

令和 4 年 5 月 14 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22799

研究課題名(和文)大腸癌のNF B制御異常に対するKPC1の機能の解明

研究課題名(英文)Dysregulation of NFkB and KPC1 in colorectal cancer

研究代表者

飯田 祐基 (Iida, Yuuki)

東京大学・医学部附属病院・届出研究員

研究者番号：50881447

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は大腸癌におけるKPC1およびNF B制御異常のメカニズムとその臨床的意義を明らかにすることを目的としている。大腸癌細胞株を用いたin-vitroの実験では、KPC1発現vectorを用いてKPC1を高発現させたところ細胞増殖能が有意に抑制された。大腸癌の病理組織検体を用いた検討では、KPC1およびNF B p50の免疫化学染色を行い臨床病理学的因子との関連を解析した。その結果、KPC1の発現量とNF B p50の発現量や癌の深達度との間に相関を認めた。これらの結果より、大腸癌においてKPC1がNF B p50の発現や癌の増殖・深達度に関与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回得られた結果はpreliminaryなデータではあるものの、KPC1が大腸癌の増殖や深達度に関与していることが示唆された。今後これらに関する下流のNF Bシグナルの変化、さらには抗癌剤抵抗性・放射線抵抗性等への影響の可能性など、基礎的な実験を継続しデータを収集していく。NF B・KPC1を軸とした制御異常は大腸癌の細胞増殖・アポトーシス・血管新生・転移等複数のプロセスに影響を及ぼす重要な因子である可能性があり、引き続き研究を行う必要があると考える。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to clarify the mechanisms and clinical significance of KPC1 and NF B dysregulation in colorectal cancer. Using colorectal cancer cell lines and KPC expression vector, overexpression of KPC1 significantly suppressed cell proliferation. Accordingly, immunohistochemical staining of KPC1 and NF B p50 revealed that there are correlation between KPC1 and NF B p50 expression or tumor depth. These results suggest that KPC1 is involved in NF B p50 regulation and tumor depth/proliferation in colorectal cancer.

研究分野：腫瘍外科学

キーワード：大腸癌 NF B KPC1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大腸癌において NF- κ B の制御異常が細胞増殖・アポトーシス・血管新生・転移等に関与することが知られている。近年、コピキチンリガーゼの一つである KPC1 が NF- κ B の重要な制御因子であり (Kravtsova-Ivantsiv Y, et al. Cell. 2015;161(2):333-47)、特定の癌種において c-Myc や Cox-2 を含む多数の NF- κ B 標的遺伝子の発現パターンを変化させ細胞増殖能に影響を与えることが明らかとなった (Iida Y, et al. Clin Cancer Res. 2017;23(16):4831-4842)。大腸癌における KPC1 と NF- κ B との関連を検討するためデータベース (The Cancer Genome Atlas, TCGA) を用いて *in Silico* での解析を行ったところ、NF- κ B 標的遺伝子である Cox-2、HIF-1 の発現量が KPC1 の発現量と相関していた。Cox-2 は大腸癌で高発現し発癌や angiogenesis に関する重要な因子であり、また HIF-1 は大腸癌の浸潤や抗癌剤・放射線抵抗性に関与している。そのため大腸癌においては、KPC1 の発現量が細胞増殖能だけでなく抗癌剤抵抗性や放射線抵抗性等にも影響している可能性がある。また、近年 KPC1 発現量の制御因子として miR-155-5p およびそのプロモーター領域の DNA メチル化が報告されている (Wang X, et al. Cancers. 2020;12(5):1081)。大腸癌における NF- κ B 制御異常に KPC1 やエピジェネティック修飾が関与している可能性があるものの、そのメカニズムや臨床的意義についてはまだ明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究は、大腸癌細胞株を用いた *in vitro* の実験、および大腸癌の病理組織検体を用いた免疫化学染色を行い、大腸癌における KPC1 および NF- κ B 制御異常のメカニズムとその臨床的意義を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

- (1) ヒト大腸癌培養細胞株において KPC1 発現 vector を用いて KPC1 を高発現させ、もしくは siRNA を用いて KPC1 ノックダウンを行い、細胞増殖能 (MTS assay) および細胞遊走能 (Boyden chamber assay) の細胞表現型変化を解析した。
- (2) 大腸癌の病理組織検体を用いて KPC1 および NF- κ B p50 の免疫化学染色を行い、これらの発現と臨床病理学的因子との関連を解析した。

