

機関番号：22701  
 研究種目：若手研究 (B)  
 研究期間：2009～2010  
 課題番号：21790325  
 研究課題名 (和文) がん細胞の異型性の分子基盤 (FXVD3 の発現低下とミスセンス変異の関与)  
 研究課題名 (英文) Molecular basis of the atypism of neoplastic cells  
 - Participation of mutations and downregulation of FXVD3 -  
 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：10326027

研究成果の概要 (和文) : 本課題の目的は、FXVD3 の発現低下およびミスセンス変異の細胞形態への影響を解析し、異型性の責任分子としての可能性を追求することであった。肺癌細胞株に FXVD3 の発現を回復させると、細胞骨格の整然化が認められた。また変異型 FXVD3 は、核形の歪化を来した。肺癌切除材料では、非腫瘍肺上皮細胞に比し、腫瘍細胞では有意に FXVD3 蛋白の発現が低下し、また悪性度の増加に伴いその発現は更に低下した。これらの結果、FXVD3 の発現低下 (および変異) は、がん細胞の異型性を引き起こす分子基盤の一つであり、肺癌の進展に関与することが示された。

研究成果の概要 (英文) : Our preliminary study revealed that FXVD3 expression was downregulated in oncogenic KRAS-transduced airway epithelial cells. This result interested us to investigate the role of FXVD3 in carcinogenesis of the lung. FXVD3 mRNA and protein levels were lower in most of the lung cancer cell lines than in either the non-cancerous lung tissue or airway epithelial cells. Its protein levels were lower in a considerable proportion of primary lung cancers than in non-tumoral airway epithelia. The levels reduced in parallel with the dedifferentiation process. Also, a somatic point mutation, g55c (D19H), was found in one cell line. Forced expression of the wild-type FXVD3, but not the mutant, restored the well-demarcated distribution of cortical actin in cancer cells that had lost FXVD3 expression, suggesting FXVD3 to play roles in the maintenance of cytoskeletal integrity. No association between its expression and the promoter's methylation status was observed. Inactivation of FXVD3 through a gene mutation or unknown mechanism could be one causes of the atypical shapes of cancer cells and play a potential role in the progression of lung cancer.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医科学

キーワード：異型性 FXVD3 肺癌 KRAS

### 1. 研究開始当初の背景

異型性はがん細胞に共通にみいだされる形態学的特徴であり、がんの病理組織診断において極めて重要な指標である。しかしながら、異型性を引き起こす分子基盤について、これまで積極的な研究がなされていない。申請者は2004年、がん遺伝子KRASが、ヒト気道上皮細胞に著しい形態変化を誘導することを報告した。KRASによって誘導される形態変化は、細胞の大型化・大小不同、多数の突起物の出現（仮足の進展）、核の大型化・歪化、細胞間結合の不安定化が本態であった。これは、がん細胞にみられる異型性と極めて類似した変化であり、KRAS導入細胞は異型性の分子基盤を追求するうえで有用な研究材料となると考えられた。マイクロアレイを用いたKRAS下流分子の網羅的検索から、異型性への関与が示唆される複数の候補分子を抽出し（未発表成績）、これらのうち、特にイオンチャンネル制御因子のひとつであるFXVD3は、多くのがん細胞株で極度の発現低下を示し、解析した細胞株のひとつにミスセンス変異が認められた。また、同分子は、核膜や細胞質内の網状構造。更に最近、他の研究グループから、イオンチャンネル(Na, K ATPase)やFXVD属分子の、上皮細胞極性化や接着・密着結合形成への関与を示唆する報告がなされている(2008年成績)。FXVD3の発現低下あるいはミスセンス変異が異型性(特に細胞間結合不安定化)を引き起こす一分子基盤である可能性を考え、当該研究の計画に至った

### 2. 研究の目的

FXVD3の発現低下あるいはミスセンス変異が異型性(特に細胞間結合不安定化)を引き起こす一分子基盤である可能性を考え、当該研究の計画に至った。

### 3. 研究の方法

研究期間内に、肺癌細胞株(30株)および肺癌手術材料(96例)を対象にFXVD3の全蛋白質コード領域の変異検索を行い、変異の頻度、ドメイン集積性を解析する。また、肺癌手術材料を対象に免疫染色、定量的RT-PCR法による発現解析を行い、実際のがん病変におけるFXVD3発現低下の程度、頻度を求め、組織形態(組織型、分化度)、細胞形態(細胞の大きさ、核の歪度など)との相関を解析する。また、野生型FXVD3と、変異検索によって見いだされた変異型FXVD3を非腫瘍気道上皮細胞あるいは肺癌細胞株に導入し、細胞形態の変化について解析を行う。これらの事項の完遂により、FXVD3発現低下および遺伝子変異の異型性への関与について

