

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19790265

研究課題名 (和文) がん細胞の分化異常を規定する分子基盤の追求

研究課題名 (英文) Molecular Basis of Disordered Differentiation of Cancer Cells

研究代表者

奥寺康司 (OKUDELA KOJI)

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号：1326027

研究成果の概要：

本研究の目的は、がん細胞に共通にみいだされる特徴である分化異常の誘導機構を明確にすることであった。申請者は、がん遺伝 **KRAS** が、上皮細胞に造血系・神経系の分化形質を誘導することをみいだし、その下流に位置する転写制御因子群に着目し、これらの分化異常への関与について検討した。候補とした分子のうち **EGR1** は細胞の扁平化、突起物の伸長を誘導した。**HDAC9** は核内封入体の形成を誘導した。**ARID3B** はアポトーシスを誘導した。何れの分子も細胞増殖に抑制的に作用した。しかしながら、これらの単独では **KRAS** が引き起こしたような造血系・神経系細胞の分化形質を誘導に至らなかった。これらの結果から、特に **EGR1** はがん細胞の部分的に、特に形態学的な分化形質異常に関わる一分子基盤である可能性が考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,000,000	0	2,000,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	390,000	3,690,000

研究分野：人体病理学

科研費の分科・細目：医歯薬・人体病理

キーワード：がん細胞、分化異状、KRAS、網羅的発現解析

1. 研究開始当初の背景

申請者はこれまでの研究から、がん遺伝子（活性変異型 KRAS）が、ヒト肺上皮細胞に著しい形態変化と走化性の亢進を誘導することを報告した。活性型 KRAS 導入による肺上皮細胞の形態学的変化は、細胞質の拡大、多数の突起物の出現（仮足の進展）、細胞間結合の不安定化であり、いわゆる上皮間葉移行像に相当するものであった（図1）。一方、マイクロアレイを用いた網羅的発現解析から、活性型 KRAS が肺上皮細胞の遺伝子発現状態を著しく変動させること、変動した遺伝子群には貪食白血球が産生するケモカインや神経系細胞に特異的な機能分子が多く含まれることを確認している。これらの事実から、活性型 KRAS の下流に分化状態を規定する何らかの転写制御因子が存在し、その活性化の結果、肺上皮細胞に血液系・神経系細胞への分化形質が誘導され、細胞走化性の亢進が引き起こされたものと推察される。興味深いことに、申請者のマイクロアレイ発現解析の結果では、既報の上皮間葉移行制御分子群（SNAIL, SLUG, SIP, TWIST）の何れにも有意な発現変動（2倍以上の発現レベルの変動）は観察されなかった。そこで、申請者は、新規の異分化の誘導因子の存在を想定し、活性型 KRAS 導入によって4倍以上の発現上昇を示した5分子種をその候補としてマイクロアレイ解析の結果から抽出した（FOS, EGR1, EGR3, ARID3B, HDAC9）。

2. 研究の目的

本研究の目的は、その誘導機構の一端を明確にすることである。

3. 研究の方法

申請課題では、候補分子を恒常的に発現する不死化肺上皮細胞を樹立し、それらの形態学的特徴の評価と、血液系・神経系細胞の分化マーカーの発現解析を行う。更に、分化状態の変化を誘導した分子種につき、複数のがん細胞株とがん組織における発現解析を行い、その結果と病理組織学的特徴（分化度、細胞形態）との関連を検討する。

4. 研究成果

候補とした分子のうち EGR1 は細胞の扁平化、突起物の伸長を誘導した。HDAC9 は核内封入体の形成を誘導した。ARID3B はアポトーシスを誘導した。何れの分子も細胞増殖に抑制的に作用した。しかしながら、これらの単独では KRAS が引き起こしたような造血系・神経系細胞の分化形質を誘導に至らなかった。また、多くの肺癌細胞培養株では EGR1 の mRNA 発現は、非がん不死化気道上皮細胞より低く、また切除材料の免疫組織学的に解析では、がん細胞、特に低分化型のがん細胞株でその発現レベルが低い傾向が見られた。本研究から、EGR1 が部分的な（特に形態学的な）分化異状を誘導すること、また同時に顕著な増殖抑制を引き起こすことが明らかとなった。一方、肺癌細胞株、低分化型肺癌では発現レベルが低かったことから、KRAS-EGR1 活性化経路は発がん過程の初期段階でがん細胞の分化異状誘導に寄与する可能性が考えられた。がん進展過程ではむしろ EGR1 の発現低下は、増殖抑制の解

