

# 神経ペプチドシグナルによる大腸がんの悪性化が明らかに

～新規がん治療への応用に期待～

## ポイント

- ・大腸がん患者の腫瘍組織における神経ペプチド受容体 NK2R の発現と生命予後との関連を確認。
- ・NK2R を介した神経ペプチドシグナルによる大腸がんの腫瘍形成、転移能獲得メカニズムを解明。
- ・大腸がんの再発・転移を防ぐ NK2R を標的とした新たながん治療法開発への応用が期待。

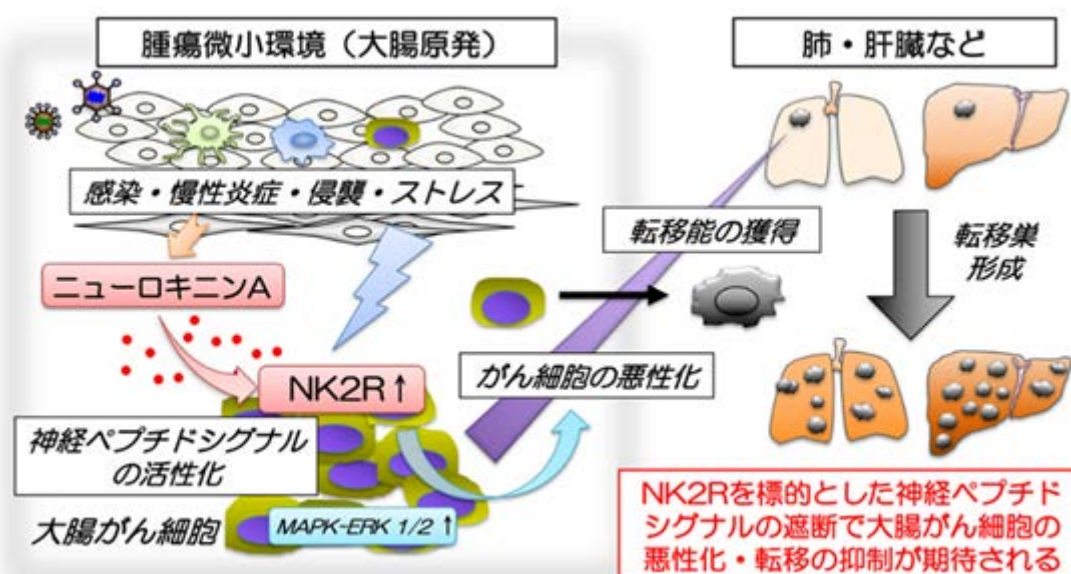
## 概要

北海道大学遺伝子病制御研究所の北村秀光准教授、同大学院医学研究院の武冨紹信教授、旭川医科大学医学部の長門利純講師、小林博也教授、谷野美智枝教授、国立遺伝学研究所の池尾一穂准教授、和歌山県立医科大学先端医学研究所の橋本真一教授らの研究グループは、大腸がんの悪性化に關与する新たな制御メカニズムを発見しました。

がんの発生に加え、再発や転移能獲得など悪性化を防ぐことは、がん治療にとって非常に重要です。本研究で、一般に痛みやストレスなどによって放出される神経ペプチド<sup>\*1</sup>の一つであるニューロキニン A<sup>\*2</sup> の受容体 NK2R<sup>\*3</sup> が、大腸がん細胞に発現し、生命予後と関連することを発見するとともに、NK2R の発現誘導と MAPK-ERK1/2<sup>\*4</sup> を介した神経ペプチドシグナルの活性化によって、大腸がん細胞の腫瘍形成や転移能形成能が増強することを明らかにしました。さらに自然免疫ジュバント (poly I:C<sup>\*5</sup>) を担がんマウスに投与するがん治療モデルに対して、神経ペプチドシグナルを遮断する阻害剤を併用投与することにより、抗腫瘍効果がさらに上乗せできることが分かりました。

