

【目的】 本研究は癌間質の転移進展機序を解明し新規治療法開発を目指すものである。我々は、これまでに独自の結腸癌原発組織由来の DNA および mRNA に対して *secreted protein acidic and rich in cysteine* (*SPARC*) の DNA メチル化および遺伝子発現定量を行い、臨床病理学的解析を行った。前者は癌細胞の、後者は癌間質細胞における *SPARC* 分子状況を反映していると考えられ、結腸癌の進展や予後に関係していたのは、癌の DNA 異常ではなく癌間質の発現異常であった。microdissection により癌細胞と間質細胞を分けて包括的遺伝子発現解析を行った結果、*SPARC* の間質発現は癌細胞の 17 倍であった。*SPARC* 発現は癌に面する fibroblast に限局していることが報告されているため、*SPARC* の癌転移への関与は、癌間質の cancer-associated fibroblast (CAF) における *SPARC* の下流変化が原因であると仮説を立てた。そこで、CAF 細胞 YS1 において *SPARC* ノックダウンを行い下流遺伝子の探索を行った。

【方法】 YS1 の *SPARC* ノックダウンを行い、マイクロアレイを用いて遺伝子発現変化を同定した。遺伝子変化は real time PCR で検証した。YS1 の *SPARC* ノックダウンを行い表現型の変化を調べた。線維芽細胞転移活性を反映する gel contraction assay を行い、また癌細胞への影響を見るために癌細胞との共培養による癌浸潤能と nude mouse の移植率を算定した。癌間質プロファイルの public database (GSE35602) 解析を行い、癌間質における *SPARC* と下流遺伝子の関係を検証した。さらに、包括的遺伝子探索を行い *SPARC* と関連する CAF marker 候補を同定した。CAF marker 候補遺伝子の予後解析 (GSE17538) を行い AUC で順位付けを行った。*SPARC* 下流で発現が誘導され、癌間質で *SPARC* との高い相関を示した *CSF1* に注目した。*CSF1*、*CSF1R* のノックダウンによる *SPARC* 誘導癌浸潤能変化を調べた。

【結果】 YS1 の *SPARC* ノックダウンを行い下流遺伝子として collagen family、補体 C1 family、IFN-stimulated gene (ISG)、HLA family を同定し、さらに癌間質において *SPARC* との相関が強い遺伝子 ($R=0.9$ or beyond) を絞った。Collagen family として、COL1A1、COL3A1、COL8A1、COL5A2、COL5A1 等が、C1 family として C1S、C1R が、ISG として IFIH1、IRF7 等が、HLA family として HLA-F 等が real time PCR で検証された。YS1 の *SPARC* ノックダウンにより gel contraction が有意に抑制され、*SPARC* は CAF 細胞の転移能活性化に関わる可能性が示唆された。癌細胞との共培養により *SPARC* は癌浸潤能亢進とヌードマウス生着率増加に関与していた。YS1 と癌細胞のクロストークを探るために、*SPARC* が標的とする secretion factors に注目した。cS/E 比が低く *SPARC* との関連が高い遺伝子を包括的に探索して *CSF1* を同定した。一方で、CAF marker 候補として、*SPARC* と関連が強く ($R=0.9$ or beyond)、cS/E ratio=10 or beyond の条件で発現の強い 115 個の遺伝子を同定した。すでに知られている CAF marker (FAP、VIM、ACTA2、PDGFRB) が含まれていた。CAF marker 候補遺伝子の発現が強かった 76 個の遺伝子について予後解析を行うと 63 個が有意 ($p<0.05$) な悪性予後因子であった。AUC で順位付けを行うと最も強い予後因子には COL family (COL8A1、COL5A2、COL5A1、COL6A3、COL11A1、COL12A1) が enrich された。YS1 と癌細胞の共培養において、YS1 および癌細胞をそれぞれ *CSF1*、*CSF1R* でノックダウンすると癌細胞の浸潤が抑制された。以上から、*SPARC* による癌浸潤に *CSF1*-*CSF1R* axis が関わっている可能性が示唆された (図)。

SPARC による癌転移機序モデル

