

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：32666

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K19913

研究課題名(和文) ESRP1を用いた膵癌の治療法開発

研究課題名(英文) Development of treatment method for pancreatic cancer using ESRP1

研究代表者

上田 純志 (Ueda, Junji)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：40544391

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌の免疫染色にてESRP1は膵癌細胞の核に発現を認め、高から中分化型腺癌に強い発現を認めた。一方、低分化腺癌ではその発現が減弱していた。FGFR-2 IIIbもESRP1と同様の発現形式を示し、FGFR-2 IIIcは逆の傾向を示した。ESRP1高発現群では、低発現群とくらべ、有意に全生存期間の延長を認めた。しかし、臨床病理学的因子との検討では有意差は見問えなかった。質量分析では、ESRP1過剰発現細胞において vimentin, 14-3-3 protein epsilon, IQGAP1の発現抑制, perilipin 3, filamin alphaの発現亢進がみとめられた。

研究成果の概要(英文)：ESRP1 immunoreactivity was strong in the nuclei of cancer cells in well-to-moderately differentiated PDACs but weak in poorly differentiated cancers. Well-to-moderately differentiated cancers also exhibited high FGFR-2 IIIb and low FGFR-2 IIIc expression, whereas this ratio was reversed in the poorly differentiated cancers. Increased ESRP1 expression was associated with longer survival in comparison with low ESRP1 expression, and PANC-1 cells engineered to express ESRP1 exhibited increased FGFR-2 IIIb expression and decreased migration and invasion in vitro, whereas ESRP1 siRNA-transfected KLM-1 cells exhibited increased FGFR-2 IIIc expression and increased cell growth, migration and invasion. In vivo, ESRP1-overexpressing clones formed significantly fewer liver metastases as compared with control clones. ESRP1 regulates the expression pattern of FGFR-2 isoforms, attenuates cell growth, migration, invasion and metastasis, and is a favorable prognostic factor in PDAC.

研究分野：肝胆膵外科

キーワード：ESRP1 膵癌 EMT 胆道癌 肝臓癌 FGFR2

1. 研究開始当初の背景

膵癌は極めて予後不良の悪性腫瘍であり、5年生存率は5%程度である。その理由として、早期から局所浸潤や遠隔転移をきたすため、根治手術が困難な例が多いこと、再発に対して有効な治療法がほとんど無いことなどが挙げられる。このため、膵癌の浸潤や転移を制御する治療法の開発が待ち望まれている。一方、上皮間葉転換 Epithelial-mesenchymal transition (EMT) は、癌の浸潤、転移において中心的な役割を担っており、EMTの制御機構の解明に注目が集まっている。近年、Epithelial splicing regulatory protein1 (ESRP1)が様々な EMT に関わる分子群のスパライシングを調節し、細胞を上皮系へ誘導することが報告された。これまでに我々は膵癌細胞の ESRP1 の発現を抑制することで増殖能、浸潤能、遊走能が亢進することを証明した。ESRP1 制御によって膵癌の EMT を阻止できると考えられ、膵癌の新規治療法に結び付く可能性がある

2. 研究の目的

上述の如く、膵癌の新たな治療方法の開発が望まれている。また EMT は、癌の浸潤、転移において中心的な役割を担っており、EMTの制御機構が癌治療に重要な役割を果たすと考える。近年の研究で、EMTにかかわる選択的スパライシングを調節する分子の一つとして、Epithelial splicing regulatory protein1 (ESRP1)が報告された (Warzecha, et al. RNA Biol, 2009)。ESRP1 は、FGFR-2, CD44, ENAH, CTNND1 における上皮系アイソフォームの発現も調節しており、それによって様々な EMT に関わる分子群のスパライシングを調節し、細胞を上皮系へ誘導することが報告された (Warzecha, et al. EMBO J, 2010)。また、ESRP1 はさまざま悪性腫瘍において EMT を介し浸潤や転移に深くかかわると報告されている (Ishii, et al. J Biol Chem. 2014)。我々は膵癌においても同様に浸潤や転移に関与すると予測し ESRP1 を制御することで膵癌の新たな治療法が開発できると考えた。これまで我々は、膵癌における ESRP1 の発現と役割について様々な研究を行ってきた。酵素抗体法を用いた膵癌における ESRP1 の発現の検討では膵癌の内でも高分化な部分(上皮細胞様組織)は ESRP1 が核内に高発現しているのに対し、低分化な部分(間葉系細胞様組織)では ESRP1 発現低下が見られることが分かった (Ueda, et al. Oncogene, 2014)。

