

金沢大学がん研究所共同研究成果報告書

平成23年4月25日提出

対象研究テーマ：Wntをはじめとするがん化シグナル制御の分子機構

研究期間：2010年4月8日～2011年3月31日

研究題目：増殖因子シグナルの破綻が導くがん化シグナル制御の分子機構

研究代表者：熊本大学発生医学研究所 助教 鈴木堅太郎

研究成果の概要：

Wnt/b-catenin シグナルをマウス胎児皮膚で特異的に活性化させる (K5cre Catnb^{(ex3)fl/+}マウス) と、EMT 亢進の指標である E-cadherin の発現低下がみられるが、がんの発生には至らない。K5cre Catnb^{(ex3)fl/+}マウスの皮膚を用いて、EMT に関与する遺伝子の発現変化をマイクロアレイにより網羅的に調べた結果、Snail など EMT マーカーの発現が亢進している一方、Wnt/b-catenin シグナルのアンタゴニストの発現亢進および Tgfb シグナルの活性化が起こっていることがわかった。組織 in situ、免疫染色でこれらの発現を調べたところ、真皮層で発現が亢進していた。Tgfb シグナルは EMT に対し抑制的に働くことでも知られている。本研究より、胎児皮膚形成過程において Wnt/b-catenin シグナルが活性化するとそれを抑制するシグナルカスケード (ネガティブフィードバック機構) も同時に活性化され、この機構の存在が胎児器官においてがんが発生しにくい理由の 1 つである可能性が示唆された。

研究分野：器官発生学

キーワード：増殖因子、Wnt/・-catenin、EMT、発癌

1. 研究開始当初の背景

胎児器官形成期において上皮-間葉相互作用なくして器官を形成することはできない。がん発生過程においてもがん細胞 (上皮系細胞) とその周辺を取巻く微小環境 (間葉系細胞) との相互作用が重要である。また胎児器官形成とがん発生には細胞増殖の亢進や EMT (上皮間葉転換) など共通のプロセスを有している。しかし、胎児器官形成過程においてがんが発生することは極めて稀である。なぜ、胎児器官ではがんは発生しにくいのか? 胎児器官形成過程にはがんの発生を抑制するメカニズムがドミナントに機能している可能性が考えられる。これまでのがん発生に関する研究は、培養細胞系や様々な遺伝子改変マウスを作製しアダルトでの解析が中心であった。これまでとは異なった切り口すなわち発生生物学的観点から、その発生メカニズムを捉えることにより、新たな知見が得られることが期待できると考えた。

2. 研究の目的

K5cre Catnb^{(ex3)fl/+}マウスの皮膚において、EMT のポジティブ因子の他に発現が亢進している遺伝子を同定するとともに、その発現変化を、組織 in situ、免疫染色で調べる。

3. 研究の方法

K5cre Catnb^{(ex3)fl/+}マウスの皮膚を用いて、発現が変化している遺伝子をマイクロアレイにより網羅的に調べた。発現に変化があった遺伝子について、さらに発現細胞および発現変化を組織 in situ、免疫染色で確認した。

4. 研究成果

K5cre Catnb^{(ex3)fl/+}マウスの皮膚では、真皮層における Tgfb シグナルの活性化および Wnt/b-catenin のアンタゴニストの発現が亢進していることがわかった。Tgfb シグナルは EMT に対し抑制的に働くことでも知られている。つまり胎児器官形成過程において、Wnt/b-catenin シグナルが活性化するとそれを抑制するシグナルが誘導されるというネガティブフィードバック機構が存在している可能性が示唆された。さらに本研究の結果は、Wnt/b-catenin シグナルが癌抑制因子としても機能しうる可能性を示唆していると思われる。現在、Tgfb の特異的レセプターとのダブルコンパウンド遺伝子改変マウス、さらに Wnt/b-catenin のアンタゴニストとのダブルコンパウンド遺伝子改変マウスをそれぞれ作成し、発現が亢進した意義について解析を進めている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

Omori A., Harada M., Ohta S., Villacorte M., Sugimura Y., Shiraishi T., Suzuki K., Nakagata N., Ito T., Yamada G.

Epithelial Bmp (Bone morphogenetic protein) signaling for bulboethral gland development; A mouse model for the congenital syndromes of cystic dilation. *Congenital Anomalies*, in press (2011)

Ohta S., Yukiko O., Suzuki K., Kamimura M., Tachibana K., Yamada G.

Sonoporation for gene transfer into embryos.

Cold Spring Harb Protoc. in press (2011)

Villacorte M., Suzuki K., Hayashi K., de Sousa Lopes SC., Haraguchi R., Taketo MM., Nakagata N., Yamada G.

Antagonistic crosstalk of Wnt/beta-catenin /Bmp signaling within the Apical Ectodermal Ridge (AER) regulates interdigit formation.

Biochem Biophys Res Commun. 391(4):1653-1657 (2010)

[学会発表] (計1件)

第50回日本先天異常学会学術集会

「胎児皮膚分化決定過程におけるマスターレギュレーターとしてのWnt/beta-cateninシグナリング」

鈴木堅太郎、山口裕史、Villacorte Mylah、秋山真志、清水宏、武藤誠、中瀧直己、築山忠維、Yamaguchi Terry、Birchmeier Walter、加藤茂明、山田源

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

熊本大学発生医学研究所・助教 鈴木堅太郎

(2) 研究分担者

なし

(3) 本研究所担当者

腫瘍遺伝学・教授 大島正伸