

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462099

研究課題名(和文) 癌細胞におけるC5aRの発現と機能解析と新しい治療法の開発

研究課題名(英文) Analysis for the effect of C5a receptor on cancer cell and development for targeted therapeutic strategy to C5a receptor

研究代表者

新田 英利 (NITTA, Hidetoshi)

熊本大学・医学部附属病院・非常勤診療医師

研究者番号：90555749

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)：補体C5aの受容体であるC5aRはさまざまな生理活性を有しているが、癌においては未だ不明な点が多い。そこで胃癌におけるC5a受容体(C5aR)の機能解析を行った。胃癌細胞株はC5aRの発現を認め、C5aにより有意に浸潤能・細胞運動が亢進し、Filopodia形成などの細胞形態の変化が誘導された。これらの浸潤能・細胞形態変化はRhoAの活性化を介していることを明らかにした。臨床検体を用いて解析を行った結果、C5aR高発現胃癌症例は有意に予後不良であった。以上よりC5aRは胃癌の浸潤・転移に関与している可能性があると考えられ、これらをターゲットとした新しい胃癌治療の確立が期待できる。

研究成果の概要(英文)：We examined the effect of C5a receptor (C5aR) on Gastric cancer (GC). Two human GC cell lines had high C5aR expression. An invasion assay revealed that C5a stimulation promoted the invasive ability of them. Moreover, overexpression of C5aR in GC cells enhanced the conversion of RhoA-GDP to RhoA-GTP after C5a stimulation and caused morphological changes, including increased expression of stress fibers and filopodia. Examination of tumor specimens from patients with GC revealed that high C5aR expression was associated with increased invasion depth, vascular invasion and advanced stage. The 5-year overall survival of patients with high C5aR expression was significantly worse than that of patients with low expression. This study is the first to demonstrate that C5aR promotes GC cell invasion by activating RhoA and is associated with a poor prognosis in GC patients. Therefore, this study provides a biomarker for GC patients who require an advanced therapeutic strategy.

研究分野：消化器外科学

キーワード：補体C5a C5a受容体 胃癌浸潤・転移

1. 研究開始当初の背景

補体 C5a に対する受容体である C5a 受容体(C5aR)は好中球、マクロファージ、肥満細胞などの骨髄系細胞に発現し、C5a と反応することで白血球遊走、好中球活性酸素産生、肥満細胞からの脱顆粒など炎症を誘導する作用を有している。近年、非骨髄系細胞(血管内皮細胞、腎メサンギウム細胞、気管上皮細胞など)にも C5aR の発現が確認され、炎症性サイトカイン、細胞増殖、細胞収縮など多彩な機能を有することが分かってきている。さらに申請者らはさまざまな固形癌においても C5aR が発現し、癌の浸潤・転移に C5a-C5aR axis が関与していることを同定した。さらに胆管癌における C5aR がアクチン重合やマトリックスメタロプロテアーゼ産生能亢進を誘導し、癌の浸潤・転移が亢進することを示した。

