

研究区分		一般共同研究
研究課題		皮膚発がんの微小環境におけるケモカインの役割の包括的解析
研究代表者	所属・職名・氏名	和歌山県立医科大学医学部・教授・近藤稔和
研究分担者	所属・職名・氏名	和歌山県立医科大学医学部・講師・石田裕子
受入担当教員	職名・氏名	教授・向田直史
【研究目的】	<p>がんの炎症性微小環境においては、慢性炎症により組織の恒常性が失われており、実質細胞に由来する腫瘍細胞と間質細胞の両者間における相互連関が、がんの発症・進展に密接に関与することが報告されている。本研究では、炎症反応の key molecule であるケモカインに着目し、ケモカイン・ケモカインレセプターの遺伝子欠損マウスを用い、慢性炎症による皮膚発がんモデルにおいて、がんの発症・進展におけるケモカインシステムの病態生理学的役割を解析する。さらに、ケモカインが、皮膚がんの発症予防や進展抑制の分子標的となり得るか否かの可能性について明らかにすることが本研究の目的である。</p>	
【研究内容・成果】	<p>1. 研究の方法</p> <p>1) 遺伝子欠損マウス C57BL/6 マウスを遺伝子背景とする CX3C ケモカインレセプター-1(CX3CR1)の各遺伝子欠損マウスを用いた。</p> <p>2) 腫瘍形成 7,12-dimethylbenz[<i>a</i>]anthracene (DMBA, 100µg/200µl acetone)をマウス背部に塗布後、12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate(TPA, 30µg/200µl)を 20 週連続塗布して腫瘍形成を誘導し、各マウスで腫瘍形成の状況を比較・検討した。</p> <p>3) 病理組織学および免疫組織化学的検索 背部皮膚を採取し、パラフィン包埋切片を作成後、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して、表皮の厚さを計測した。また、CX3CL1、CX3CR1、マクロファージ、Tリンパ球、および新生血管を免疫組織化学的に検索した。</p> <p>4) 遺伝子発現検索 背部皮膚を採取し、リアルタイム RT-PCR 法で各遺伝子発現を検索した。</p> <p>2. 研究成果</p> <p>1) 野生型マウスにおいて TPA 塗布 2 および 10 週間後において、皮膚における CX3CL1 および CX3CR1 の遺伝子発現が有意に上昇していた。また、2 重蛍光免疫染色によって、マクロファージが CX3CL1 および CX3CR1 の発現細胞であった。また、CX3CR1 は T 細胞とマクロファージにも発現が認められた。</p> <p>2) WT マウスでは、乳頭腫形成が TPA 塗布 10 週目以降から観察され、20 週目では約 80% のマウスに認められたが、KO マウスでは乳頭腫形成が有意に少なく、約半数のマウスでしか乳頭腫がみられなかった。</p> <p>3) 病理組織学的に WT マウスでは表皮肥厚が観察されたが、KO マウスでは表皮層の肥厚が有意に減弱していた。さらに、免疫組織化学的検索において、WT マウスでは F4/80 陽性マクロファージおよび CD3 陽性リンパ球浸潤が顕著に観察された。しかしながら、KO マウスでは、マクロファージ、リンパ球ともに有意に減弱していた。さらに、血管新生についても、KO マウスでは腫瘍内血管数が有意に少なかった。</p> <p>4) 皮膚局所における CXCL1、CXCL2、IL-1α、IL-6、TNFα および COX-2 の遺伝子発現が KO マウスで減弱していた。さらに発癌に寄与している Wnt3a 遺伝子発現は WT マウスに比較して KO マウスで減弱し、特に、免疫組織化学的に CX3CR1 陽性細胞が Wnt3a 産生細胞ということ明らかとなった。</p>	
【成果等】	<p>【主な論文発表】 なし</p> <p>【学会発表】</p> <p>1. <u>Ishida Y</u>, Nosaka M, Kimura A, Kuninaka Y, Kawaguchi M, <u>Mukaiida N</u>, <u>Kondo T</u>. Pathophysiological roles of the CX3CL1-CX3CR1 axis in chemical-induced skin carcinogenesis. 15th International congress of Immunology. Abstracts, 344, Milan, 2013.8</p> <p>2. <u>Ishida Y</u>, Kimura A, Nosaka M, Kuninaka Y, <u>Mukaiida N</u>, <u>Kondo T</u>. Pathophysiological roles of the CX3CL1-CX3CR1 axis in chemical-induced skin carcinogenesis. 第 42 回日本免疫学会学術集会, 千葉, 2013.12</p> <p>【その他特筆事項】 なし</p>	