

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 28 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22790665

研究課題名（和文）EGFR リガンド CTF の核内移行シグナルを標的とした新規胃癌分子標的治療の研究

研究課題名（英文）A new molecular target therapy for gastric cancer targeting nuclear translocation of the CTF of EGFR ligands

研究代表者

志村 貴也 (SHIMURA TAKAYA)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：90405192

研究成果の概要（和文）：

HB-EGF-CTF の核移行により胃癌細胞の遊走能・浸潤能の増加をみとめ、ヒト胃癌においても進行胃癌において HB-EGF-CTF の核内発現の有意な増加をみとめた。これらのことから HB-EGF-CTF の核移行は胃癌浸潤を誘導すると考えられた。

胃癌細胞および腫瘍移植動物モデルにおいて AR の核移行により抗がん剤感受性の低下をみとめた。さらに抗がん剤施行した stage4 進行胃癌において AR の核発現は有意な予後不良因子であった。これらのことから AR の核移行は胃癌の抗がん剤感受性を低下させ予後不良因子であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

HB-EGF-CTF nuclear translocation increased motility and invasion of gastric cancer cell. The nuclear immunoreactivity of HB-EGF-CTF was significantly increased in stage pT3/4 tumors compared with pT1/2 tumors in human gastric cancer. These results suggested that HB-EGF-CTF nuclear translocation induce gastric cancer invasion (Shimura T, et al. BMC Cancer 2012, in press).

AR nuclear translocation significantly induced chemoresistance *in vitro* and *in vivo*, and AR-nuclear staining was extracted as a significant poor prognostic factor in human gastric cancer. As these results, AR nuclear translocation reduces chemosensitivity to anti-cancer drugs and would be associated with poor prognosis in human gastric cancer (Yoshida M, Shimura T, et al. Cancer Sci 2012).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：胃癌、分子標的治療、HB-EGF、Amphiregulin、EGFR

1. 研究開始当初の背景

我々の共同研究グループはこれまでに EGF ファミリーの一つである HB-EGF や Amphiregulin (AR) が EGFR のリガンドとしての機能のみならず、細胞外ドメインが切断された後に残された細胞内ドメイン (CTF) が細胞膜から核内へ移行し転写に関連した分子を制御していることを報告してきた。EGFR 阻害薬はすでに様々な癌治療に応用されているが、申請者らは胃癌のように EGFR が発現しているにもかかわらず Gefitinib などの EGFR 阻害剤の臨床効果が乏しい癌種では、EGFR だけでなく CTF シグナルをも抑制することが重要ではないかと考えている。この仮説から EGF ファミリーの一員である HB-EGF について検討した結果、EGFR の抑制に加え HB-EGF-CTF の核移行を抑制することによりさらに胃癌細胞増殖が抑制されアポトーシスも誘導されることを示し、HB-EGF-CTF シグナルの抑制が胃癌に対する分子標的治療として有効である可能性を初めて報告し、CTF シグナルが癌治療の分子標的となる可能性をさらに強く示した (Shimura T, et al. Clin Cancer Res. 2008 Jun 15;14(12):3956-65)。

しかしながらこれら、HB-EGF や AR を代表とした EGFR リガンドの CTF の核移行が実際のヒト胃癌に対してどのような影響を来すかは検討されておらず全く不明である。

2. 研究の目的

胃癌における HB-EGF および AR の CTF の核移行シグナルの意義を明らかにするとともに、実際のヒト胃癌組織を使用して臨床病理学的見地からも検討を行う。

3. 研究の方法

①HB-EGF

野生型 HB-EGF (Wt-HB-EGF) と HB-EGF の C 末端側を変異させ核移行能を欠失させた HB-EGF (HB-EGF-mC) を強制発現させた胃癌細胞株を樹立し、各細胞株における細胞増殖・細胞運動能・浸潤能を *in vitro* において比較。

実際のヒト胃癌組織を使用し抗 HB-EGF-CTF 抗体により免疫組織化学染色を行いヒト胃癌の進行度や予後との関連性を臨床病理学的に検討する。

②AR

AR-CTF を変異させることにより核へ自律的に輸送される AR の樹立に成功した。この変異 AR を Tet-off システムに組み込むことにより、AR の核内移行シグナルを意図的に誘導することができる胃癌細胞株を樹立した。変異ARの tet-offシステム胃癌細胞株を使用し、AR-CTFの核内移行に伴う癌細胞増殖や進展形式および各抗がん剤に対する薬剤感受性の有無を *in vitro* および *in vivo* において検討する。

またヒト胃癌細胞組織を抗AR抗体にて免疫組織化学染色を行い、抗がん剤感受性や予後との関連について臨床病理学的評価を行う。

4. 研究成果

In vitro において HB-EGF-CTF の核移行抑制により胃癌遊走能および浸潤能の抑制効果をもとめた。また、ヒト胃癌組織における検討においては、胃癌進行癌において HB-EGF-CTF の有意な核内発現の増加をみとめた。

AR が核移行することにより細胞および腫瘍移植動物モデルにおいて cisplatin, paclitaxel, 5-FU のすべての抗癌剤の薬剤感受性が有意に低下した。また実際の抗がん剤治療を行ったステージ4のヒト胃癌における検討においても AR の核移行は有意な予後不良因子として同定された。

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9件)

1. Shimura T, Yoshida M, Fukuda S, Ebi M, Hirata Y, Mizoshita T, Tanida S, Kataoka H, Kamiya T, Higashiyama S, Joh T. Nuclear translocation of the

