

論 文 要 旨

Smad2/3 linker phosphorylation is a possible marker of cancer stem cells and correlates with carcinogenesis in a mouse model of colitis-associated colorectal cancer
(腸炎関連大腸癌モデルマウスにおける Smad2/3 リンカー部リン酸化の癌幹細胞マーカーとしての可能性と発癌との関連性についての検討)

関西医科大学内科学第三講座
(指導：岡崎 和一 教授)

鈴木 亮

【研究目的】

潰瘍性大腸炎に大腸癌は高頻度に合併し、慢性炎症が病因と推測されるが、詳細なメカニズムは明らかになっていない。AOM(azoxymethane)と DSS(dextran sodium sulfate)を投与し、潰瘍性大腸炎合併大腸癌の疾患モデルマウスを作製し、詳細な病態を確認、解析する。このモデルマウスにおいて、細胞増殖抑制/亢進、発癌抑制/促進の機能を蛋白リン酸化部位特異的に発現し、また特定のリンカー部アミノ酸残基がリン酸化された蛋白を多く発現する細胞が、幹細胞様形質を示す Smad2/3 蛋白のリン酸化部位を識別する特異抗体を用いて、リン酸化 Smad2/3 蛋白の病態における役割を検討する。

【研究方法】

5 週齢の雄 Crl:CD-1(ICR)マウスに 10mg/Kg の AOM を腹腔内投与し、AOM 投与 1 週間後に 2%DSS を 7 日間自由飲水させた。コントロール群には生理食塩水を腹腔内投与し、水道水を自由飲水させた。AOM 投与 10 週後、20 週後にマウスを屠殺して大腸の腸管長、腫瘍個数を確認後、ホルマリン固定し HE 標本にて腸炎をスコアリングした。Smad3 の C 末端セリン残基とリンカー部セリン残基、Smad2/3 のリンカー部スレオニン残基がリン酸化された Smad 蛋白(それぞれ pSmad3C-Ser、pSmad3L-Ser、pSmad2/3L-Thr)を識別する抗体、c-Myc、Ki67、 β -catenin、CDK4、cyclinD1、Sox9 に対する抗体を用いて組織を免疫染色し、コントロール群の正常部、AOM/DSS マウスの腸炎部、腫瘍部のそれぞれにおいて経時的に発現を解析した。pSmad2/3L-Thr と Ki67、 β -catenin、CDK4 の蛍光二重染色法にて発現の異同を確認した。

【結果】

AOM/DSS マウスはコントロール群と比較し腸管長は有意に短縮していた。AOM/DSS マウスにおいて腫瘍個数は 10 週後と比較し、20 週後で有意に増加していた。腸炎のスコアリングではコントロール群と比較し、AOM/DSS マウスにおいて有意に高値であった。Ki67、 β -catenin、cyclinD1、Sox9 陽性細胞は腸炎部においては正常部と同様の発現であったが、腫瘍部においてはびまん性に発現が認められた。pSmad3L-Ser 陽性細胞は腸炎部と比較し、腫瘍部において有意に多く発現しており、かつ腸炎部においてもコントロール群正常部と比較すると有意に多く発現していた。pSmad2/3L-Thr 陽性細胞はコントロール群正常部および AOM/DSS マウスの腸炎部においては、腺底部に散在性に発現が認められたが、腫瘍部においては上層に有意に多く発現しており、いずれにおいても Ki67 との共染色は認めなかった。pSmad2/3L-Thr 陽性細胞は正常部と腫瘍部の両者において β -catenin(正常部と腸炎部では細胞膜、腫瘍部では核と細胞質に発現)、CDK4 と共染色が認められた。

【考察】

pSmad2/3L-Ser は腸炎関連大腸癌モデルにおいて、発癌早期から発現が認められる重要なシグナルであると考えられた。pSmad2/3L-Thr は正常部では組織幹細胞様細胞に発現が認められ、腫瘍部においても同様の形質を示したことから癌幹細胞様細胞マーカーとなり得る可能性が示唆された。