

令和元年5月23日現在

機関番号：23903

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2018

課題番号：15K15295

研究課題名（和文）胃癌・大網相互コミュニケーションからみた胃癌腹膜播種メカニズムの解明

研究課題名（英文）Discovery of mechanism for peritoneal metastasis of gastric cancer: targeting cross talk between cancer cell and omentum

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・講師

研究者番号：90405192

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）：大網脂肪細胞の刺激により、有意な胃癌細胞の細胞増殖・運動能が増強した。また、大網脂肪細胞により刺激を受けた胃癌細胞と血管内皮細胞の共培養により、血管新生能が亢進することが明らかとなった。網羅的解析により、大網脂肪細胞培養液にはprotein-Xが高発現していることがわかり、protein-X familyのなかでも「Y」が有意に高発現していることが明らかになった。大網脂肪細胞から「Y」をsiRNAによりノックダウンすると、大網脂肪細胞による胃癌細胞の活性化能力は低下した。以上の現象は、腫瘍移植動物実験においても確認され、腹膜転移をともなった胃癌患者の尿中では「Y」の濃度が有意に高値を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胃癌は進行すると高頻度に腹膜転移をきたすが、そのメカニズムは全く不明であることから治療法も限定される。また腹膜転移はCTなどの画像所見にも映らず、診断も困難を極める。本研究結果により、胃癌が高頻度に腹膜転移をきたす一因を解明できたことにより、今後の新たな治療標的や腹膜転移の診断法の開発につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：Conditioned media (CM) derived from OmAd (OmAd-CM) significantly promoted proliferation and migration of GC cells compared to control media. OmAd-CM also reinforced the ability of GC cells inducing EC recruitment and tube formation. The cytokine array identified that protein-X was abundantly contained in OmAd-CM and "Y" is the most expressed among X family. Silencing "Y" from OmAd (siRNA-OmAd) inhibited OmAd-induced cell growth and migration in both GC cell lines, as well as angiogenesis. This phenomenon was validated with xenograft study and human pathological study.

研究分野：消化器癌

キーワード：胃癌 腹膜転移 脂肪 大網 血管新生

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

胃癌は高頻度に腹膜転移をきたし、治癒切除不能または再発進行胃癌の約半数において腹膜転移をみとめる点が他のがんの進展形式と比べ極めて特徴的である。腹膜転移は胃癌の予後不良因子であるだけでなく、腸閉塞や腹水貯留・疼痛など罹患者の生活の質を極めて低下させる要因となるため胃癌の腹膜転移の診断ならびに制御は胃癌治療における最重要課題であるにもかかわらず、胃癌が腹膜転移を高頻度にきたすメカニズムは不明のままである。

2. 研究の目的

大網は豊富な脂肪組織により構成され、胃癌の腹膜播種では高頻度に大網転移をきたすことから、大網内の脂肪細胞が胃癌細胞の悪性度を上昇させ、胃癌細胞を大網自らに誘導することにより腹膜転移の形成に寄与しているのではないかと考え本研究を計画した。

3. 研究の方法

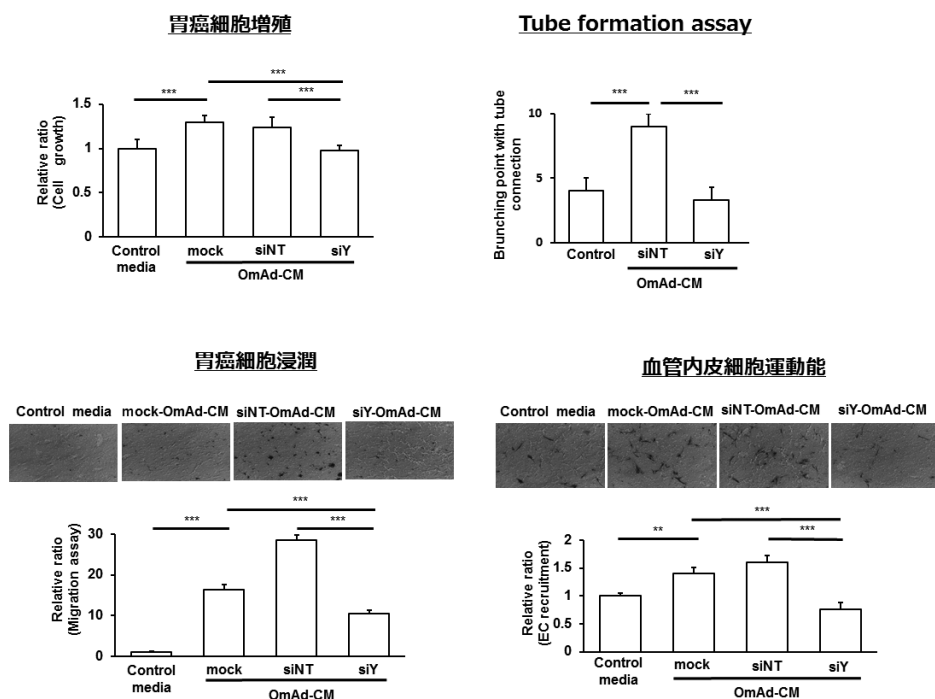
転移をもたない胃癌原発腫瘍から樹立された2種類の胃癌細胞株と、大網脂肪細胞(OmAd)、血管内皮細胞(EC)を用い、互いに共培養を行うことにより、胃癌細胞の増殖能や浸潤能、血管形成能の変化を検討した。また、OmAdの培養液中の分泌タンパク発現や、胃癌細胞中のRNA発現をELISAやウェスタンブロット、PCRを用いて検討し、メカニズムについての基礎的検討を行った。最後に胃癌細胞を用いた腫瘍移植動物モデルにおける検討も行った。

