められなかった。 次に同一患者の原発巣および転移リンパ節それぞれから樹立された大腸癌細胞株 SW480 と SW620 を用いて、CXCR3 と CXCR4 の発現量をウェスタンブロット法にて比較したところ、いずれの受容体も SW620 では SW480 に比べ 4 倍以上に増加していた。またマウス転移モデル(直腸接種)での検討では、SW480 のリンパ節、肝臓、肺への転移率が 20%、10%、10%であるのに対し、SW620 では 73%、47%、67%と有意に高かった。 形質細胞様樹状細胞では CXCR4 の反応性は、CXCR3 のリガンドとの共存下において増強されることが報告されているが、癌細胞におけるこのようなケモカイン受容体間での相互作用の報告は無い。そこで大腸癌細胞株を用いて CXCR3 と CXCR4 の受容体間の相互作用について検討したところ、CXCR3 及び CXCR4 はリガンド刺激でいずれも遊走能の増加を示すが、癌細胞に予め CXCL10 の添加により CXCR3 を刺激しておくこと CXCL12 に対する CXCR4 の遊走能が相乗的に増強されることを見いだした。この遊走能における相乗効果は、ケモカイン受容体の下流シグナルの ERK1/2 および AKT のリン酸化レベルの亢進としても同様に確認された。 次に SW620 に microRNA を導入して CXCR3 単独、CXCR4 単独、CXCR3/CXCR4 両方、の発現抑制株を樹立しマウス転移モデルでの転移能を評価した。接種 6 週間後では、いずれの発現抑制株もコントロール株と比較し、肺・肝・リンパ節への転移能が有意に低下していた。とくにリンパ節転移については CXCR3 単独、及び CXCR3/CXCR4 両方、の発現抑制株は転移率の低下がより著明であった。また接種 2 週間後での微小転移巣の評価では、リンパ節内の腫瘍細胞数には違いはなかったが、肝臓、肺での腫瘍細胞数は CXCR3 単独、及び CXCR3/CXCR4 両方、の発現抑制株では有意に低かった。 以上の結果から、大腸癌転移において CXCR3 と CXCR4 はいずれも治療ターゲットになりえる可能性が示唆され、実地臨床への応用が期待される。			

（論文審査の結果の要旨） 申請者らは以前に CXCR3 がリンパ節(LN)転移を、CXCR4 が肝転移を促進し、臨床検体の解析でも CXCR3、CXCR4 が共に予後不良因子であることを明らかにした。 本研究の目的は大腸癌転移において CXCR3 と CXCR4 が治療標的となり得るか検証することである。免疫染色、定量的 RT-PCR を用いた臨床検体の解析では CXCR3 と CXCR4 は原発巣に比べ転移巣（LN、肝）で高発現していた。同一患者から樹立された大腸癌細胞株 SW480（原発巣由来）と SW620（LN 転移巣由来）を比較すると SW620 は SW480 よりも CXCR3 と CXCR4 を強発現しマウスモデルでは有意に高い転移率(LN、肺、肝)を示した。SW620 を用いた細胞機能実験では、CXCR3 は遊走・増殖・MMP-9 分泌を、CXCR4 は遊走を促進し、遊走については CXCR3-CXCR4 間の相乗効果を認めた。CXCR3 単独、CXCR4 単独、CXCR3/CXCR4 両方、の発現抑制株を樹立し転移抑制実験を施行したところ、癌細胞接種 6 週間後ではいずれの発現抑制株も LN・肺・肝への転移率が有意に減少した。特に LN 転移については CXCR3 単独、CXCR3/CXCR4 両方の発現抑制株の転移率低下が著明であった。接種 2 週間後では CXCR3 単独、CXCR3/CXCR4 両方の発現抑制株では肝・肺の転移癌細胞数が有意に減少していた。 以上より CXCR3、CXCR4 が大腸癌転移の促進に相乗的に関与し、これらの抑制が大腸癌転移の治療につながる可能性が明らかとなった。 以上の研究は大腸癌転移のメカニズムの解明に貢献し、大腸癌転移の治療に寄与するところが多い。 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24年9月27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			