

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25460432

研究課題名(和文)肺腺癌におけるCADM1過剰発現による悪性形質獲得機構の解明

研究課題名(英文)The mechanism of malignant transformation of CADM1-positive lung adenocarcinoma

研究代表者

松原 大祐 (Matsubara, Daisuke)

自治医科大学・医学部・准教授

研究者番号：80415554

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、高悪性度の浸潤腺癌の中に腫瘍抑制遺伝子CADM1を過剰発現する群があることに着目した。CADM1陽性の肺腺癌細胞株は、気管支上皮マーカーの発現が低く、RAPGEF2を共発現する。RAPGEF2のノックダウン実験により、RAPGEF2がCADM1による腫瘍抑制効果を低下させ、RAP1を介した癌細胞のMigrationを促進することが示された。原発性肺腺癌140例の解析結果から、CADM1陽性例で特徴的に、RAPGEF2の高発現が、気管支上皮マーカーの発現低下と予後不良に関与し、RAPGEF2がCADM1陽性の高悪性度肺腺癌の悪性形質獲得に関与することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Some invasive high-grade adenocarcinomas overexpress CADM1. Here, we investigated the characteristics of CADM1-positive high-grade subtype. In this study, we found that lung adenocarcinoma cell lines expressing CADM1 frequently show low level expressions of bronchial epithelial markers. Furthermore, these CADM1-positive cell lines co-express RAPGEF2. Knockdown of RAPGEF2 reduced cell migration and RAP1 activity, which suggested that RAPGEF2 promoted cell migration through activation of RAP1. In addition, our knockdown experiments of RAPGEF2 indicate that RAPGEF2 reduces the tumor suppressor function of CADM1. Immunohistochemical analysis of lung adenocarcinoma cases (n=140) revealed that high level expression of RAPGEF2 correlated with high-grade subtype, low level expressions of bronchial epithelial markers, and worse prognosis especially in CADM1-positive lung adenocarcinomas. In conclusion, RAPGEF2 will get involved in the malignant phenotype of CADM1-positive high grade subtype.

研究分野：肺癌

キーワード：CADM1 RAPGEF2 RAP1 non-TRU type

### 1. 研究開始当初の背景

CADM1 は肺腺癌において、腫瘍抑制遺伝子であることが知られる (Kuramochi et al, Nat genet, 2001)。病理組織学にも、正常肺上皮、あるいは、上皮内腺癌において陽性であるが、浸潤性腺癌成分では陰性化することが報告されている (Goto et al, Cancer Sci, 2005)。しかし、ある種の高悪性度の浸潤性肺腺癌、および、肺腺癌細胞株では、CADM1 を高発現していることに着目した。

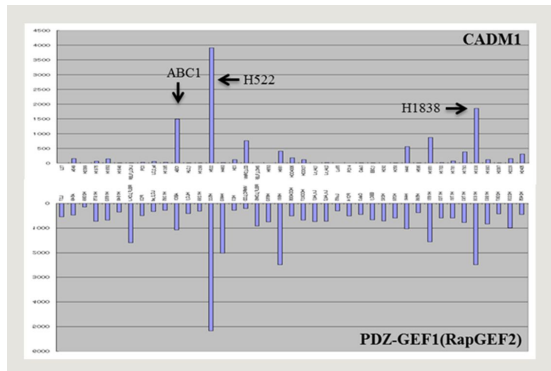
### 2. 研究の目的

CADM1 陽性の高悪性度肺腺癌の細胞生物学的特長について検討する

### 3. 研究の方法

肺腺癌細胞株 40 株を用いて、CADM1 の発現と相関する遺伝子群を抽出し、その中で RAPGE2 に着目した。CADM1 は RAC の GEF (guanine nucleotide exchange factors) に相当する TIAM1 の PDZ ドメインと結合することが報告されているが (Masuda et al, J Bio Chem, 2010)、RAPGEF2 もまた RAP の GEF に相当し、同様に PDZ ドメインを有している。

(図 1 肺腺癌 40 株における CADM1 発現と RAPGEF2 発現の比較)



CADM1 陽性の肺腺癌細胞株を用いて、RAPGEF2 に対する siRNA による、RAP 活性、細胞の Migration への影響を検討した。さらに、肺腺癌 140 例を用いて、免疫組織化学的に、RAPGE2 と CADM1 の発現の関係性を検討した。