しかしその他の癌種における C5aR の役割や、浸潤のメカニズムに関しては未だ不明である。

2. 研究の目的

さまざまな癌種における C5aR の癌の増殖・浸潤転移に対する機能を解析することである。

3. 研究の方法

1)臨床検体を用いて癌における C5aR の発現と臨床病理学的因子の相関を解析する

2)癌細胞株を用いて、C5aR の発現と増殖能・浸潤能について解析する

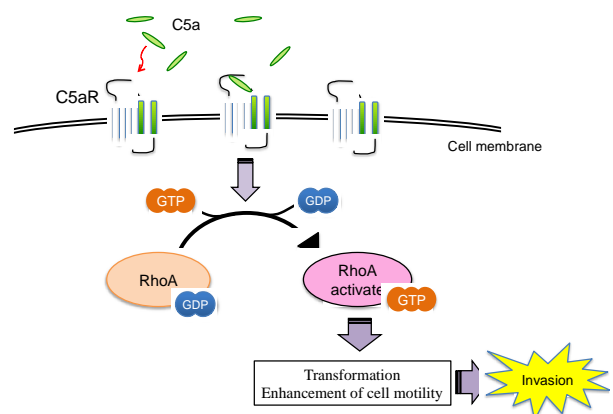
3)浸潤能のメカニズムについて解析する

4. 研究成果

1)大腸癌、肝細胞癌、胃癌組織における C5aR発現の解析；大腸癌111例、肝細胞癌112、胃癌168例について抗C5aR抗体を用い

て免疫化学組織染色を施行した。結果、大腸癌、肝細胞癌においてはC5aRの発現と予後には有意な相関を認めなかった。一方、胃癌においてはC5aR高発現群は低発現群に比較し、無再発生存、累積全生存ともに有意に不良であった。C5aR高発現胃癌は深達度、脈管侵襲陽性、肝転移再発と有意な相関を認めた。さらに胃癌肝転移巣標本を多施設から集積し、肝転移巣でのC5aR発現を免疫組織染色で評価したところ、肝転移巣のサイズ、原発巣でのC5aR発現、原発巣での脈管侵襲と有意な相関を認めた。

2),3)胃癌浸潤メカニズムの解析；胃癌細胞株を用いた実験ではMKN1,MKN7にC5aRの発現を認め、C5a刺激により浸潤能が亢進し、C5aRをSiRNAでknockdownあるいはC5aR antagonistで処理することで浸潤能が抑えられた。C5aR高発現胃癌細胞株を作成し、Invasion assay、real time imagingで解析したところ、C5a刺激により有意に浸潤能・細胞運動が亢進することが分かった。また細胞形態もC5a刺激によりFilopodia, stress fibers、membrane rufflingなどの発現が見られた。さらにC5a刺激により胃癌細胞でのRhoAの活性化が起こっていることが分かった (figure)。



以上から、胃癌における C5aR は C5a と反応することにより RhoA の活性化を介して癌細胞の浸潤能を亢進させることがわかった。

C5a-C5aR をターゲットとした新しい治療法の確立が期待できる。

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 5 件)

Nitta H, Baba H, Sugimori K, Furuse J, Ohkawa S, Yamamoto K, Minami H, Shimokawa M, Wakabayashi GO, Aiba K; CINV Study Group of Japan.

Chemotherapy-induced Nausea and Vomiting in Patients with Hepatobiliary and Pancreatic Cancer Treated with Chemotherapy: A Prospective Observational Study by the CINV Study Group of Japan.

Anticancer Res. 2016 ;36:1929-35. 査読有

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27069182>

Beppu T, Nitta H, Hayashi H, Imai K, Okabe H, Nakagawa S, Hashimoto D, Chikamoto A, Ishiko T, Yoshida M, Yamashita Y, Baba H. Effect of

branched-chain amino acid supplementation on functional liver regeneration in patients undergoing portal vein embolization and sequential hepatectomy: a randomized controlled trial. J Gastroenterol.

2015; 50:1197-205. 査読有 doi: 10.1007/s00535-015-1067-y.

Nitta H, Beppu T, Itoyama A, Higashi T, Sakamoto K, Nakagawa S, Mima K, Okabe H, Imai K, Hayashi H, Hashimoto D, Chikamoto A, Ishiko T, Baba H. Poor outcomes after hepatectomy in

patients with ascites infected by methicillin-resistant staphylococci. J Hepatobiliary Pancreat Sci.

2015;22:166-76. 査読有

doi: 10.1002/jhbp.175.

Sakamoto K, Imai K, Higashi T, Taki K, Nakagawa S, Okabe H, Nitta H, Hayashi H, Chikamoto A, Ishiko T, Beppu T, Baba H. Significance of P-cadherin

overexpression and possible mechanism of its regulation in ICC and pancreatic cancer. Cancer Sci. 2015; 106: 1153-62. 査読有

doi: 10.1111/cas.12732.

Imai K, Beppu T, Yamao T, Okabe H, Hayashi H, Nitta H, Hashimoto D, Mima K, Nakagawa S, Sakamoto K, Chikamoto A, Ishiko T, Baba H.