- cytoplasmic domain of HB-EGF induces gastric cancer invasion. *BMC cancer* 2012; in press
2. Kitagawa M, Shimura T, Yamada T, Ebi M, Hirata Y, Mizoshita T, Tanida S, Kataoka H, Kamiya T, Joh T (corresponding author). The relationship between antitumor effects and relative dose intensity of S-1 plus cisplatin treatment for metastatic gastric cancer. *Anticancer Res.* 2012 May;32(5):1763-8.
 3. Yoshida M, Shimura T, Fukuda S, Mizoshita T, Tanida S, Kataoka H, Kamiya T, Nakazawa T, Higashiyama S, Joh T (corresponding author). Nuclear translocation of pro-amphiregulin induces chemoresistance in gastric cancer. *Cancer Sci.* 2012 Apr;103(4):708-15.
 4. Shimura T, Kitagawa M, Yamada T, Yoshida M, Ebi M, Hirata Y, Mizushima T, Mizoshita T, Tanida S, Kataoka H, Kamiya T, Joh T. The impact of cross-resistance between paclitaxel and docetaxel for metastatic gastric cancer. *Onkologie.* 2012;35(4):176-83.
 5. Shimura T, Kitagawa M, Yamada T, Ebi M, Mizoshita T, Tanida S, Kataoka H, Kamiya T, Joh T. C-reactive protein is a potential poor prognostic factor for metastatic gastric cancer. *Anticancer Res.* 2012 Feb;32(2):491-6.
 6. Shimura T, Kataoka H, Joh T, (他8名, 1番目). Metastatic Colorectal Cancer with Severe Liver Dysfunction Successfully Treated Using FOLFOX Therapy. *J Gastrointest Cancer.* 2011 Mar; 42(1): 68-72.
 7. Ebi M, Kataoka H, Shimura T, Kubota E, Hirata Y, Mizushima T, Mizoshita T, Tanaka M, Mabuchi M, Tsukamoto H, Tanida S, Kamiya T, Higashiyama S, Joh T. TGF β induces proHB-EGF shedding and EGFR transactivation through ADAM activation in gastric cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010 Nov 19;402(3):449-54.
 8. Shimura T, Fuse N, Yoshino T, Minashi K, Tahara M, Doi T, Joh T, Ohtsu A. Clinical features of interstitial lung disease induced by standard chemotherapy (FOLFOX or FOLFIRI) for colorectal cancer. *Ann Oncol.* 2010 Oct;21(10):2005-10
 9. Tanida S, Kataoka H, Mizoshita T, Shimura T, Kamiya T, Joh T. Intracellular translocation signaling of HB-EGF carboxy-terminal fragment and mucosal defense through cell proliferation and migration in digestive tracts. *Digestion.* 2010;82(3):145-9. Epub 2010 Jun 25.
- [学会発表] (計7件)
- 1 志村 貴也. (1番目) 北川美香, 吉田道弘, 山田智則, 海老正秀, 水島隆史, 平田慶和, 村上賢治, 片岡洋望, 城卓志. 胃癌治療におけるパクリタキセルとドセタキセルの交差耐性の検討. 53th JDDW 2011 Oct 20, 福岡
 - 2 Shimura T, Yoshida M, Fukuda S, Mizoshita T, Kataoka H, Higashiyama S, Joh T, . (1番目). HB-EGF-CTF nuclear translocation induces gastric cancer invasion. 70th Japan Cancer Association 2011.Oct 5, Nagoya, Japan
 - 3 Yoshida M, Shimura T, Fukuda S, Mizoshita T, Kataoka H, Higashiyama S, Joh T. (2番目) Amphiregulin nuclear translocation might cause poor prognosis due to chemotherapeutic resistance in gastric cancer. 70th Japan Cancer Association 2011.Oct 3, Nagoya, Japan

- 4 **Shimura T**, Kitagawa M, Tomonori Yamada, Michihiro Yoshida, Masahide Ebi, Yoshikazu Hirata, Takashi Mizushima, Tsutomu Mizoshita, Satoshi Tanida, Hiromi Kataoka, Takeshi Kamiya, Joh T. (1 番 目). The impact of cross-resistance between paclitaxel and docetaxel for gastric cancer. 9th JSMO 2011 July 22, Nagoya, Japan
- 5 **Shimura T**, Yoshida M, Tanaka M, Kataoka H, Higashiyama S, Joh T, et al, (1 番 目). HB-EGF-CTF nuclear translocation induces gastric cancer invasion. 35th ESMO 2010 Oct 11, Milan, Italy.
- 6 Yoshida M, **Shimura T**, Higashiyama S, Kataoka H, Joh T, et al. (2 番 目). Amphiregulin nuclear translocation might reduce chemosensitivity in gastric cancer. 35th ESMO 2010 Oct 8, Milan, Italy.
- 7 **志村 貴也**. (1 番 目)、吉田道弘、福田信治、東山繁樹、溝下 勤、久保田英嗣、谷田諭史、片岡洋望、神谷武、城 卓志. 胃癌の新規分子標的としてのHB-EGF-CTF シグナルの意義. 第 42 回胃病態機能研究会. 2010.8.7, 札幌

[その他]

名古屋市立大学大学院医学研究科消化器代謝内科学ホームページ業績集

<http://www.ncu-shotai.ac/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

志村 貴也 (SHIMURA TAKAYA)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：90405192

(2) 研究分担者 該当者なし

(3) 連携研究者 該当者なし