本研究成果により、NK2R を標的として、大腸がんの悪性化、再発・転移を防ぐ、新たながん治療法開発への応用に繋がることを期待されます。

なお、本研究成果は、2022年5月13日(金)公開の Cancer Science 誌にオンライン先行掲載されました。



## 【背景】

神経ペプチドの一つニューロキニンAは、中枢及び末梢神経系に存在し、細胞間の信号伝達分子（ニューロトランスミッター）として働き、内分泌機能、生殖や摂食の調節、学習や記憶、痛覚に関与することが知られています。一般に、生体内において刺激を受けるとニューロキニンAは末梢神経系組織に放出され、その受容体であるNK2Rを介して内皮細胞、血管内皮細胞や平滑筋細胞に作用し、生体応答や場合によっては神経炎症を誘発すると考えられています。さらに最近の研究では、NK2Rは免疫細胞にも発現することが報告されています。

これまで研究グループは、ウイルス感染や細菌感染による炎症反応や免疫応答において、NK2Rが樹状細胞やマクロファージに発現誘導され、炎症性疾患の慢性化・重篤化に関与することを明らかにしてきました。一方、がん患者生体内の腫瘍微小環境におけるNK2Rの発現とがんの悪性化との関連については、あまり分かっていませんでした。そこで、本研究では、大腸がん細胞におけるNK2Rの発現制御とその悪性化との関係について検討しました。

## 【研究手法】

大腸がん患者の腫瘍組織について、免疫組織化学染色法により、NK2Rの発現を確認しました。またTCGAデータセット<sup>6</sup>を活用し、NK2R遺伝子を高発現している大腸がん患者と低発現の患者の生存率を比較検討しました。さらに、試験管内での培養評価系により、ヒト大腸がん細胞株におけるNK2Rの発現制御メカニズムを精査しました。また培養系にニューロキニンAあるいはNK2R阻害剤を添加し、細胞増殖を吸光度測定で、アポトーシスによる細胞死をフローサイトメトリーで、細胞遊走能をwound-healingアッセイ<sup>7</sup>で確認しました。ニューロキニン刺激によるシグナル伝達経路の活性化についてウエスタンブロッティング法<sup>8</sup>により確認しました。

またNK2Rを過剰発現しているマウス大腸がん細胞株を作出し、野生型BALB/cマウスの尾静脈内あるいは脾臓内に投与して肺転移巣または肝転移巣をそれぞれ形成するモデルを構築してNK2Rの発現と転移巣形成能との関連を検討しました。さらにマウス大腸がん細胞株を皮内移植した担がんモデルを作出し、自然免疫を活性化させる免疫アジュバントである合成二本鎖RNA (poly I:C) とNK2R阻害剤を単独あるいは併用投与することで、それらの抗腫瘍効果を確認しました。マウス腫瘍組織から樹状細胞及びがん細胞についてセルソーターを使用して単離し、NK2R及びニューロキニンAをコードしているTac1遺伝子の発現レベルを定量PCR法にて確認しました。

## 【研究成果】

本研究で、ヒト大腸がん患者の腫瘍組織のがん細胞においてNK2Rが高発現していることを見出すとともに、NK2R遺伝子の高発現例で予後不良であることを確認しました（図1）。またヒト及びマウス大腸がん細胞株をIFN- $\alpha/\beta$ で刺激すると、NK2R及びニューロキニンAをコードしているTAC1/Tac1遺伝子の発現レベルが増加すること、この増加はJAK1/2阻害剤の添加により減弱することを確認しました。さらにIFN- $\alpha/\beta$ 刺激により大腸がん細胞の増殖・生存が抑制されること、この抑制はニューロキニンAの刺激により回復すること、この過程でMAPK-ERK1/2シグナル伝達経路が活性化することも確認しました。一方、NK2R阻害剤の添加により、大腸がん細胞の増殖・生存及び細胞遊走能が濃度依存的に抑制されることが明らかになりました。

