

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 3 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860271

研究課題名(和文)新規肺癌予後マーカーS100A14の機能解析と臨床応用

研究課題名(英文)Functional analysis of S100A14 as a new prognostic marker in lung cancer

研究代表者

田中 瑞子(Mizuko, Tanaka)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：40583638

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、S100A14の転移や浸潤を促進する分子メカニズムの解明と、ヒト肺癌組織での発現とその意義についての検討を目的として行った。

臨床病理学的検討では、外科的に摘出された非小細胞肺癌219例におけるS100A14の発現を検討した。その結果、219例中108例が陽性と判定され、陽性例は陰性例に比して優位に予後不良であることが明らかとなった。細胞株を用いた実験では、S100A14は細胞膜に局在しており、またそのノックダウンにより肺癌細胞株の浸潤、遊走が抑制された。以上の結果から、S100A14は、細胞の浸潤・遊走を促進し、肺癌の予後を不良にする分子であることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The aim of the study was to clarify the clinical significance and functional role of S100A14 in lung cancer. Immunohistochemical analysis of 219 non-small lung cancer cases showed that higher expression levels of these proteins were significantly associated with a poorer prognosis. In the human lung cancer cell lines QG56, S100A14 was localized on the cell membrane. A Boyden chamber assay showed that S100A14 knockdown substantially suppressed the invasive activity of cancer cells. Our findings suggest that S100A14 protein expression may be predictive biomarkers for poorer prognosis of non-small lung cancer patients. In addition, our findings indicate that this proteins can promote invasive activity of cancer cells.

研究分野：病理学

キーワード：癌

1. 研究開始当初の背景

S100 ファミリータンパクは、EF-hand をもつカルシウム結合タンパク群であり、現在 25 のメンバーからなる。癌と S100 ファミリータンパクの関連については S100A4 を中心として現在までに 1000 以上の報告があり、肺癌、大腸癌、乳癌など多くの癌で発現し、癌細胞の運動、増殖や上皮間葉移行などの調節に関わることが知られている。S100A14 は 2004 年にクローニングされた新しい分子であるが、その機能はほとんど解明されていない。癌との関連についてはこれまでに、大腸癌、食道癌、乳癌、口腔癌等においてはその発現が予後と関連するとの報告等があるが、肺癌における発現とその悪性度に関する研究発表は全くない。

我々の研究室では、転移にかかわる遺伝子を検索するためにマウス乳癌細胞株から全身臓器へ高度な転移を示す超高転移株を分離し、細胞株の遺伝子発現を microarray 法を用いてスクリーニングを行った。その結果、S100A14 が超高転移株に特異的に高発現していたことから、転移関連候補遺伝子として着目した。S100A14 は肺癌からクローニングされた分子であり、その悪性度にも関与していることが推測された。

2. 研究の目的

本研究では、S100A14 の 1) 転移や浸潤を促進する分子メカニズムの解明、2) ヒト肺癌組織での発現と予後との相関についての検討を目的とする。これらの研究によって、転移・浸潤の新たなメカニズムを解明するとともに、S100A14 を肺癌の診断・治療へ応用する基盤を確立する

3. 研究の方法

1) 臨床病理学的検討：外科的に摘出された肺癌症例を用いて、免疫組織科学をにより S100A14 の発現と、臨床病理学的因子、予後との関連を検討する。

2) 肺癌細胞株を用いて、S100A14 の細胞内局在を検討する。また S100A14 と相互作用する分子を検索する。さらに、機能を解明するために S100A14 のノックダウンによる癌細胞

