

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）			
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、TGFBR2（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（immature 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。 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。 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り出し腸癌の形成における MMP7 の役割を検討した。 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。 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。 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。 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。			

（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			