### 4. 研究成果

CADM1 陽性の肺腺癌細胞株は、TTF-1、CK7 等の気管支上皮マーカーの発現が低く、RAP guanine exchange factor である RAPGEF2 を共発現することが分かった。

RAPGEF2 をノックダウンにより細胞の Migration や RAP 活性が抑制されることから、RAP1 活性を解した細胞の Migration を RAPGEF2 は促進することが示唆され、さらに、RAPGEF2 は CADM1 による腫瘍抑制効果を低下させることが示された。原発性肺腺癌 140 例を用いた免疫組織化学的解析により、CADM1 高発現群において特徴的に、RAPGEF2 の高発現が、気管支上皮マーカーの発現低下と予後不良とに有意に相関することが分かった。以

上の結果より、RAPGEF2 が CADM1 陽性の高悪性度肺腺癌の悪性形質獲得に関与することが示唆された。この研究結果については、現在論文にまとめている最中である。

### 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 8 件)

1. Ito T, Matsubara D(corresponding author), Tanaka I, Makiya K, Tanei Z, Kumagai Y, Shiu S, Nakaoka H, Ishikawa S, Isagawa T, Morikawa T, Shinozaki-Ushiku A, Goto Y, Nakano T, Tsuchiya T, Tsubochi H, Komura D, Aburatani H, Dobashi Y, Nakajima J, Endo S, Fukayama M, Sekido Y, Niki T, Murakami Y. Loss of YAP1 Defines Neuroendocrine Differentiation of Lung Tumors. *Cancer Sci*. 2016 Oct;107(10):1527-1538. doi: 10.1111/cas.13013.
2. Sakuma Y, Yasuda Y, Sata N, Hosoya Y, Shimizu A, Fujii H, Matsubara D, Fukushima N, Miki A, Maeno M, Lefor AK. Pancreatic neuroendocrine tumor with metastasis to the spleen: A case report. *BMC Cancer*. 2017 Jan 9;17(1):37. doi: 10.1186/s12885-016-3020-8.
3. Tran B, Nguyen, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Yukitsugu Asabe, Daisuke Matsubara, Junko Kano, Kenichi Yoshida, Yuichi Shiraishi, Kenichi Chiba, Hiroko Tanaka, Satoru Miyano, Koji Izutsu, Naoya Nakamura, Kengo Takeuchi, Hiroaki Miyoshi, Koichi Ohshima, Takashi Minowa, Seishi Ogawa, Masayuki Noguchi and Shigeru Chiba. Identification of Cell-Type-Specific Mutations in Nodal T-cell lymphomas. *Blood Cancer J*. 2017 Jan 6;7(1):e516. doi: 10.1038/bcj.2016.122.
4. Tominaga K, Shimamura T, Kimura N, Murayama T, Matsubara D, Kanauchi H, Niida A, Shimizu S, Nishioka K, Tsuji EI, Yano M, Sugano S, Shimono Y, Ishii H, Saya H, Mori M, Akashi K, Tada KI, Ogawa T, Tojo A, Miyano S, Gotoh N. Addiction to the IGF2-ID1-IGF2 circuit for maintenance of the breast cancer stem-like cells. *Oncogene*. 2017 Mar 2;36(9):1276-1286. doi: 10.1038/onc.2016.293.
5. Maruzuru Y, Koyanagi N, Takemura N, Uematsu S, Matsubara D, Suzuki Y, Arii J, Kato A, Kawaguchi Y. p53 is a Host Cell Regulator during Herpes Simplex Encephalitis. *J Virol*. 2016. May 11. pii: JVI.00846-16.

6. Ikenoue T, Terakado Y, Nakagawa H, Hikiba Y, Fujii T, Matsubara D, Noguchi R, Zhu C, Yamamoto K, Kudo Y, Asaoka Y, Yamaguchi K, Ijichi H, Tateishi K, Fukushima N, Maeda S, Koike K, Furukawa Y. A novel mouse model of intrahepatic cholangiocarcinoma induced by liver-specific Kras activation and Pten deletion. *Scientific Reports*. 2016 Apr 1;6:23899. doi: 10.1038/srep23899.
7. Tsukui H, Koinuma K, Morimoto M, Horie H, Lefor AK, Kagaya Y, Takahashi H, Yano T, Matsubara D, Yamamoto H, Sata N. Crohn's disease presenting as a ceco-urachal fistula. *Clin J Gastroenterol*. 2017 Feb;10(1):32-36. doi: 10.1007/s12328-016-0691-2.
8. 松原 大祐 「胸部の原発不明癌の鑑別」病理と臨床 2017年 2月号 152-159