Clinicopathological and prognostic significance of preoperative serum zinc status in patients with hepatocellular carcinoma after initial hepatectomy. Ann Surg Oncol. 2014;21:3817-26 査読有 doi: 10.1245/s10434-014-3786-3.

〔学会発表〕(計 7 件)

Takayoshi Kaida, Hidetoshi Nitta, Yuki Kitano, Kensuke Yamamura, Risa Inoue, Kota Arima, Takaaki Higashi, Katunobu Taki, Hiromitsu Hayashi, Katsunori Imai, Daisuke Hashimoto, Akira Chikamoto, Toru Beppu and Hideo Baba

「C5a receptor promotes invasive ability of gastric cancer」AACR 2016 April 16-20, 2016 Ernest N. Morial Convention Center New Orleans (USA)

発表確定

Takayoshi Kaida, Hidetoshi Nitta,

Yuki Kitano, Kensuke Yamamura, Kota Arima, Takaaki Higashi, Katunobu Taki, Hiromitsu Hayashi, Katsunori Imai, Daisuke Hashimoto, Akira Chikamoto, Toru Beppu and Hideo Baba 「Gastric cancer obtains invasive ability via C5a receptor」 AACR /JCA Joint Conference 2016 February 16-20, 2016 Hyatt Regency Maui (Hawaii, USA)

甲斐田剛圭、新田英利、北野雄希、山村謙介、有馬浩太、東孝暁、高城克暢、林洋光、橋本大輔、近本 亮、石河隆敏、別府透、馬場秀夫 「補体 C5a 受容体を介した胃癌浸潤能の亢進」第 74 回日本癌学会学術総会 2015 年 10 月 8-10 日名古屋国際会場(愛知県・名古屋)

甲斐田剛圭、新田英利、東孝暁、高城克暢、岡部弘尚、林洋光、橋本大輔、近本亮、別府透、馬場秀夫 「胃癌における C5a 受容体高発現の予後因子としての意義」第 70 回日本消化器外科学会 2015 年 7 月 15-17 日アクトシティ浜松(静岡県・浜松市)

Takayoshi Kaida, Hidetoshi Nitta, Kota Arima, Takaaki Higashi, Katsunobu Taki, Hirohisa Okabe, Hiromitsu Hayashi, Daisuke Hashimoto, Akira Chikamoto, Toru Beppu, Hideo Baba 「Overexpression of C5a receptor becomes risk factor in gastric cancer」 AACR Annual Meeting 2015 April 18-22, 2015 Pennsylvania CONVENTION CENTER(Philadelphia, USA)

甲斐田剛圭、新田英利、有馬浩太、武山秀晶、東孝暁、高城克暢、坂本慶太、坂田和也、林洋光、近本亮、別府透、馬場

秀夫、 「Relation between expression of C5a receptor and clinicopathological factors in patients with gastric cancer」 第 73 回日本癌学会学術総会、2014 年 9 月 25-27 日パソイフコ横浜 (神奈川県・横浜市)

新田英利 今井克憲、林洋光、橋本大輔、阿部真也、近本亮、今村隆寿、別府透、馬場秀夫、 「癌細胞における補体系 C5a 受容体の発現とその意義」 第 22 回がん転移学会学術集会/総会、2013 年 7 月 11 日、ホテルブエナビスタ (長野県・松本市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

無し

6. 研究組織

(1)研究代表者

新田 英利 (NITTA, Hidetoshi)

熊本大学・医学部附属病院・非常勤診療医師

研究者番号 : 90555749

(2)研究分担者

馬場 秀夫 (BABA, Hideo)

熊本大学・大学院生命科学研究部・教授

研究者番号 : 20240905

中原 修 (NAKAHARA, Osamu)

熊本大学・医学部附属病院・非常勤診療医師

研究者番号 : 40583042

別府 透 (BEPPU, Toru)

熊本大学・医学部附属病院・特任教授

研究者番号：70301372

高森 啓史 (TAKAMAORI, Hiroshi)

熊本大学・医学部附属病院・非常勤診療医師

研究者番号：90363514

(3)研究協力者

甲斐田 剛圭 (KAIDA, Takayoshi)

熊本大学・大学院生命科学研究部・大学院生