3. 研究の方法

研究方法は日本医科大学付属病院消化器外科の膵癌手術症例から得られた膵癌細胞をもちいて実験を行う。また、膵癌患者の血液を用いて実験を行う。当院の倫理委員会に申請し承認済みである。臨床症例から得たヒト膵癌細胞および血液における ESRP1 の発現量を PCR および Western blot 法を用いて確認する。また、得られた細胞を培養し、新

たな細胞株を樹立し ESRP1 の発現をコントロールし細胞の機能を評価する。次に、ESRP1 発現を抑制した場合と、逆に過剰に発現させた際の細胞内の変化について DNA microarray を用いて網羅的に解析し、ESRP1 によって発現が変化する分子群について解明する。さらに免疫沈降や RNA Binding Assay を施行し ESRP1 が変化する分子群に直接結合して作用していることを証明する。これにより、ESRP1 と相互的に働く分子や、競合的に働く分子、ESRP1 を制御する分子の発見を目指す。免疫抑制マウスに膵癌細胞を植え込み、膵癌マウスを作製し ESRP1 を尾静脈あるいは腹腔内に投与し膵癌の増殖の抑制あるいは転移、浸潤の抑制効果を証明する。さらに血液中の ESRP1 を測定し、臨床病理学的因子との関連を検討し、予後予測因子や、腫瘍マーカーとして利用可能かどうかを検討する。

4. 研究成果

ESRP1 は膵癌細胞の核に発現を認め、高から中分化型腺癌に強い発現を認めた。一方、低分化腺癌ではその発現が減弱していた。FGFR-2 IIIb も ESRP1 と同様の発現形式を示し、FGFR-2 IIIc は逆の傾向を示した。ESRP1 高発現群では、低発現群とくらべ、有意に全生存期間の延長を認めた。また、ESRP1 過剰発現膵癌細胞では、FGFR-2 IIIb の発現が亢進し、遊走能、浸潤能の低下を認めた。逆に、ESRP1 発現抑制膵癌細胞では、FGFR-2 IIIc の発現が亢進し、増殖能、遊走能、浸潤能の亢進を認めた。質量分析では、ESRP1 過剰発現細胞において vimentin, 14-3-3 protein epsilon, IQGAP1 の発現抑制, perilipin 3, filamin alpha の発現亢進がみとめられた。NOG マウスを用いた異種移植モデルでは ESRP1 過剰発現細胞群において有意に肝転移、肺転移の抑制を認めた。

結語：ESRP1 は、膵癌における FGFR-2 のスパライシングを制御し、予後や分化、増殖、浸潤において重要な役割を果たし転移を抑制することで予後良好な因子となると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計5件)

1. Ueda J, Yoshida H, Makino H, Maruyama H, Yokoyama T, Hirakata A, Takata H, Seki N, Kikuchi Y, Uchida E. A case of sigmoid colon adenocarcinoma diagnosed as facial cutaneous metastasis for survival after operation for 37 months. Clin J Gastroenterol. 2017. doi:

- 10.1007/s12328-017-0767-7.
2. Takata H, Kudo M, Yamamoto T, Ueda J, Ishino K, Peng WX, Wada R, Taniai N, Yoshida H, Uchida E, Naito Z. Increased expression of PDIA3 and its association with cancer cell proliferation and poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Oncol Lett.* 2016 Dec;12(6):4896-4904.
 3. Kawano Y, Murata S, Taniai N, Yoshioka M, Hirakata A, Mizuguchi Y, Shimizu T, Kanda T, Ueda J, Takada H, Yoshida H, Akimaru K, Onozawa S, Kumita S, Uchida E. Interventional Treatment of Severe Portal Vein Thrombosis after Living-Donor Liver Transplantation. *J Nippon Med Sch.* 2016;83(5):206-210.
 4. Takata H, Matsutani T, Hagiwara N, Ueda J, Arai H, Yokoyama Y, Nomura T, Uchida E. Assessment of the incidence of chronic pain and discomfort after primary inguinal hernia repair. *J Surg Res.* 2016 Dec;206(2):391-397. doi: 10.1016/j.jss.2016.08.027. Epub 2016 Aug 11.
 5. Hagiwara N, Matsutani T, Nomura T, Fujita I, Kanazawa Y, Ueda J, Arai H, Kakinuma D, Kanno H, Naito Z, Uchida E. Pancreatic Metastasis from Gastrointestinal Stromal Tumor of the Stomach: A Case Report. *J Nippon Med Sch.* 2016;83(3):133-8.