また転移巣形成モデル実験により、NK2R遺伝子を過剰発現させたマウス大腸がん細胞は、コントロール細胞に比べ、肺及び肝転移巣の形成が増強することを見出しました（図2）。

さらに担がん治療モデル実験により、合成二本鎖RNAであるpoly I:C及びNK2R阻害剤をそれぞ

れ単独で局所投与することで、腫瘍の形成が有意に抑制されるとともに、併用投与により抗腫瘍効果が増強することを確認しました（図 3）。

また poly I:C を投与したマウスの腫瘍組織から単離した樹状細胞は IFN- $\alpha/\beta$  遺伝子の発現レベルに加えて、Tac1 遺伝子の発現レベルもコントロール群に比べて高値であることを見出しました。さらに腫瘍組織から単離したがん細胞における NK2R 及び Tac1 の遺伝子発現レベルも poly I:C の投与により増強することも確認しました。

### 【今後への期待】

本研究結果から、腫瘍微小環境で産生されるニューロキニン A と大腸がん細胞における NK2R の発現誘導により活性化される神経ペプチドシグナルは、担がん生体内での腫瘍形成や転移巣の形成など、大腸がんの悪性化に関与することが示唆されました。従って、NK2R を標的とした神経ペプチドシグナルの遮断により、大腸がんの悪性化が抑制できる可能性が考えられ、新たながん治療法の確立に繋がることが期待されます。

### 【謝辞】

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業（15K08416、16H05409、25460584）及び北海道大学遺伝子病制御研究所共同利用・共同研究拠点「細菌やウイルスの持続性感染により発生する感染症の先端的研究拠点」の成果として発表されました。

### 論文情報

論文名	IFN- $\alpha/\beta$ -mediated NK2R expression is related to the malignancy of colon cancer cells (IFN- $\alpha/\beta$ を介した NK2R の発現は大腸がん悪性化に関係する)
著者名	項 慧慧 <sup>1,2</sup> 、豊島雄二郎 <sup>1,2</sup> 、沈 輝棟 <sup>1</sup> 、王 向東 <sup>1</sup> 、岡田尚樹 <sup>1,2</sup> 、木井修平 <sup>1,2</sup> 、杉山 昂 <sup>1,2</sup> 、長門利純 <sup>3</sup> 、小林博也 <sup>3</sup> 、池尾一穂 <sup>4</sup> 、橋本真一 <sup>5</sup> 、谷野美智枝 <sup>3</sup> 、武富紹信 <sup>2</sup> 、北村秀光 <sup>1</sup> （ <sup>1</sup> 北海道大学遺伝子病制御研究所、 <sup>2</sup> 北海道大学大学院医学研究院、 <sup>3</sup> 旭川医科大学医学部、 <sup>4</sup> 国立遺伝学研究所、 <sup>5</sup> 和歌山県立医科大学先端医学研究所）
雑誌名	Cancer Science（腫瘍学の専門誌）
DOI	10.1111/cas.15397.
公表日	2022年5月13日（オンライン先行公開）

### お問い合わせ先

北海道大学遺伝子病制御研究所 准教授 北村秀光（きたむらひでみつ）

T E L 011-706-5520 F A X 011-706-5519 メール kitamura@igm.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.igm.hokudai.ac.jp/funimm/>