〔学会発表〕(計 13件)

1. 松原 大祐, 曾田 学, 吉本多一郎, 天野 雄介, 上野 敏秀, 小島進也, 間野 博行, 仁木 利郎 病理組織学的アプローチによる Non-TRU タイプ肺腺癌の NKX2-1 遺伝子変異の同定 (P-1336) 2016年 第75回日本癌学会 パシフィコ横浜 (横浜)
2. 寺門 侑美, 池上 恒雄, 野口 玲, 朱 赤, 松原 大祐, 山口 貴世志, 古川 洋一 新規肝内胆管癌マウスモデルにおける起源細胞の検討 (J-2003) 2016年 第75回日本癌学会 パシフィコ横浜 (横浜)
3. 池上 恒雄, 寺門 侑美, 藤井 智明, 松原 大祐, 山口 貴世志, 古川 洋一 癌で高頻度に見られる FBXW7 変異の条件的ノックインマウスの樹立 (P-2005) 2016年 第75回日本癌学会 パシフィコ横浜 (横浜)
4. 高橋 真依, 仁木 利郎, 松原 大祐, 吉本多一郎 SWI/SNF のコアサブユニット BRM による肺癌細胞の分化形質の制御とその分子機構 (P-2102) 2016年 第75回日本癌学会 パシフィコ横浜 (横浜)
5. 天野 雄介, 松原 大祐, 吉本 多一郎, 仁木 利郎 口腔癌における YAP の発現検討 (PP-2293) 2016年 第75回日本癌学会 パシフィコ横浜 (横浜)
6. 吉本 多一郎, 松原 大祐, 仁木 利郎, 河村 大輔, 石川 俊平 肺腺癌 Xenograft モデルにおける癌間質相互作用の包括的解析 (P-1338) 2016年 第75回日本癌学会 パシフィコ横浜 (横浜)
7. 松原 大祐, 伊東 剛, 田中 一大, 仁木 利郎, 村上 善則 高悪性度神経内分泌腫瘍における YAP1 の欠失は, 神経内分泌分化と薬剤感受性を決定づける (P-1-113) 2016年 第57回 日本肺癌学会 福岡国際会議場 (博多)
8. 天野 雄介, 松原 大祐, 吉本多一郎, 遠藤 俊輔, 仁木 利郎 間質性肺炎を

- 背景に 3 組織型を伴った肺癌の 1 症例 (P-2-37) 2016年 第57回 日本肺癌学会 福岡国際会議場 (博多)
9. 吉本多一郎, 松原 大祐, 河村 大輔, 石川 俊平, 仁木 利郎 系統的肺腺癌ゼノグラフトを用いた癌間質相互作用の解析 (P-2-36) 第57回 日本肺癌学会 福岡国際会議場 (博多)
10. 松原 大祐, 曾田 学, 吉本多一郎, 天野 雄介, 上野 敏秀, 小島 進也, 間野 博行, 仁木 利郎 形態学的アプローチに基づく Non-TRU type 肺腺癌の解析: TFF-1 と TTF-1 の相互排他的な関係性について (O-3-41) 第57回 日本肺癌学会 福岡国際会議場 (博多)
11. 中村 敦子, 伊東 剛, 大場 基, 松原 大祐, 村上 善則 Hippo シグナル経路の制御における細胞接着分子 CADM1 の関与 [3P-0676] 第39回日本分子生物学会年会 パシフィコ横浜 (横浜)
12. 天野雄介, 松原 大祐, 吉本 多一郎, 仁木 利郎 口腔扁平上皮癌における PRMT5 の発現解析 (P1-189) 105回日本病理学会 仙台国際センター (仙台)
13. 吉本 多一郎, 松原 大祐, 福嶋 敬宜, 仁木 利郎 肺癌の上皮間葉転換におけるクロマチンリンモデリング因子異常の解析 (P-1-52) 105回日本病理学会 仙台国際センター (仙台)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0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 0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://www.jichi.ac.jp/pathol/>

6. 研究組織  
(1) 研究代表者

松原 大祐 (Matsubara, Daisuke)  
自治医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：80415554

(2)研究分担者  
( )

研究者番号：

(3)連携研究者  
( )

研究者番号：

(4)研究協力者  
( )