

## Activated macrophages promote invasion by early colorectal cancer via an IL-1 $\beta$ -SAA1 axis

Cancer Sci. 2021 Oct; 112(10): 4151-4165. doi: 10.1111/cas.15080

Sudo G, Aoki H, Yamamoto E, Takasawa A, Niinuma T, Yoshido A, Kitajima H, Yoroazu A, Kubo T, Harada T, Ishiguro K, Kai M, Katanuma A, Yamano HO, Osanai M, Nakase H, Suzuki H.

**要旨** 本研究は、低分化成分に着目して早期大腸がんの分子解析を行った。T1 大腸がんの臨床検体を用いた RNA-seq を行い、低分化成分での serum amyloid A1 (SAA1) の高発現を同定した。大腸がん細胞を用いた機能解析、マクロファージとの共培養実験、臨床検体の免疫染色解析の結果、T1 大腸がんの浸潤先進部では、マクロファージとがん細胞が IL-1 $\beta$  と SAA1 を介して相互作用することで浸潤を促進すると考えられ、SAA1 が早期大腸がんの治療層別化マーカーおよび治療標的となる可能性が示唆された。

### 1. 背景

近年、早期大腸がんの多くは低侵襲な内視鏡治療で一括切除が可能となった。早期大腸がんの中でも粘膜下層浸潤がん (T1 大腸がん) は約 10% にリンパ節転移を伴うため、内視鏡治療後の病理結果に基づいてリンパ節郭清を伴う追加外科切除を検討するが、より正確な層別化マーカーの開発が望まれている。

近年の大規模なトランスクリプトーム解析の結果、大腸がんはいくつかの分子サブタイプに分類され、臨床的な予後と相関することが明らかとなった。しかし、これらの解析の多くは進行がんを対象としており、既に多数の染色体異常や遺伝子変異が蓄積していることから、早期がんの浸潤に関与する分子異常を同定することは困難であった。

今回我々は、低分化成分 (POR) に着目して早期大腸がんの分子解析を行い、新たな治療層別化マーカーや、浸潤・転移を予防する治療標的を同定することを目的とした。

### 2. 結果

T1 大腸がんの臨床検体から POR と正常成分をレーザーキャプチャーマイクロダイゼクションで分離し、RNA シークエンス法 (RNA-seq) によるトランスクリプトーム解析を行った (図 A)。RNA-seq により、POR における Serum amyloid A1 (SAA1) の有意な発現上昇が明らかとなった。次に、早期大腸がんの臨床検体 97 例における SAA1 の発現と臨床病理学的特徴を検討した。免疫組織染色により、T1 大腸がんの浸潤先進部の POR で SAA1 が特異的に高発現していることが確認された。

次に大腸がん細胞を用いて、SAA1 のノックダウンあるいは過剰発現を行い、細胞増殖・遊走・浸潤に与える影響を解析した。大腸がん細胞における SAA1 のノックダウンは、増殖に影響を与えなかったが、遊走・浸潤を抑制した。逆に SAA1 の過剰発現は、大

腸がん細胞の遊走・浸潤を促進した (図 B)。

SAA1 発現を誘導するサイトカインとしてインターロイキン 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) が知られているが、我々はリコンビナント IL-1 $\beta$  が大腸がん細胞の SAA1 発現を誘導し、遊走・浸潤を促進すること、IL-1 $\beta$  による遊走・浸潤促進が SAA1 ノックダウンによって阻害されることを明らかにした。次に、IL-1 $\beta$  はがん微小環境の間質細胞に由来すると仮説を立て、マクロファージに着目した。大腸がん細胞とマクロファージの共培養実験により、マクロファージが産生する IL-1 $\beta$  が、大腸がん細胞の SAA1 発現を誘導することが示された。

