

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 11 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861092

研究課題名(和文)コネキシン遺伝子をターゲットとした食道癌治療の可能性

研究課題名(英文)Connexin may be a candidate molecular target for an effective therapeutic intervention for patients with esophageal cancer.

研究代表者

田中 達也(TANAKA, TATSUYA)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20529169

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：組織学的に扁平上皮癌の診断とされた食道癌組織症例98例を対象として研究を行った。組織標本を抗コネキシン43抗体で免疫組織染色を行った。コネキシン43遺伝子陽性群と陰性群を比べると陽性群は有意に生存率が低かった。単変量解析で腫瘍壁深達度、リンパ節転移、リンパ管浸潤、静脈浸潤と共にコネキシン43蛋白陽性が予後因子として認められた。コネキシン43遺伝子は食道癌の進展に関わっている可能性があり、コネキシン43遺伝子の抑制による腫瘍増殖抑制や生命予後改善が期待できる可能性があることがわかった。

研究成果の概要(英文)：In the present study, Cx43 expression was analyzed by immunohistochemical staining and the associations between Cx43 expression and clinicopathological characteristics or prognosis were evaluated. Cx43 was expressed at a high frequency in patients with esophageal squamous cell carcinoma (ESCC). In patients with high Cx43 expression, the survival rates were significantly reduced compared with those in patients with low Cx43 expression. Moreover, the overexpression of Cx43, as measured by immunohistochemistry, was an independent prognostic indicator of ESCC. Thus, our data indicated that Cx43 may be a candidate molecular prognostic marker and molecular target for the development of an effective therapeutic intervention for patients with esophageal cancer.

研究分野：医歯薬学

キーワード：食道外科学 分子標的治療 ギャップジャンクション

1. 研究開始当初の背景

食道癌は消化器癌の中でも悪性度が高く、集学的治療を行っても死亡率が高いことが知られている。消化器癌において食道扁平上皮癌における分子標的薬剤を含む新規抗癌剤の研究は立ち遅れており、治療成績の向上のため新しい機序をもった新規抗癌剤の開発が急務となっている。

一方、細胞間情報伝達に関与している gap junction の構成因子であるコネキシンは近年癌との関連が指摘されている。

腎細胞癌ではコネキシン 32 が癌抑制遺伝子として作用することが示唆されており、肝細胞癌では癌の浸潤・遊走・肺転移にコネキシン 43 が関連しているとされている。また、胃癌においてもコネキシン 43 と腹膜転移との関連が指摘されている。食道癌に関してはわずかな研究のみしか行われていない。

一方、私たちはこれまで多くの食道癌手術を行い、治療だけでなく癌遺伝子と臨床データとの関係を研究し、一定の成果をあげてきた。しかし現時点では癌患者の生存率の改善までは届かなかった。そこで近年癌との関連を指摘されてきたコネキシンに注目し、食道癌の治療へつなげることを研究した。

2. 研究の目的

本計画では近年癌との関連が指摘されている細胞間接着因子である gap junction に注目し、食道癌においてどのような働きをしているか、また治療のターゲットとしての有用性を検討することとした。

3. 研究の方法

食道癌臨床検体および細胞株のコネキシン遺伝子の発現を mRNA と免疫染色で測定する。

臨床検体は測定したコネキシン遺伝子の発現量と臨床病理学的因子とを比較して統計解析を行う。

RNAi 法やコネキシン阻害剤を用いて抑制実験を行い、表現型の変化・増殖能の変化・アポトーシスなど腫瘍細胞への影響を観察する。その後コネキシン遺伝子を強制発現させるベクターを作成し、低発現の細胞株へ導入して抑制実験と同様に腫瘍細胞への影響を観察する。

4. 研究成果

98 例の食道癌組織を標本として用いてコネキシン 43 タンパク発現を免疫染色にて検討した。

組織学的に扁平上皮癌の診断をされ、術前未治療の症例を対象とした。コネキシン 43 に対する抗体を使用し、免疫染色を行った。結果は 0,1,2,3 の 4 段階に評価し、0,1 を陰性、2,3 を陽性とした。統計解析は EazyR を使用した。コネキシン蛋白の発現と臨床病理学的因子 (T 因子、N 因子、ly、v 因子、) の検討を行い、術後生存期間に関しては単変量解析、多変量解析を行った。すべての解析で $p < 0.05$ で統計学的に有意差ありとした。

(結果) コネキシン 43 蛋白の発現と臨床病理学的因子の間には統計的な有意差は認められなかった。コネキシン 43 遺伝子陽性群と陰性群を比べると陽性群は有意に生存率が低かった ($p=0.0188$)。単変量解析では腫瘍壁深達度、リンパ節転移、リンパ管浸潤、静脈浸潤と共にコネキシン 43 蛋白陽性が予後因子として認められたが多変量解析ではコネキシン 43 陽性は独立した予後因子とは認められなかった。

