

|           |   |  |
|-----------|---|--|
| 研究区分      |   | 一般共同研究   |
| 研究課題      |   | 炎症性腫瘍における SKAP2 の機能解析  |
| 研究代表者     | 所属・職名・氏名  | 秋田大学大学院医学系研究科・教授・田中正光  |
| 研究分担者     | 所属・職名・氏名  | 秋田大学大学院医学系研究科・助教・島村真太郎   |
| 受入担当教員    | 職名・氏名   | 教授・大島正伸  |
| 【研究目的】    | <p>「癌組織に集積する癌随伴マクロファージの動態に、SKAP2 がどう関わるのか明らかにする。」</p> <p>腫瘍におけるチロシンリン酸化蛋白質を精製する先行研究において、最近 SKAP2 を同定した。SKAP2 は Src の基質となるアダプター蛋白質で T リンパ球やマクロファージでの発現が知られている。実験的に炎症性胃癌を 100%誘発する Gan マウスをベースに、SKAP2 の有無が癌随伴マクロファージの癌組織への集積、炎症の程度にどう影響するかを判定したい。</p> <p>炎症性癌の進展を左右する癌随伴マクロファージの、移動能やその他の機能に影響の高い分子であれば治療標的として有用性が高い。</p>   |  |
| 【研究内容・成果】 | <p>SKAP2 欠損マウスと Gan マウスを用いて以下の実験を行った。</p> <p>SKAP2 遺伝子破壊マウス: SKAP2<sup>Gt</sup>(VICTR20)21Lex は Jackson ラボから入手した。同マウスは Gene trap 法により SKAP2 遺伝子座の破壊が確認されており、外見上の特徴は特にみられないが B リンパ球の基質接着が減弱する形質が報告されている。ホモマウスを作製後、バッククロスにより異常な形質が出現していないことを確認し、実験および Gan マウスとの交配に使用した。まず SKAP2 遺伝子破壊マウスから各臓器を採取し、脾臓や肺、肝臓などマクロファージの多く存在する組織で SKAP2 タンパク質の発現が消失している事を確認した。同マウスの腹腔マクロファージを採取し、血清濃度勾配による <i>in vitro</i> Transwell アッセイと 3次元ゲル浸潤アッセイを行った。野生型マウスに比較して SKAP2 マウスのマクロファージは細胞移動能、ゲル浸潤能がいずれも低下しており、M-CSF/IL-4 など細胞移動促進因子に対する応答性も低下していた。その結果、複数の胃がん細胞とマクロファージの共培養において、マクロファージの SKAP2 発現の消失により、がん細胞自身のゲル浸潤性も抑制される事が観察された。</p> <p>Gan マウスは熊本大学 CARD から供給を受け、秋田大学には H25 年 10 月下旬に搬入され、施設の検疫後 1 2 月から使用可能になった。K19-Wnt1, K19-C2mE のダブルヘテロ (Gan) マウスの個体数を増やす交配を続ける一方、SKAP2 遺伝子破壊マウスと Gan マウスの交配により SKAP2 ノックアウト Gan マウスを作成中である。</p> <p>Gan マウス導入までに予想外に時間を要したため、同マウス個体を用いたアッセイは今後継続して成果を得る予定である。コントロールとしての Gan マウスと、SKAP2 欠損 Gan マウスにおいて自然感染により炎症性胃がんを発症させ、生じた胃がん組織へのマクロファージの侵入・集積状態を、M2 マクロファージのマーカーと SKAP2 に対する抗体を用いて免疫組織学的に検索する。SKAP2 の欠損により、<i>in vitro</i> での結果を反映して癌随伴マクロファージの癌組織への集積が阻害されているか、炎症反応の程度に差がみられるか、またその結果として胃癌の局所浸潤や個体の生存期間に差がみられるかを判定する。</p> <p>当課題に関しては秋田大学の組み換え DNA 実験委員会と動物実験委員会に関する承認番号を取得して実験を行った (承認番号 a-1-2435)。</p> |  |
| 【成果等】     | 【主な論文発表】  | なし   |
|           | 【学会発表】  | SKAP2 を発現する間質マクロファージの癌の浸潤への影響の解析<br>島村真太郎、田中正光<br>第 7 2 回日本癌学会学術総会 |
|           | 【その他特筆事項】   | なし   |