マクロファージによる大腸がん細胞の遊走・浸潤の促進は、SAA1 のノックダウンや、IL-1 $\beta$  に対する中和抗体によって抑制された。さらに、T1 大腸がんの臨床検体を用いた免疫組織染色解析から、SAA1 陽性の浸潤先進部における M1/M2 マクロファージの集積が確認された。また大腸がん細胞が産生する SAA1 は、マクロファージの MMP-9 の発現を促進し、臨床検体の免疫染色で SAA1 陽性の浸潤先進部ではマクロファージによる MMP-9 発現が確認された (図 C)。これらの結果から、T1 大腸がんの浸潤先進部では、マクロファージと大腸がん細胞が、IL-1 $\beta$  と SAA1 を介して相互作用することにより、浸潤が促進されると考えられた (図 D)。

### 3. 考察

IL-1 $\beta$  は大腸の炎症、発がん、浸潤に関連することが知られている。IL-1 $\beta$  による大腸がんの浸潤促進は、ZEB1 の発現上昇や間質の COX-2 シグナルの活性化など、複数の機序を介することが報告されている。加えて本研究の結果は、IL-1 $\beta$  が SAA1 を介して大腸がん細胞の遊走、浸潤を促進することを明らかにした。

SAA1 は肝細胞で産生される炎症マーカーとして有名だが、がんとの関わりも明らかにされつつある。が

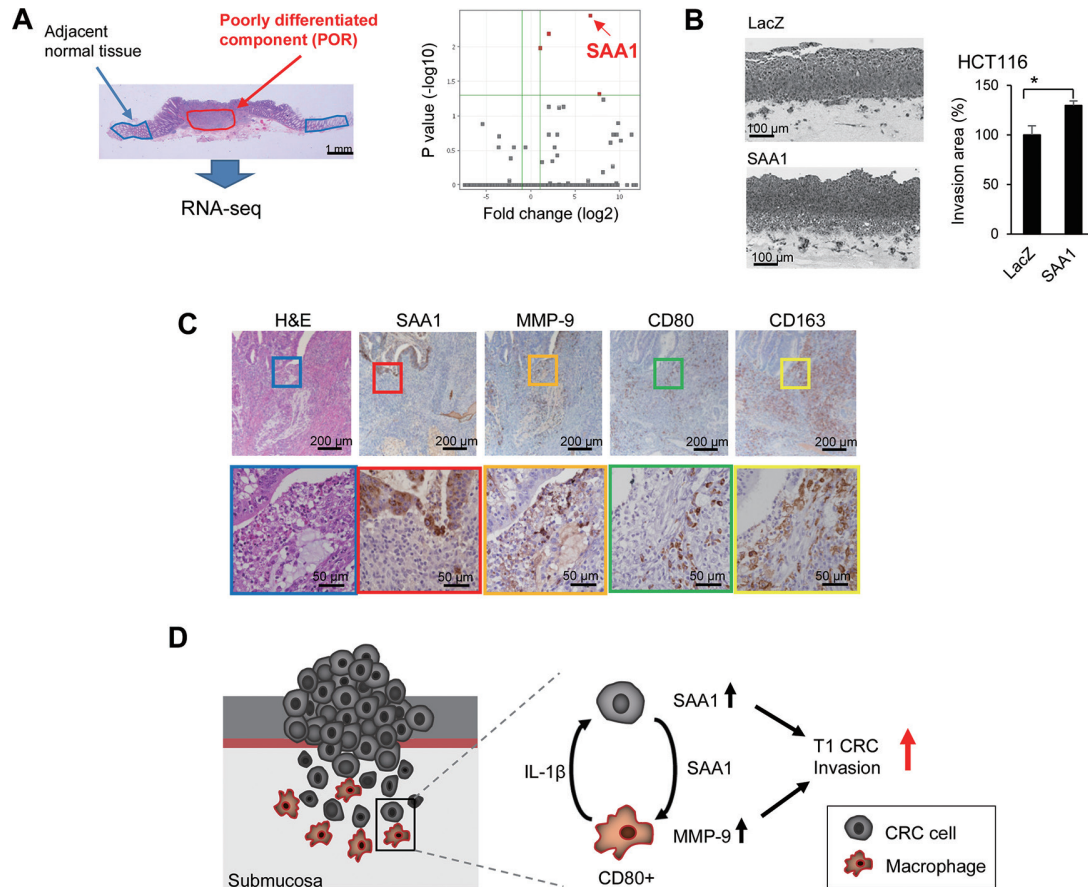


図 A. T1 大腸がんの低分化成分で高発現している遺伝子の同定  
 B. SAA1 過剰発現による浸潤促進 (コラーゲンゲル実験)  
 C. T1 大腸がん浸潤先進部の SAA1 高発現領域におけるマクロファージの集簇と MMP9 発現  
 D. IL-1 $\beta$ -SAA1 axis による T1 大腸がん浸潤促進の仮説

んにおける SAA1 の機能は長年不明であったが、近年、マウスがん細胞において SAA1 が NF- $\kappa$ B シグナルによって誘導され、浸潤・転移を促進することや、肺がんモデルマウスで SAA1 が転移を促進すること、SAA1 がトリプルネガティブ乳癌の進行度や死亡率と相関することが報告されている<sup>1, 2)</sup>。更に本研究の結果から、浸潤先進部における SAA1 の高発現が早期大腸がんの浸潤に関与することが強く示唆された。

がん微小環境において、腫瘍関連マクロファージ (TAM) は IL-1 $\beta$  の重要な供給源である。マクロファージは、classically activated (M1) タイプと alternatively activated (M2) タイプに分類されることが知られている。多くの研究で TAM は M2 マクロファージに類似すると報告されているが、近年では腫瘍の進展に伴い M1 から M2 へ変化するとも考えられている。最近、大腸がん細胞由来の conditioned medium で THP-1 細胞を分化させると、M1 マクロファージと M2 マクロファージが混在した集団に分化することが報告された<sup>3)</sup>。本研究では、早期大腸がんの浸潤先進部において M1 マクロファージが腫瘍促進的に機能している可能性が示唆された。