除（増殖促進）に寄与する可能性が考えられた。しかしながら、低分化のがん細胞においては、一般的に分化異状がより顕著であることから、高分化型癌と低分化型癌ではそれぞれ異なる分子基盤によって分化異状が誘導されているものと推察され、このような分子基盤の解明に興味を持たれた。目下、本研究課題の成果について論文投稿準備中である。

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9件）

1. Okudela K, Yazawa T, Woo T, Kitamura H et al.:
Down-regulation of DUSP6 expression in lung cancers - its mechanism and potential role in carcinogenesis -. Am J Pathol In press
2. Okudela K, Yazawa T, Tajiri M, Omori T, Takahashi K, Woo T, Shimoyamada H, Ogawa N, Kitamura H. A case of epithelial-myoepithelial carcinoma of the bronchus - A review of reported cases and a comparison with other salivary gland-type carcinomas of the bronchus. Pathol Res Pract. 2009 in press
3. Okudela K, Woo T, Yazawa T, Ogawa N, Tajiri M, Masuda M, Kitamura H. Significant association between EGFR-mutated lung adenocarcinoma and past illness from gastric cancer or uterine myoma: Its implication in carcinogenesis. Lung Cancer 2009 in press.
4. Okudela K, Yazawa T, Suzuki T, Sugimura H, Kitamura H. Role of 3'-phosphoinositides in oncogenic KRAS-induced modulation of shape and motility of airway epithelial cells. Pathol Int. 2009 59(1):28-37.
5. Woo T, Okudela K, Yazawa T, Wada N, Ogawa N, Ishiwa N, Tajiri M, Rino Y, Kitamura H, Masuda M. Prognostic value of KRAS mutations and Ki-67 expression in stage I lung adenocarcinomas. Lung Cancer 2009 in press
6. Kitamura H, Yazawa T, Sato H, Okudela K, Shimoyamada H. Small Cell Lung Cancer: Significance of RB Alterations and TTF-1 Expression in its Carcinogenesis, Phenotype, and Biology. Endocr Pathol. 2009 20(2):101-7.
7. Kitamura H, Yazawa T, Okudela K, Sato H, Shimoyamada H. Small Cell Lung Cancer: New Insights into its Carcinogenesis Mechanism and Aggressive Behavior. Open Pathology Journal 2009 in press
8. Yazawa T, Sato H, Shimoyamada H, Okudela K, Kitamura H et al. Regulation of IGFBP4 in neuroendocrine carcinoma. Am J Pathol 2009 in press
9. Suzuki M, Kageyama S, Shinmura K, Okudela K, Bunai T, Nagura K, Igarashi H, Kiyose S, Mori H, Tao H, Goto M, Takamochi K, Mochizuki

T, Suzuki K, Ohashi R, Ogawa H, Yamada T, Niwa H, Tsuneyoshi T, Sugimura H. Inverse relationship between the length of the EGFR CA repeat polymorphism in lung carcinoma and protein expression of EGFR in the carcinoma. J Surg Oncol. 2008 98(6):457-61.

〔学会発表〕(計2件)

1. 奥寺康司、矢澤卓也、下山田博明、禹哲漢、佐藤華子、武内智康、石井順、栄田昌史、後藤和也 宮田千恵、柏木維人、梶村春彦、北村均: 異型性の分子基盤(イオンチャンネル制御因子FXD3)の関与: 日本病理学会総会2009京都
2. 奥寺康司、五所尾康博、矢澤卓也、下山田博明、禹哲漢、北村均: EGFR遺伝子変異を高感度かつ簡易に検出するオリゴヌクレオチドアレイの開発: 日本病理学会総会2008石川

6. 研究組織

(1) 研究代表者

奥寺康司 (OKUDELA-KOJI)

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号: 1326027

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(7) ○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○

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10件)

- ① 学振太郎、半蔵門一郎、学振花子、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無
- ② 学振太郎、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無
- ③ 学振花子、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無

〔学会発表〕(計5件)

- ①
- ②
- ③

〔図書〕(計2件)

- ①
- ②

[産業財産権]

○出願状況 (計□件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計◇件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

http://○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○

6. 研究組織

(1) 研究代表者

学振 太郎 (GAKUSHIN TARO)
○○大学・大学院理工学研究科・教授
研究者番号：

(2) 研究分担者

学振 花子 (GAKUSHIN HANAKO)
○○大学・大学院理工学研究科・教授
研究者番号：

学振 次郎 (GAKUSHIN JIRO)
○○大学・大学院理工学研究科・教授
研究者番号：

学振 三郎 (GAKUSHIN SABURO)
○○大学・大学院理工学研究科・教授
研究者番号：

(3) 連携研究者

学振 四郎 (GAKUSHIN SHIRO)
○○大学・大学院理工学研究科・教授
研究者番号：