

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	典 久 場 的
論文審査担当者	主 査 小泉 知展 副 査 竹下敏一・平塚佐千枝
論文題目	Cecal tumorigenesis in AhR-deficient mice depends on cecum-specific MAPK pathway activation and inflammation. (AhR ノックアウトマウスの回盲部における腫瘍発生は回盲部に特異的な MAPK 経路の活性化と炎症反応に依存する)
(論文の内容の要旨)	<p>【背景と目的】 Aryl hydrocarbon receptor (AhR)はダイオキシン受容体として知られる転写因子である。近年、AhR ノックアウトマウスの回盲部に、炎症反応と Wnt/β-カテニン経路の活性化を伴いながら腫瘍が発生することが報告された。しかし、AhR 依存性のβ-カテニンの分解に関して、いくつかのグループにより相反する結果が報告された。AhR ノックアウトマウスの回盲部における腫瘍発生に関与する Wnt/β-カテニン経路以外の経路を明らかにするために、我々は、腫瘍の形態学的な特徴、腫瘍および腹腔マクロファージにおけるサイトカイン・ケモカインの産生などについて検討した。また我々は、ヒトの大腸癌における AhR の発現についても検討した。</p> <p>【材料および方法】 C57BL/6 マウスを普通飼育室で飼育した。28 匹の AhR ノックアウトマウス、23 匹の野生型マウス、12 匹の AhR と ASC のダブルノックアウトマウス、16 匹の ASC ノックアウトマウスについて、最大 50 週齢まで飼育して解析を行った。これらのマウスの終末回腸～直腸について、ホルマリン固定してパラフィンブロックを作成し、HE 染色標本を作製して形態学的に解析した。必要に応じて種々の免疫染色を行った。AhR ノックアウトマウスの病変部および野生型マウスの回盲部から total RNA を抽出し、種々の分子の発現について定量 PCR を用いて解析した。AhR ノックアウトマウスおよび野生型マウスのチオグリコレート誘導腹腔マクロファージを調製し、LPS と ATP の刺激の際のまたは種々の細菌を培養系に投与した際のサイトカイン・ケモカインの産生を測定した。ヒトの大腸癌を adenoma-carcinoma sequence と sessile serrated pathway に由来するものに分類し、それぞれの前駆病変も含めて AhR の発現について免疫染色を用いて解析した。</p> <p>【結果】 50 週齢までに 28 匹中 10 匹の AhR ノックアウトマウスの回盲部に病変が発生したが、発生率は先行研究と比較して大きく低下していた。病変はヒトの大腸の鋸歯状病変に類似した過形成性病変から腫瘍性病変へと進展するものであり、前者の段階から病変部にマクロファージ・好中球の浸潤を認めた。増殖能を表す Ki-67 の陽性細胞は、病変部において腺管の底部から表層の方向に増加していた。先行研究と異なり、β-カテニンの免疫染色では病変部での強染・核移行は認めなかった。AhR ノックアウトマウスの病変部では、<i>Il-1β</i>、<i>Il-6</i>、<i>Ccl2</i>、<i>Cxcl5</i> などのサイトカイン・ケモカインの発現が上昇していたが、<i>c-Myc</i> の発現上昇は認めなかった。興味深いことに、病変部において Erk, Src, EGF 受容体のリン酸化の亢進と <i>Amphiregulin</i> の発現上昇を認めた。AhR ノックアウトマウスの腹腔マクロファージを LPS と ATP で刺激した際には、野生型マウスのものと比較して IL-6 のみ産生の亢進を認めた。ヒトの大腸の鋸歯状病変においては、AhR ノックアウトマウスの病変との形態学的な類似性にもかかわらず、上皮細胞における AhR の発現は上昇していた。</p> <p>【結論】 我々の結果は、AhR ノックアウトマウスの回盲部の病変の発生率、形態学的特徴、発生に関わるシグナル伝達経路を明らかにし、病変の発生の新たな機序を提示したものと考えられる。施設間の環境変化に伴う腸内細菌叢の変化が、AhR ノックアウトマウスにおける炎症反応に対する感受性やマクロファージの機能に変化をもたらし、腫瘍発生率の低下・腫瘍発生の遅延などをもたらした可能性が示唆される。</p>