### 配信元

北海道大学社会共創部広報課（〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目）

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

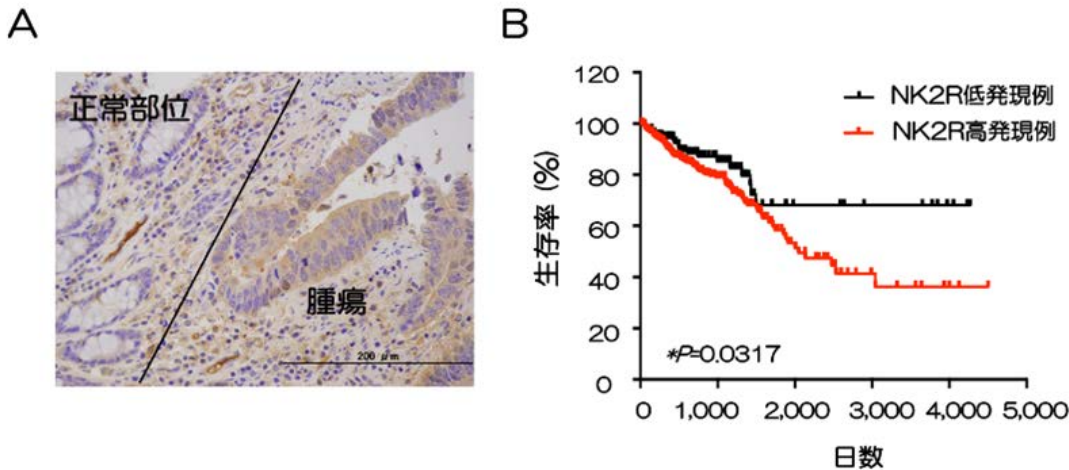


図 1. 大腸がん患者腫瘍組織のがん細胞において NK2R の発現が高い (A)。NK2R 遺伝子の発現の高い症例は、NK2R 遺伝子の低い症例に比べて予後が不良である (B)。

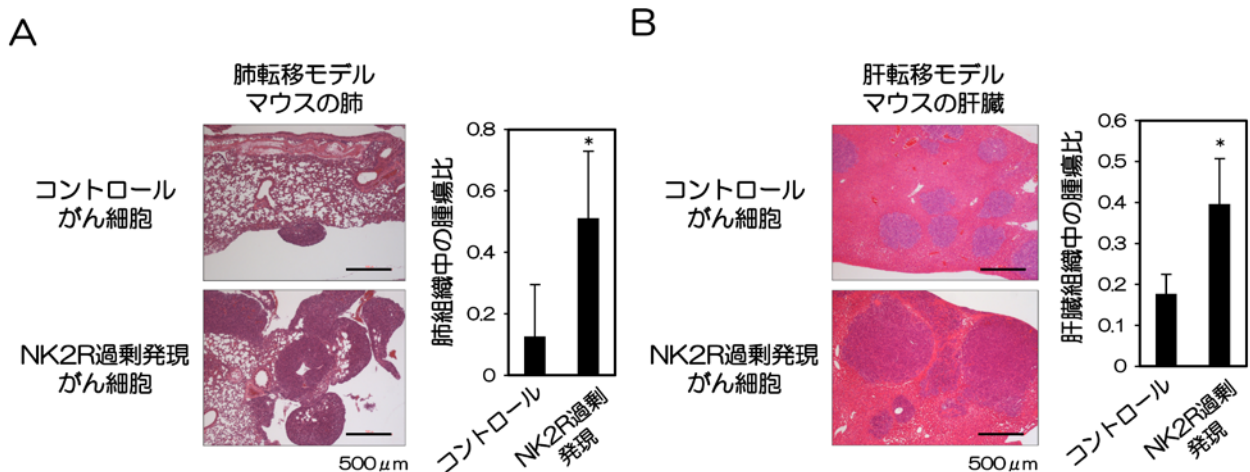


図 2. NK2R 遺伝子を過剰発現させたマウス大腸がん細胞は、コントロールがん細胞に比べ、肺転移モデルマウス(A)及び肝転移モデルマウスにおける転移巣の形成は高い。

