

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08686

研究課題名(和文) 肝様腺癌の病態解明と新規抗体による治療戦略の開発

研究課題名(英文) New strategy for the analysis of characteristics and treatment of hepatoid adenocarcinoma

研究代表者

高橋 伸育 (Nobuyasu, Takahashi)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：20404436

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：当研究室で樹立した十二指腸乳頭部から発生した肝様腺癌細胞株(VAT-39)と同様に肝様腺癌由来で血清AFPを産生する細胞株FU97とGCIYを入手しRNAの抽出を行った。当研究室では細胞株をコラーゲンゲル内で三次元培養するという実験を試みており、すでに膵癌の細胞株では三次元培養を確立し、顕微鏡的解析を行っている。この方法を肝様腺癌細胞株に応用し、三次元培養を行った。今後はこれらの細胞株に対して肝細胞癌に発現する蛋白であるGPC3をRNAiの手法を用いて発現を低下させ、コントロールと比較して三次元的な発育が制御されるのかどうかを検証する予定である

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、当研究室で樹立された肝様腺癌細胞株を用いて遊走、浸潤に関わる因子を同定し、有効な治療戦略を確立することを目標とした。そこで、当研究室で樹立した細胞株であるVAT-39と、同様に肝様腺癌細胞株であるFU97とGCIYを入手し三次元培養を行った。この過程で、コラーゲンゲルの厚みやゲル内に添加する物質、培地の量、気相・液相界面法の有効性に関する検討を行い、細胞株FU97とGCIYに適した培養条件を確立した。また高転移株の作成を目標とした培養系を樹立することができた。

研究成果の概要(英文)：We established a cell line, VAT-39, derived from hepatoid adenocarcinoma of ampulla of Vater. Additionally, we purchased the AFP-producing cell lines, FU97 and GCIY, and extracted RNA. We had been attempting to culture cell lines in the collagen gel, and established the method and analysed the characteristic using pancreas cancer cell line. We have applied this method to the culture of hepatoid adenocarcinoma cell lines. GPC3 is a protein frequently expressed in the hepatocellular carcinoma. We are trying to assess the effect of GPC3 by down-regulation using RNAi method on three-dimensional culture.

研究分野：細胞培養、超微形態解析

キーワード：肝様腺癌 三次元培養

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

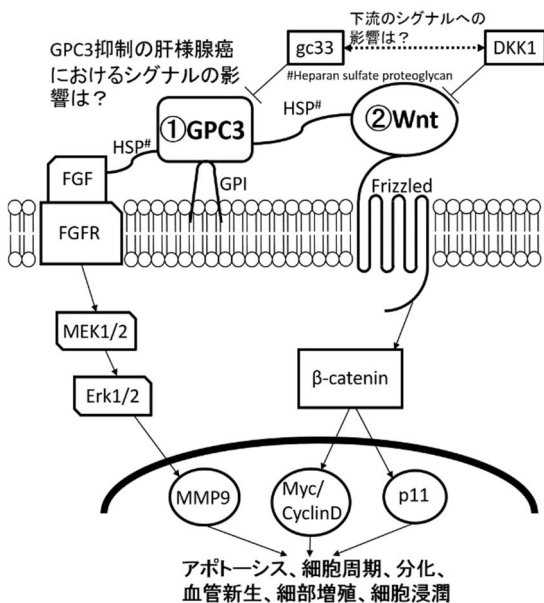
1. 研究開始当初の背景

本研究の対象となる肝様腺癌は、胃癌の組織型の中で特徴的な臨床経過を来すもので、肝臓以外の臓器で発症し、かつ癌胎児蛋白として知られる血清 - フェトプロテイン (AFP) の濃度上昇を伴う疾患と定義される。肝様腺癌の発生頻度は数%と報告されているが、本邦における胃癌の高い発生頻度と、胃以外の消化管や肺などに由来する癌などでもその発生が多数報告されてきており、もはや希な腫瘍ではない。肝様腺癌の悪性形質については、まだ不明な点が多い。

Glypican-3 (GPC3) は細胞膜上に発現する蛋白で、肝細胞癌に発現することが報告され、AFPと同様の肝細胞癌マーカーとしての有用性が期待されている。肝様腺癌でも肝細胞癌と同様に GPC3 を発現することが報告されているため、この抗体を用いた肝様腺癌に対する治療効果が期待される。

2. 研究の目的

胃癌の特殊型である肝様腺癌は血清 AFP の上昇を伴い、通常の胃癌と比較して高率に肝転移を起こし、薬剤への抵抗性を示す予後不良の疾患である。研究代表者は十二指腸乳頭部を由来とする新規肝様腺癌細胞株の樹立に成功しており、これを用いて浸潤、転移に関わる因子(下図参照)を同定し、有効な治療戦略を確立することが本研究の目的である。



3. 研究の方法

- (1) 肝様腺癌細胞株の三次元培養：顕微鏡、電顕的解析、コラーゲンゲルを用いた三次元培養による周囲微少環境との相互作用の評価
- (2) 肝様腺癌細胞株の超微形態解析：高圧凍結装置を用いて固定した細胞の細胞内小器官、膜形態の評価
- (3) 肝様腺癌細胞株における AFP、GPC3 の生物学的特性の解明：shRNA、siRNA を用いた抑制株の作製による関連遺伝子の探索、癌幹細胞的特性の評価

4. 研究成果

本研究は、当研究室で樹立された肝様腺癌細胞株を用いて遊走、浸潤に関わる因子を同定し、有効な治療戦略を確立することを目標とした。そこで、当研究室で樹立した細胞株である VAT-

39 と、同様に肝様腺癌細胞株である FU97 と GC1Y を入手し三次元培養を行った。この過程で、コラーゲンゲルの厚みやゲル内に添加する物質、培地の量、気相 液相界面法の有効性に関する検討を行い、細胞株 FU97 と GC1Y に適した培養条件を確立した。また肝様腺癌は肝転移を高率に起こす疾患として知られており、それが予後不良につながっていることが判明している。我々は三次元培養を行っているときに細胞塊の周囲が平滑でない細胞塊があることに気づき、これが基底膜を破壊して周囲へ浸潤していく性質と類似していると考えた。そこでこの性質を持つ細胞塊のみをサブクロニングすることで、高転移株の作成を目標とした培養系を樹立することができた。AFP、GPC3 の抑制株作製は期待していた抑制効果が得られず、検討を重ねている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takahashi N, Aoyama F, Sawaguchi A.	4. 巻 70(2)
2. 論文標題 Three-dimensional culture of a pancreatic cancer cell line, SUIT-58, with air exposure can reflect the intrinsic features of the original tumor through electron microscopy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microscopy (Oxf)	6. 最初と最後の頁 192,200
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jmicro/dfaa046.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	豊嶋 典世 (青山典世) (Aoyama Fumiyo) (10468035)	宮崎大学・医学部・講師 (17601)	
研究分担者	澤口 朗 (Akira Sawaguchi) (30336292)	宮崎大学・医学部・教授 (17601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------