本研究から、早期大腸がん浸潤先進部において、腫瘍関連マクロファージとがん細胞が IL-1 $\beta$ -SAA1 axis を介して相互作用し、浸潤を促進することが示

された。SAA1 は、早期大腸がんの治療層別化マーカーおよび浸潤・転移を予防する治療標的となる可能性が示唆された。

#### 参考文献

1. Hansen MT, Forst B, Cremers N, Quagliata L, Ambartsumian N, Grum-Schwensen B, Klingelhöfer J, Abdul-Al A, Herrmann P, Osterland M, Stein U, Nielsen GH, Scherer PE, Lukanidin E, Sleeman JP, Grigorian M. A link between inflammation and metastasis: serum amyloid A1 and A3 induce metastasis, and are targets of metastasis-inducing S100A4. *Oncogene* 2015; 34: 424-435.
2. Zhang Y, Wei Y, Jiang B, Chen L, Bai H, Zhu X, Li X, Zhang H, Yang Q, Ma J, Xu Y, Ben J, Christiani DC, Chen Q. Scavenger Receptor A1 Prevents Metastasis of Non-Small Cell Lung Cancer via Suppression of Macrophage Serum Amyloid A1. *Cancer Res* 2017; 77: 1586-1598.
3. Pinto ML, Rios E, Durães C, Ribeiro R, Machado JC, Mantovani A, Barbosa MA, Carneiro F, Oliveira MJ. The Two Faces of Tumor-Associated Macrophages and Their Clinical Significance in Colorectal Cancer. *Front Immunol* 2019; 10: 1875. doi: 10.3389/fimmu.2019.01875

須藤 豪太

略歴

2010 年 札幌医科大学医学部 卒業  
 2022 年 札幌医科大学大学院 修了  
 2022 年～ 札幌医科大学医学部 訪問研究員