この結果からコネキシン 43 遺伝子は食道癌の進展に関わっている可能性があり、これの抑制による腫瘍増殖抑制や生命予後改善が期待できる可能性があることがわかった。

この成果は第 69 回日本食道学会集会、2015 年 7 月 3 日 (パシフィコ横浜・横浜市) にて発表し、さらに検討を加えて MOLECULAR AND CLINICAL ONCOLOGY, 4,2016 989-993,

Connexin 43 expression is associated with poor survival in patients with esophageal squamous cell carcinoma に発表した。

平成 26 年度の研究でコネキシン 43 タンパク発現が予後と関連があることが分かり、定量的 RT-PCR を行うこととした。食道癌細胞株 KYSE シリーズで行ったが、何度も実験を行ったが PCR での定量が困難であった。そこで他の種類のコネキシンを検討することとし、コネキシン 32 のタンパク発現を免疫染色にて予後や臨床病理学的因子と検討したが、有意な差は認められなかった。これらの結果からそれ以降の研究継続が困難であった。

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 11 件)

Tanaka T, Kimura M, Ishiguro.H, Mizoguchi. K, Takeyama.H. Connexin 43 expression is associated with poor survival in patients with esophageal squamous cell carcinoma. Mol Clin Oncol, peer reviewed, 4, 2016, 989-993
<https://www.spandidos-publications.com/mco/4/6/989>

Ishiguro H, Kimura M, Takahashi H, Tanaka T, Mizoguchi K, Takeyama H. GADD45A expression is correlated with patient prognosis in esophageal cancer. Oncol Lett, peer reviewed, 11, 2016, 277-282

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=26870203>

Kimura M, Takahashi H, Tanaka T, Sagawa H, Takeyama H. Profiling surgical staplers: Does staple direction affect the strength of the anastomosis. Dig Surg, peer reviewed, 32, 2015, 454-458

DOI: 10.1159/000440817

Kimura M, Ishiguro H, Ogawa R, Tanaka T, Mizoguchi K. A new method of esophageal bypass: Gastric tube with good flexibility and a safe anastomosis. J Am Coll Surg, peer reviewed, 221, 2015, e119-123

DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2015.09.002

Kimura M, Takahashi H, Tanaka T, Sagawa H, Takeyama H. Weak points of a stapled side-to-side anastomosis. Hepatogastroenterology, peer reviewed, 62, 2015, 924-926

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=26902029>

Kimura M, Kuwabara Y, Ishiguro H, Tanaka T, Takeyama H. Bypass operation as palliation for unresectable esophageal cancer: selection of suitable patients. Hepatogastroenterology, peer reviewed, 62, 2015, 794-796

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=26902003>

Kimura M, Ishiguro H, Tanaka T, Takeyama H. Advanced esophageal cancer with tracheobronchial fistula successfully treated by esophageal bypass surgery. Int J Surg Case Rep, peer reviewed, 9, 2015, 115-118

DOI: 10.1016/j.ijscr.2015.02.053

田中達也、竹山廣光、周術期の栄養管理、化学療法の領域、査読無、31、2015、207-216

https://www.iyaku-j.com/iyaku/system/M2-1/summary_viewer.php?trgid=29398

Mizoguchi K, Ishiguro H, Kimura M, Takahashi H, Sakamoto N, Tanaka T, Takeyama H. Induction of apoptosis by eicosapentaenoic Acid in esophageal squamous cell carcinoma. Anticancer Res, peer reviewed, 34, 2014, 7145-7150

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=25503142>

Kimura M, Kuwabara Y, Ishiguro H, Tanaka T, Takeyama H. Tracheoesophageal fistula due to a damaged tracheal stent. Case Rep Surg, peer reviewed, 2014, 2014, 1-5

DOI: 10.1155/2014/926387

Kimura M, Kuwabara Y, Ishiguro H, Ando T, Ogawa R, Shiozaki M, Tanaka T, Takeyama H. A new technique for shaping the gastric tube, using both radial and linear staplers. J Am Coll Surg, peer reviewed, 219, 2014, e15-18

DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2014.01.067

〔学会発表〕(計 4 件)

田中達也、木村昌弘、石黒秀行、坪井 謙、社本智也、中屋誠一、竹山廣光、ラディアル型・リニア型自動縫合器を使用した胃管作成法、第 70 回日本消化器外科学会総会、2015 年 7 月 15-17 日アクトシティ浜松 (静岡県・浜松市)

田中達也、木村昌弘、石黒秀行、溝口公士、竹山廣光、食道癌におけるコネクション 43 の発現の意義、第 69 回日本食道学会集会、2015 年 7 月 2-3 日、パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

田中達也、木村昌弘、石黒秀行、小川 了、溝口公士、竹山廣光、胃管作製の工夫、第 68 回日本食道学会学術集会、2014 年 7 月 3-4 日、東京ドームホテル (東京都)

田中達也、木村昌弘、石黒秀行、小川 了、齋藤慎一郎、溝口公士、竹山廣光、胃癌合併食道癌手術の検討、第 114 回日本外科学会定期学術集会、2014 年 4 月 3-5 日、国立京都国際会館 (京都府・京都市)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

田中 達也 (TANAKA, Tatsuya)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号： 20529169