〔学会発表〕(計 14 件)

1. 総胆管結石症に対する腹腔鏡下胆管十二指腸吻合術の適応と手術手技
Author : 上田 純志(日本医科大学多摩永山病院), 吉田 寛, 牧野 浩司, 横山 正, 丸山 弘, 平方 敦史, 高田 英志, 菊池 友太, 上田 康二, 吉岡 将史, 日下部 誠, 浅見 敬一, 入江 利幸, 内田 英二
Source : 日本内視鏡外科学会雑誌 (1344-6703)22 巻 7 号 Page

SF091-03(2017.12)

2. 胆道再建を伴う肝切除における肝管空腸吻合と SSI
Author : 上田 純志(日本医科大学多摩永山病院 外科), 吉田 寛, 牧野 浩司, 丸山 弘, 横山 正, 平方 敦史, 高田 英志, 菊池 友太, 関 奈紀, 上田 康二, 吉岡 将史, 宮下 哲平, 日下部 誠, 浅見 敬一, 内田 英二
Source : 日本外科感染症学会雑誌 (1349-5755)14 巻 5 号 Page582(2017.10)
3. 膵頭十二指腸切除術における術前胆道ドレナージ法の検討
Author : 上田 純志(日本医科大学多摩永山病院 消化器外科・乳腺外科・一般外科), 吉田 寛, 牧野 浩司, 横山 正, 平方 敦史, 高田 英志, 関 奈紀, 菊池 友太, 的場 秀亮, 内田 英二
Source : 日本消化器外科学会総会 72 回 Page RS3-145-13-4(2017.07)
4. 胆道再建を伴う肝切除における SSI
Author : 上田 純志(日本医科大学多摩永山病院 外科), 吉田 寛, 牧野 浩司, 横山 正, 丸山 弘, 平方 敦史, 高田 英志, 関 奈紀, 菊池 友太, 的場 秀亮, 内田 英二
Source : 日本外科学会定期学術集会抄録集 117 回 Page PS-042-3(2017.04)
5. 胆道再建を伴う肝切除における SSI の検討
Author : 上田 純志(日本医科大学多摩永山病院), 吉田 寛, 丸山 弘, 牧野 浩司, 横山 正, 平方 敦史, 高田 英志, 関 奈紀, 菊池 友太, 的場 秀亮, 上田 康二, 吉岡 将文, 宮下 哲平, 浅見 敬一, 内田 英二
Source : 日本外科感染症学会雑誌 (1349-5755)13 巻 5 号 Page561(2016.10)
6. 総胆管結石症に対する総胆管切開採石術と胆管十二指腸吻合術の検討
Author : 上田 純志(日本医科大学多摩永山病院 外科), 吉田 寛, 牧野 浩司, 横山 正, 丸山 弘, 平方 敦史, 赤城 一郎, 関 奈津紀, 若林 秀幸, 篠塚 恵理子, 上田 康二, 宮下 哲平, 宮坂 俊光, 吉岡 将史, 浅見 敬一, 内田 英二
Source : 日本外科学会定期学術集会抄録集 116 回 Page PS-184-6(2016.04)
7. 肝切除時の Pringle 法における肝十二指腸間膜用手マッサージ法の有用性の検討
Author : 上田 純志(日本医科大学多摩永山病

院 外科), 吉田 寛, 牧野 浩司, 横山 正, 真々田 裕宏, 谷合 信彦, 吉岡 正人, 平方 敦史, 川野 陽一, 水口 義明, 清水 哲也, 神田 知洋, 高田 英志, 近藤 亮太, 青木 悠人, 内田 英二