4. 研究成果

- (1) 大腸癌細胞株を用いた KPC1 の細胞増殖能・遊走能への影響
KPC1 の発現が細胞表現型にどのような影響を及ぼすかを検討した。大腸癌細胞株 (HT29 及び LoVo) に KPC1 発現 vector を用いて KPC1 を高発現させ、細胞増殖能および遊走能への影響を評価した。KPC1 高発現により細胞増殖能は有意に抑制された。しかし細胞遊走能については再現性のある明らかな変化を認めなかった。一方で siRNA により KPC1 をノックダウンし同様の検討を試みたが、細胞増殖能・遊走能いずれについても明らかな変化を認めなかった。
- (2) 臨床検体を用いた KPC1 と臨床病理学的因子の検討
KPC1 の発現と、大腸癌の臨床病理学的因子及び下流シグナルの一つである NF- κ B p50 の発現レベルの解析を行った。大腸癌の病理組織検体を用いた免疫組織化学染色を行い、臨床病理学的因子との相関を検討した (計 82 検体)。KPC1 の発現は深達度 (T1-2/T3-4) と相関しており、高発現群では癌の深達度が軽度である症例を有意に多く認めた ($p=0.007$)。一方、KPC1 の発現と性別・年齢・癌の局在・組織型・リンパ管侵襲・静脈侵襲・リンパ節転移・血行性転移との間に有意な相関は認められなかったが、KPC1 高発現群では腫瘍径がより小さい傾向を示した ($p=0.10$)。さらに KPC1 の発現は、KPC1 の下流シグナルの一つと考えられる NF- κ B p50 の発現量と正の相関を示した ($p=0.01$)。予後については、KPC1 と全生存率との間に明らかな相関は認めなかったが、無再発生存期間については KPC1 高発現群で予後良好な傾向を認めた ($p=0.09$)。

大腸癌細胞株を用いた検討により KPC1 の発現レベルが細胞増殖能に関与する可能性があること、また大腸癌の病理組織検体を用いた検討により KPC1 の発現レベルが NF- κ B p50 の発現や大腸癌の深達度と相関することが明らかとなった。現時点では preliminary な結果ではあるものの、大腸癌細胞株で KPC1 高発現の状況下において細胞増殖能が抑制され、臨床検体でも高発現群では癌の深達度が軽度の症例が多く予後良好な症例が多い傾向を認めており、全体として KPC1 が tumor suppressive な作用を示すことが示唆された。さらに KPC1 の下流のシグナルと考えられる NF- κ B p50 の関与も示唆された。KPC1 が細胞増殖能や大腸癌の深達度に作用する詳細な pathway、さらには抗癌剤抵抗性・放射線抵抗性等への影響の可能性など、今後も基礎的な実験

を継続し解析する必要がある。NF- κ B・KPC1を軸とした制御異常は大腸癌の細胞増殖・アポトーシス・血管新生・転移等複数のプロセスに影響を及ぼす可能性のある重要な因子と考えられる。また、NF- κ Bを直接ターゲットとする治療はその毒性のため臨床応用が難しいとされているが、今後研究を継続していくことで、NF- κ Bだけでなく、ユビキチンプロテアソーム系・microRNA・DNA methylation等をターゲットとした多角的な治療戦略を展開できる可能性も秘めている。以上のことから、今後も継続して大腸癌におけるNF- κ B・KPC1を軸とした制御異常に関する研究を行う必要があると考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 OKADA MASAMICHI, KAWAI KAZUSHIGE, SASAKI KAZUHITO, NOZAWA HIROAKI, KANEKO MANABU, MURONO KOJI, EMOTO SHIGENOBU, IIDA YUUKI, ISHII HIROAKI, YOKOYAMA YUICHIRO, ANZAI HIROYUKI, SONODA HIROFUMI, ISHIHARA SOICHIRO | 4. 巻 36 |
| 2. 論文標題 Intervention Strategies to Reduce Surgical Site Infection Rates in Patients Undergoing Rectal Cancer Surgery | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 In Vivo | 6. 最初と最後の頁 439 ~ 445 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/invivo.12722 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Ozaki Kosuke, Kawai Kazushige, Nozawa Hiroaki, Sasaki Kazuhito, Muroko Koji, Emoto Shigenobu, Iida Yuuki, Ishii Hiroaki, Yokoyama Yuichiro, Anzai Hiroyuki, Sonoda Hirofumi, Sugihara Kenichi, Ishihara Soichiro | 4. 巻 36 |
| 2. 論文標題 Therapeutic effects and limitations of chemoradiotherapy in advanced lower rectal cancer focusing on T4b | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Colorectal Disease | 6. 最初と最後の頁 1525 ~ 1534 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00384-021-03936-4 | 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 - |

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 Okada Masamichi, Kawai Kazushige, Sonoda Hirofumi, Shiratori Hiroshi, Kishikawa Junko, Nagata Hiroshi, Nozawa Hiroaki, Sasaki Kazuhito, Kaneko Manabu, Muroko Koji, Emoto Shigenobu, Iida Yuuki, Ishii Hiroaki, Yokoyama Yuichiro, Anzai Hiroyuki, Hasegawa Kiyoshi, Ishihara Soichiro | 4. 巻 21 |
| 2. 論文標題 Epithelial-mesenchymal transition and metastatic ability of CD133+ colorectal cancer stem-like cells under hypoxia | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Oncology Letters | 6. 最初と最後の頁 1 ~ 9 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2020.12280 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 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 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|