結論を得る。

### 4. 研究成果

遺伝子導入によってがん細胞株にFXVD3の発現を回復させると、細胞骨格、特にコルチカルアクチンの整然化が認められた。また変異型のFXVD3は、核のアウトラインの歪化を来した。肺癌切除材料において、非腫瘍部気管支・肺胞上皮細胞に比較して、腫瘍細胞では有意にFXVD3蛋白発現が低下しており、また悪性度の増加に伴ってその発現は更に低下した。これらの結果から、FXVD3の発現低下(および変異)は、がん細胞の異型性を引き起こす分子基盤の一つであり、肺癌のプログレーションに関与することが示唆された。研究成果は、国際誌に掲載された(American Journal of pathology, December 2009)また、この成果をもとに国際誌に総説を公表した(Pathology International, October 2010)。

### 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16件)

- 1 Okudela K, Woo T, Kitamura H. KRAS gene mutations in lung cancer: particulars established and issues unresolved. Pathol Int. 2010 Oct;60(10):651-60.
- 2 Sato H, Sakaeda M, Ishii J, Kashiwagi K, Shimoyamada H, Okudela-K, Kitamura H, Yazawa T al. Insulin-like growth factor binding protein-4 gene silencing in lung adenocarcinomas. Pathol Int. 2010 in press.
- 3 Shimoyamada H, Yazawa T, Sato H, Okudela K, Ishii J, Sakaeda M, Kashiwagi K, Suzuki T, Mitsui H, Woo T, Tajiri M, Ohmori T, Ogura T, Masuda M, Oshiro H, Kitamura H. Early growth response-1 induces and enhances vascular endothelial growth factor- $\alpha$  expression in lung cancer cells. Am J Pathol. 2010 Jul;177(1):70-83.
- 4 Okudela K, Woo T, Mitsui T, Yazawa T,

- Shimoyamada H, Tajiri H, Oagawa N, Masuda M, Katamura H. Proposal of an Altered Histological Sub-typing System for Lung Adenocarcinoma - significant prognostic values for stage I disease -. *Int J Clin Exp Pathol* 3:348-366, 2010.
5. 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* 206:101-107, 2010.
6. Samejima M, Tajiri M, Takahashi K, Omori T, Okudela K et al. A case of malignant fibrous histiocytoma of the thymus. *Ann Thoracic Oncology* 89:2003-2005, 2010.
7. Okudela K, Woo T, Mitsui T, Yazawa T, Shimoyamada H, Tajiri H, Oagawa N, Masuda M, Katamura H. Morphometric Profiling of Lung Cancers - its association with clinicopathologic, biological and molecular genetic features -. *Am J Surg Pathol* 34:243-255, 2010.
8. Tsuboi M, Mori H, Bunai T, Kageyama S, Suzuki M, Okudela K, Takamochi K, Ogawa H, Niwa H, Shinmura K, Sugimura H. Secreted form of *EphA7* in lung cancer. *Int J Oncology* 36:635-640, 2010.
9. Okudela K, Yazawa T, Ishii J, Woo T, Mitsui H, Bunai T, Sakaeda M, Shimoyamada H, Sato H, Tajiri M, Ogawa N, Masuda M, Sugimura H, Kitamura H. Down-regulation of FXD3 expression in human lung cancers: its mechanism and potential role in carcinogenesis. *Am J Pathol* 175: 2646-2656, 2009.
10. Okudela K, Yazawa T, Woo T, Sakaeda M, Ishii J, Mitsui H, Shimoyamada H, Sato H, Tajiri M, Ogawa N, Masuda M, Takahashi T, Sugimura H, Kitamura H. Down-regulation of DUSP6 expression in lung cancer: its mechanism and potential role in carcinogenesis. *Am J Pathol* 175:867-881, 2009.
11. 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* 59: 28-37, 2009.
12. 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* 66:287-291, 2009.
13. 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* 65:355-62, 2009.
14. Kitamura H, Okudela K, Yazawa T, Sato H, Shimoyamada H. Cancer stem cell: implications in cancer biology and therapy with special reference to lung cancer. *Lung Cancer* 66:275-281, 2009.
15. 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*

20:101-107, 2009.

16. Yazawa T, Sato H, Shimoyamada H, Okudela K, Woo T, Tajiri M, Ogura T, Ogawa N, Suzuki T, Mitsui H, Ishii J, Miyata C, Sakaeda M, Goto K, Kashiwagi K, Masuda M, Takahashi T, Kitamura H. Neuroendocrine cancer-specific up-regulating mechanism of insulin-like growth factor binding protein-2 in small cell lung cancer. Am J Pathol 175:976-87, 2009.

[学会発表] (計2件)

1. 奥寺康司他 : Proposal of an Altered Histological Sub-typing System for Lung Adenocarcinoma. 日本病理学会総会 (99回). 東京 2010.4.27.
2. 奥寺康司他 : 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 (98回). 石川 2009.5.02

[図書] (計1件)

1. Okudela K, Katayam A, Nagahra N, Kitamura H. Cancer Stem Cell in Lung Cancer. Nova Science Publication, 2010.

## 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 : 1 0 3 2 6 0 2 7

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号 :

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号 :