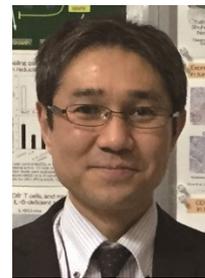


■受領No.1378

神経ペプチドシグナルを標的とした感染がんの 制御メカニズムの解明と予防・治療法の開発

代表研究者

北村 秀光 北海道大学遺伝子病制御研究所 准教授



1. 研究目的

ヒト肝炎ウイルス (HBV・HCV) やヒトパピローマウイルス (HPV) 感染に起因する肝がん、子宮頸がんについて、安心、安全な予防ワクチンの確立と感染がんを完全制圧する画期的な治療法の開発は重要である。神経ペプチドであるサブスタンスPやニューロキニンAは、一般的に、痛みやストレス、侵襲などの刺激により、神経系より放出され、上皮細胞、血管内皮細胞、平滑筋細胞などに作用し、気道収縮や、血管拡張および血管透過性のような生命維持に重要な反応をコントロールすることが知られている。最近、申請者は、肝がん患者および子宮頸がん患者の腫瘍組織において、ニューロキニンAの受容体であるNK2Rが高発現していることを見出した。また、ウイルス感染により生体内で産生されることが知られているサイトカイン、IFN- α/β の刺激により、ヒト樹状細胞やヒトがん細胞株においてもNK2Rが発現誘導されることも確認した。これらのデータから、NK2Rを介した神経ペプチドシグナルが、ウイルス感染や慢性炎症の過程において、宿主免疫応答・炎症反応や発がん、がん細胞の悪性化に関与する可能性が考えられる。そこで、本研究では、担がん環境下での抗腫瘍免疫細胞やがん細胞におけるNK2Rを介した神経ペプチドシグナルの関与を明らかにし、新しいがん細胞の悪性化メカニズムの解明とがん治療への応用を目指す。

2. 研究内容

本研究で、はじめにウイルスRNAをミミックする合成二本鎖RNAであるpoly I:Cを用いてヒト単球由来樹状細胞を刺激し、神経ペプチドニューロキニンAの受容体であるNK2Rの挙動と免疫応答性とがん細胞の増殖、悪性化を検証した。その結果、poly I:C刺激後、ヒト樹状細胞において、炎症性サイトカインであるIFN- α/β 遺伝子発現の誘導と転写活性化因子の一つSTAT1 依存的な細胞表面のHLAクラスI、クラスIIの発現増強に加え、NK2R遺伝子の発現レベルが亢進することを確認した。さらにヒト肝細胞がんや大腸がん細胞株についてIFN- α/β で処理したところ、NK2R遺伝子発現レベルが亢進することを見出した。そこで、NK2R阻害剤を用いて*in vitro*培養系により、がん細胞増殖をMTTアッセイ、アポトーシスの誘導効果をMTTおよびフローサイトメトリーで検討した結果、NK2R阻害剤の添加により、肝細胞がんおよび大腸がん細胞の増殖抑制とアポトーシスの誘導が確認された。さらにマウス肝がん細胞株および大腸がん細胞株を使用した検討でもヒトがん細胞株と同様の結果を得た。従って、ウイルス感染により樹状細胞などの免疫担当細胞から産生されるIFN- α/β が、がん細胞のNK2Rの発現を誘導し、がん細胞の増殖・生存に関与することが示唆された。

次にNK2R遺伝子を過剰発現させたマウス大腸がん細胞株あるいはCRISPR/Cas9システムによ

りロックアウトしたマウス大腸がん細胞株を作出した。これらのがん細胞株について、マウスの皮内あるいは脾臓内に移植する担がんマウスモデルを構築し、腫瘍形成および肝転移巣形成能について、腫瘍の計測、*in vivo*イメージング (IVIS) あるいはHE染色により評価した。その結果、NK2K 遺伝子の欠損により皮内あるいは肝臓におけるがん細胞の腫瘍形成や肝転移巣の形成が著しく低下することを見出すとともに、NK2R 遺伝子の過剰発現により、腫瘍形成や肝転移巣の形成が促進することを確認した。

