

論 文 要 旨

Hepatocyte growth factor ameliorates mucosal injuries**leading to inhibition of colon cancer development in mice**

(肝細胞増殖因子 (HGF) は大腸粘膜傷害を改善してマウス大腸発癌を抑制する)

山 路 尚 久

【序論および目的】

炎症性腸疾患(IBD)は、若年者に発症する消化管に慢性的な炎症を繰り返す難治性の疾患で、その罹病者数は増加の一途をたどっている。肝細胞増殖因子(HGF)は劇症肝炎患者の血漿から単離された肝再生を強力に促進する増殖因子で、上皮細胞、血管内皮細胞および一部の間葉系細胞に対して、細胞増殖促進作用のみならず、細胞遊走、形態形成促進など多彩な作用を発揮する。傷害消化管粘膜の修復過程においても HGF は重要な役割を果たしており、このような生理作用から我々は IBD に対する組換えヒト HGF の臨床開発に取り組み、HGF が傷害腸管粘膜の再生・修復を促進することを報告した。一方、長期にわたって再燃、寛解を繰り返す IBD 患者では高率に大腸癌が発生するが、HGF の大腸発癌に及ぼす影響はこれまで明らかにされておらず、IBD に対する HGF の臨床応用においても極めて重要な課題である。このような背景から、大腸発癌および大腸炎関連発癌に及ぼす HGF の影響を明らかにすることを目的に本研究を行った。

【材料および方法】

1. 大腸発癌モデルの作製と HGF 投与

(1) 化学大腸発癌モデル

A/J マウスにアゾキシメタン (AOM: 5 mg/kg) を週 1 回、6 週間腹腔内投与した。AOM 投与開始日より、組換えヒト HGF (0.1, 0.5, 1.0 mg/kg/日) または vehicle (PBS) を隔日で 14 週間、腹腔内投与した。HGF 投与終了後に大腸を採取し、HE 染色標本で大腸腫瘍の数・発生率・多様性を検討した。

(2) 大腸炎関連発癌モデル

CBA/J マウスに AOM (12.5 mg/kg) を単回腹腔内投与し、1 週間後より 2.5% デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) の自由飲水を開始した。週 5 日間の DSS 飲水とその後 2 週間の休薬を 1 サイクルとして計 3 サイクル行った。各々の DSS 開始日より、組換えヒト HGF (0.1, 0.5, 1.0 mg/kg/日) または vehicle (PBS) を週 5 日、2 週間、腹腔内投与した。最終 DSS 飲水より 2 週間後に大腸を採取し、HE 染色標本で大腸腫瘍の数・発生率・多様性を検討した。

2. DSS 誘導腸炎の重症度を評価するために下記を検討した。

a) 体重および便性状 b) 臨床学的スコア (DAI) c) 組織学的スコア

3. 大腸粘膜上皮細胞の増殖を検討するために抗 Ki-67 モノクローナル抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。

【結果】

1. AOM 化学大腸発癌モデルに及ぼす HGF の影響

- (1) 大腸腫瘍数 (number) は HGF 投与群 (0.1, 0.5, 1.0 mg/kg) で有意に抑制された (各群共に $p=0.02$)。
- (2) 腫瘍の発生率 (incidence) および多様性 (multiplicity) は HGF 投与群で抑制され、HGF 1.0 mg/kg 群 ($p=0.04$) および 0.1 mg/kg 群 ($p=0.03$) において有意に抑制された。
- (3) 非腫瘍部粘膜における Ki-67 陽性率は、HGF 0.1 mg/kg 群 ($p=0.001$) および 1.0 mg/kg 群 ($p=0.002$) で有意に上昇した。

2. 大腸炎関連発癌モデルに及ぼす HGF の影響

- (1) HGF の反復投与は、用量依存性に DSS 誘導腸炎を改善した。HGF 1.0 mg/kg 群で、DSS 投与 7 日後の DAI ($p=0.02$) および組織学的スコア ($p=0.03$) が有意に改善した。また、HGF 0.5 mg/kg 群 ($p=0.045$) と 1.0 mg/kg 群 ($p=0.03$) では DSS 投与 14 日後の組織学的スコアが有意に改善した。
- (2) 大腸腫瘍数、発生率および多様性は HGF 投与によっていずれも用量依存性に抑制され、HGF 1.0 mg/kg 群では腫瘍数 ($p=0.01$) および多様性 ($p=0.02$) が有意に抑制された。
- (3) Ki-67 陽性率は、非腫瘍部粘膜に比して腫瘍部において有意に増加していたが ($p=0.03$)、HGF 群と vehicle 群の間には非腫瘍部および腫瘍部粘膜のいずれにも有意差を認めなかった。

【結論及び考察】

大腸炎を伴わない AOM 化学大腸発癌マウスでは、HGF 投与によって大腸上皮細胞の増殖が亢進したが、大腸発癌は有意に抑制された。HGF の特異的受容体 c-Met は消化管上皮細胞の basolateral membrane に発現しているが、発癌への関与については一定の見解が得られていない。本研究での HGF の大腸発癌抑制効果からは、HGF/Met を介したシグナルが必ずしも発癌促進に作用しないこと、発癌への関与が臓器や HGF・c-Met の発現レベルにより異なる可能性が考えられた。

一方、大腸炎関連発癌モデルでは複数回の AOM 投与による化学大腸発癌モデルに比して大腸発癌が亢進したが、本モデルに HGF を投与すると用量依存性に大腸炎が軽減し大腸発癌も抑制された。興味深いことに腫瘍部および非腫瘍部(正常粘膜)の細胞増殖には、HGF 投与、非投与群で差はみられなかった。これらの結果から持続あるいは反復する腸炎と発癌が密接に関連していること、上皮細胞の増殖促進とアポトーシス抑制によって傷害粘膜の再生・修復にあずかる HGF はむしろ大腸炎(粘膜傷害)を改善することで大腸炎関連発癌を抑制することが考えられた。

本研究では、HGF が化学大腸発癌モデルのみならず、大腸炎関連発癌モデルにおいても傷害粘膜再生・修復促進作用を介して大腸発癌を抑制することを明らかにした。IBD に対する治療法として、抗炎症・免疫抑制ではなく、傷害粘膜の再生・修復促進に主眼をおいた HGF による新規治療法の可能性が考えられた。