Source : 日本肝胆膵外科学会・学術集会プログラム・抄録集 28 回 Page572(2016.06)

8. 肝細胞癌における AFP-L3 分画と臨床病理学的因子および予後との関連

Author : 上田 純志(日本医科大学多摩永山病院 消化器外科・乳腺外科・一般外科), 吉田 寛, 真々田 裕宏, 谷合 信彦, 吉岡 正人, 平方 敦史, 水口 義明, 神田 知洋, 高田 英志, 内田 英二

Source : 日本消化器外科学会総会 70 回 Page P-79-8(2015.07)

9. 腹部救急疾患に対する内視鏡下手術 肝胆膵 総胆管結石症に対する腹腔鏡手術の検討

Author : 上田 純志(日本医科大学多摩永山病院), 吉田 寛, 牧野 浩司, 横山 正, 丸山 弘, 平方 敦史, 赤城 一郎, 関 奈津紀, 若林 秀幸, 篠塚 恵理子, 上田 康二, 宮下 哲平, 宮坂 俊光, 吉岡 将文, 浅見 敬一, 内田 英二

Source : 日本腹部救急医学会雑誌 (1340-2242)36 巻 2 号 Page365(2016.02)

10. 肝細胞癌に対する肝切除におけるドレーン養の有用性の検討

Author : 上田 純志(日本医科大学多摩永山病院 外科), 吉田 弘, 丸山 正, 牧野 浩司, 横山 正, 平方 敦史, 赤城 一郎, 関 奈津紀, 若林 秀幸, 篠塚 恵理子, 上田 康二, 宮下 哲平, 宮坂 俊光, 吉岡 将史, 内田 英二

Source : 日本外科感染症学会雑誌 (1349-5755)12 巻 5 号 Page573(2015.11)

11. 教育機関としての亜全胃温存膵頭十二指腸切除術の工夫と成績

Author : 上田 純志(日本医科大学多摩永山病院 外科), 横山 正, 吉田 寛, 牧野 浩司, 丸山 弘, 平方 敦史, 赤城 一郎, 関 奈津紀, 若林 秀幸, 篠塚 恵理子, 上田 康二, 宮下 哲平, 宮坂 俊光, 吉岡 将史, 内田 英二

Source : 日本臨床外科学会雑誌 (1345-2843)76 巻増刊 Page559(2015.10)

12. 胆嚢癌と鑑別が困難であった黄色肉芽腫性胆嚢炎の検討

Author : 上田 純志(日本医科大学多摩永山病院), 吉田 寛, 真々田 裕宏, 谷合 信彦, 牧野 浩司, 横山 正, 丸山 弘, 吉岡 正人, 平方 敦史, 水口 義明, 清水 哲也, 神田

知洋, 高田 英志, 近藤 亮太, 内田 英二
Source : 胆道 (0914-0077)29 巻 3 号 Page603(2015.08)

13. 肝切除における肝血流遮断解除後の肝十二指腸間膜用手マッサージ法の有用性

Author : 上田 純志(日本医科大学多摩永山病院 外科), 吉田 寛, 真々田 裕宏, 谷合 信彦, 横山 正, 吉岡 正人, 平方 敦史, 川野 陽一, 水口 義昭, 清水 哲也, 神田 知洋, 高田 英志, 近藤 亮太, 内田 英二

Source : 日本肝胆膵外科学会・学術集会プログラム・抄録集 27 回 Page593(2015.06)

14. どうしたら周術期感染症をなくせるか 肝細胞癌に対する肝切除におけるドレーン留置の有用性 外科感染症の立場から

Author : 上田 純志(日本医科大学多摩永山病院), 吉田 寛, 牧野 浩司, 丸山 弘, 横山 正, 平方 敦史, 赤城 一郎, 関 奈津紀, 若林 秀幸, 近藤 亮太, 篠塚 恵理子, 上田 康二, 宮下 哲平, 宮坂 俊光, 内田 英二

Source : 日本外科系連合学会誌 (0385-7883)40 巻 3 号 Page474(2015.05)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上田 純志 (UEDA Junji)
日本医科大学・医学部・助教
研究者番号 : 40544391