さらに本研究で作出したNK2R遺伝子を欠損あるいは過剰発現するがん細胞を使用し、がん細胞の生存/増殖あるいは腫瘍形成と関連する遺伝子の発現プロファイルを精査した結果、NK2R 遺伝子の発現レベルに応じて、抗アポトーシスおよび上皮間葉転換 (EMT) 関連遺伝子との相関を見出した。そこで、wound-healingアッセイによるがん細胞の動態を検証したところ、NK2R 遺伝子を欠損したがん細胞は、コントロールがん細胞に比べて移動能が低下する一方でNK2R 遺伝子を過剰発現するがん細胞は、コントロール細胞に比べて移動能が亢進することを確認した。これらの結果から、NK2R を介した神経ペプチドシグナルはがん細胞の増殖や生存、さらに転移能獲得に関与する可能性が考えられた。

最後に、publicデータベースを活用し、各種がん患者について、腫瘍組織におけるNK2R遺伝子の発現レベルと生命予後との関係を検索した結果、腫瘍においてNK2R遺伝子を高発現している肝細胞がん患者および大腸がん患者の生命予後は不良であることを見出した。従って、実際のがん患者において、NK2Rの発現を介した神経ペプチドシグナルの亢進が、がん疾患の病勢に関与する可能性が考えられた。

本研究の成果から、実際のがん患者において、ウイルス感染により樹状細胞などの宿主免疫細胞から産生誘導される炎症性サイトカインIFN- α / β の刺激により、がん細胞のNK2Rの発現が増強されるとともに、NK2Rを介した神経ペプチドシグナルの亢進により、がん細胞の抗アポトーシスあるいはEMT関連分子の発現を増強することで、がんの悪性化、転移形成能獲得のメカニズムの一つである可能性が考えられた (図1)。そこで本研究を継続して推進し、ウイルス感染による炎症・免疫応答とがん細胞の悪性化における新たな制御メカニズムを詳細に解明するとともに、NK2R を介した神経ペプチドシグナルを標的とした新たな慢性炎症性疾患および感染がんの発生を予防、改善・治療する方策に応用することで、日本国民の健康に資する科学的エビデンスを提供できると考えられる。

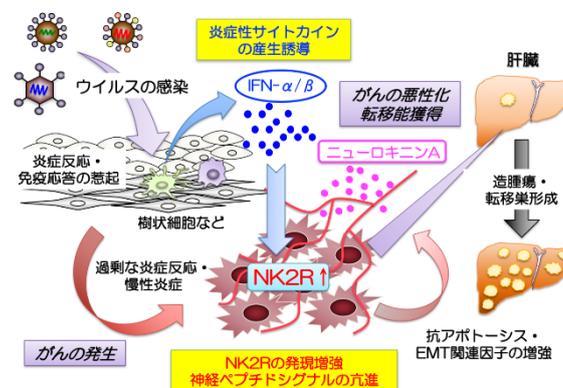


図1 がん細胞のNK2R発現増強を介した神経ペプチドシグナルの亢進が、がんの悪性化・転移能獲得に関与するモデル。

3. 発表 (研究成果の発表)

- (1) 項慧慧、豊島雄二郎、岡田尚樹、木井修平、長門利純、小林博也、武富紹信、北村秀光。神経ペプチド受容体の発現制御によるがんの悪性化・転移能の獲得。第3回 北大・部局横断シンポジウム 研究ネットワーク促進プログラム～Young Researchers in Cutting-edge Life Science～ (札幌、2018)
- (2) Xiang H, Toyoshima Y, Okada N, Kii S, Sugiyama K, Nagato T, Kobayashi H, Ikeo K, Hashimoto S, Tanino M, Taketomi A, Kitamura H. Neuropeptide signaling through NK2R is related to malignancy of colon cancer cells. The 38th Sapporo International Cancer Symposium. (Sapporo, 2018)
- (3) Xiang H, Toyoshima Y, Okada N, Kii S, Sugiyama K, Nagato T, Kobayashi H, Ikeo K, Hashimoto S, Tanino M, Taketomi A, Kitamura H. Blockade of NK2R-mediated neuropeptide signaling suppresses malignancy of colon cancer cells. 第78回 日本癌学会学術総会。 (京都、2019)
- (4) Xiang H, Toyoshima Y, Okada N, Kii S, Sugiyama K, Nagato T, Kobayashi H, Ikeo K, Hashimoto S, Tanino M, Taketomi A, Kitamura H. The role of NK2R-mediated neuropeptide signaling in inflammation and malignancy of colon cancer cells. 第48回 日本免疫学会学術集会。 (浜松、2019)