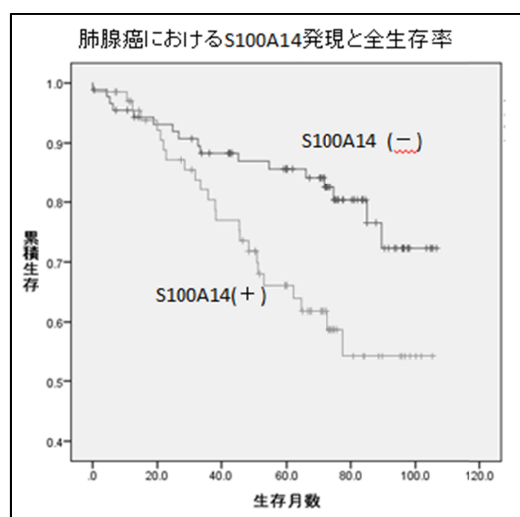
の浸潤能、運動能の変化を検討する。

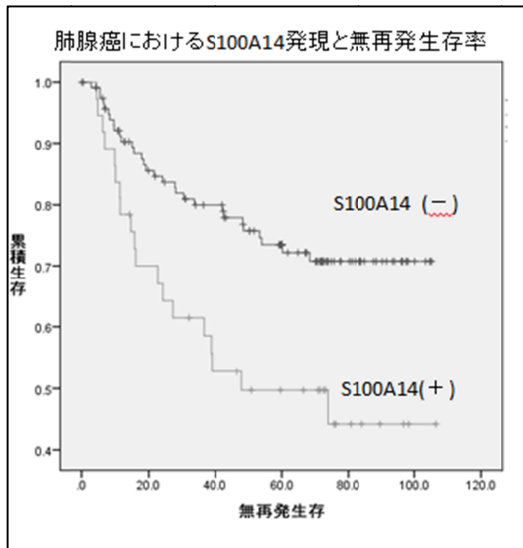
4. 研究成果

1) 臨床病理学的検討

外科的に摘出された非小細胞肺癌 219 例における S100A14 の発現を検討した。免疫組織化学を用い、S100A14 が癌細胞の細胞膜に全周性に強く染色されるものを染色強度 score2、弱い染色または不完全な膜の染色を score1、全く染色されないものを score0 と判定、染色された癌細胞の割合を%で算出した。カットオフ値の決定は ROC 解析を用いて行い、染色強度 score2 以上かつ染色された癌細胞の割合 25%以上の症例を陽性とした。この結果、219 例中 108 例が陽性と判定された。S100A14 と予後との関連について Kaplan-Meyer 解析をもちいて検討した。全組織型 (219 例) では、陽性例は陰性例に比して有意に全生存率が低かった ($p = 0.002$)。また同様に無再発生存率も S100A14 陽性例で有意に低いことが明らかとなった ($p = 0.008$)。組織型別では、腺癌 (157 例) では、陽性例の全生存率 ($p = 0.008$)、無再発生存率 ($p = 0.005$) いずれも有意な低下が見られた (下図)。扁平上皮癌およびその他の組織型では、生存率の低下傾向はあるものの有意差は認められなかった。

更に、cox 回帰分析をもちいた多変量解析では、腺癌における S100A14 は独立した予後不良因子であることが示された。





2) 実験的検討

ヒト癌細胞株を用いた蛍光免疫染色による検討では、S100A14 は主に細胞膜に存在しており、同じ S100 ファミリー分子である S100A16 と共局在していることが確認された。また免疫沈降による検討では、アクチンとカルシウム非依存性に結合していることが明らかとなった。

さらに、S100A14 による癌の悪性化のメカニズムを解明するために si-RNA を用いた実験を行った。マトリゲルをコートした Boyden chamber を用いた in vitro invasion assay では、S100A14 をノックダウンした肺癌細胞株 QG56 で有意に浸潤能が低下した。さらに、傷つけアッセイではノックダウンした細胞で遊走能の低下が観察された。

以上の結果より、S100A14 は細胞骨格のアクチンと相互作用することで肺癌の浸潤、遊走を促進し、肺癌の予後を不良にする分子であることが明らかとなった。

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 3 件)

1. Kaneko T, Kanno C, Ichikawa-Tomikawa N, Kashiwagi K, Yaginuma N, Ohkoshi C,

Tanaka M, Sugino T, Imura T, Hasegawa H, Chiba H, The liver X receptor reduces proliferation of human oral cancer cells by promoting cholesterol efflux via up-regulation of ABCA1 expression *Oncotarget* 6, 33345-33357 2015 査読有
2. Tanaka M, Ichikawa-Tomikawa N, Shishito N, Nishiura K, Miura T, Hozumi A, Chiba H, Yoshida S, Ohtake T, Sugino T, Co-expression of S100A14 and S100A16 correlates with a poor prognosis in human breast cancer and promotes cancer cell invasion *BMC Cancer* 15, 53 2015 査読有

3. 富川直樹, 杉本幸太郎, 柏木維人, 田中瑞子, 井村徹也, 千葉英樹, 細胞接着装置 - 構造・機能と疾患との関わり - 病理と臨床 32/ 5, 563-568, 2014 査読無

〔学会発表〕(計 5 件)

1. S100A14・A16 の共発現は乳癌の不良な予後と相関し, 乳癌細胞の浸潤を促進する. 田中瑞子, 穴戸奈美子, 杉野隆, 第 74 回日本癌学会学術総会 2015/10/9

2. 新規がん転移促進分子 EMU1 の機能解析 杉野隆, 阿部 将人, 中島 孝, 秋山 靖人, 田中 瑞子, 穴戸 奈美子, 第 74 回日本癌学会学術総会 2015/10/10

3. 新規がん転移促進分子 EMU1 の局在解析 穴戸 奈美子, 田中 瑞子, 阿部 将人, 杉野隆, 第 74 回日本癌学会学術総会 2015/10/10

4. 混合型小細胞癌(小細胞癌 + 扁平上皮癌)と腺癌を認めた同時多発肺癌の 1 剖検例

内田 千尋, 田中瑞子, 富川直樹, 柏木維人, 井村徹也, 千葉英樹, 第 60 回日本病理学会秋季特別総会, 2014/11/20

5. S100A14・A16 の発現は乳癌の不良な予後と相関し, 乳癌細胞の浸潤を促進する 第 103 回日本病理学会総会 2014/04/26

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 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 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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 瑞子 (Tanaka Mizuko)

福島県立医科大学・基礎病理学講座・助教

研究者番号：40583638

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：