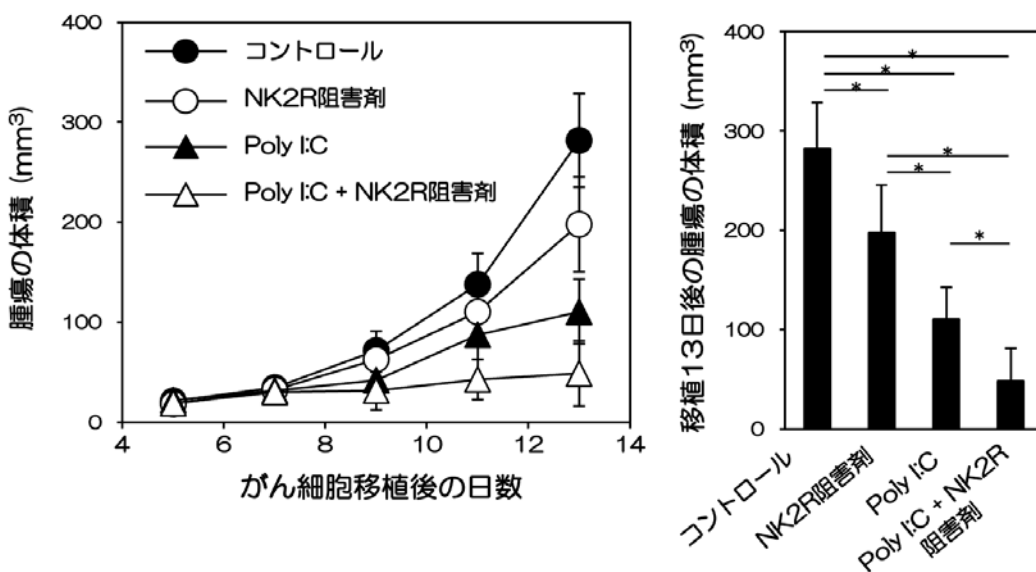


図 3. マウス担がん生体に対して免疫アジュバント (poly I:C) 及び NK2R 阻害剤を単独投与すると抗腫瘍効果が得られるが、併用投与するとその効果は増強する。

## 【用語解説】

- \*1 神経ペプチド … 一般には脳や神経細胞が刺激を受けると分泌されるペプチド。通常、神経末端から遊離される。副交感神経のVIP、知覚神経C線維のタキキニン類（サブスタンスP、ニューロキニン、カルシトニン遺伝子関連ペプチドなど）がある。
- \*2 ニューロキニンA … タキキニン類の一つ。刺激を受けると知覚神経末端から放出される。ニューロキニン受容体2（NK2R）を介して細胞機能を制御する。
- \*3 NK2R … 7回膜貫通型のGタンパク質共役受容体（GPCR）。ニューロキニンAを認識する生体センサーで、多様なシグナル伝達経路を活性化する。
- \*4 MAPK-ERK1/2 … 分裂促進因子活性化プロテインキナーゼ。下流のタンパク質をリン酸化することで、代謝、増殖、分裂、運動、アポトーシスなど、細胞の様々な機能に関与する。
- \*5 poly I:C … 合成二本鎖RNA。樹状細胞などのToll様受容体3（TLR3）に結合して、I型インターフェロン（IFN- $\alpha/\beta$ ）の産生を誘導する。自然免疫系を活性化することのできる免疫アジュバント。
- \*6 TCGA データセット … 米国がん研究所と米国ヒトゲノム研究所が各種がんについてゲノム変異や遺伝子発現変動など網羅的な解析を行なったデータ集。一般に公開され、世界中のがん研究に幅広く活用されている。
- \*7 wound-healing アッセイ … 様々な刺激、条件が細胞の遊走や増殖に及ぼす作用、効果を解析するための実験手法。培養細胞をスクラッチ（創傷）して間隙を形成させ、細胞が移動あるいは増殖してこの間隙を埋めようとする（治癒）過程、程度を評価する。
- \*8 ウェスタンブロッティング法 … 電気泳動で分離したタンパク質を膜に転写した後、目的のタンパク質と反応する抗体を利用して検出する手法。細胞内や培地中に分泌された目的のタンパク質がどの程度発現、存在しているかを解析することが可能。