4. 研究成果

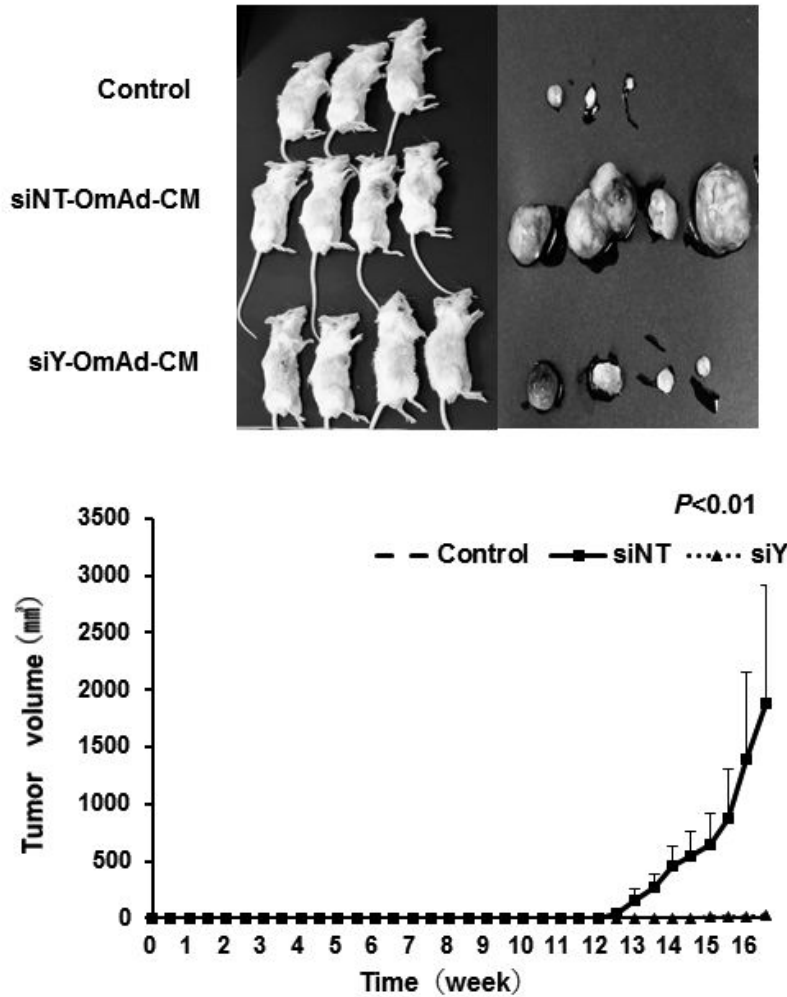
2種類の胃癌細胞をコントロール培養液とOmAdの培養液(OmAd-CM)で培養したところ、OmAdはコントロールと比較し、胃癌細胞の増殖・浸潤能を有意に亢進させた。OmAd-CMおよびコントロール培養液で刺激した後の胃癌細胞をECと共培養したところ、OmAd-CM刺激胃癌細胞はコントロール胃癌細胞と比較し、血管内皮細胞の運動能を有意に亢進させるとともにチューブ形成能を亢進させた。

次に、OmAd-CM内の網羅的なタンパク発現解析により、OmAd-CM中に分泌タンパク：protein-Yが豊富に含まれていることを見出した。さらに、OmAdからY遺伝子をsiRNAにより

ノックダウン (siY-OmAd) することにより、大網脂肪細胞による胃癌細胞増殖・浸潤能の促進作用や、血管新生増強能がブロックされることを確認した。



最後に、non-targeting-gene の siRNA によるコントロール大網脂肪細胞の培養液 (siNT-OmAd-CM) と siY-OmAd の培養液 (siY-OmAd-CM) それぞれと胃癌細胞を培養し、胃癌細胞を単独 (control) および各培養液とともに免疫不全マウス SCID マウスに皮下移植したところ siNT-OmAd-CM は control に比較し胃癌の腫瘍増殖を促進したが、siY-OmAd-CM により腫瘍増殖効果はキャンセルされた。



以上のことから、大網脂肪は、胃癌細胞に直接的に作用しその増殖・浸潤能を亢進させるともに、血管新生促進にも寄与することにより間接的にも胃癌の悪性にかかわること、またその作用の中心は大網脂肪中の protein-Y がになっていることを見出した。

本知見の詳細につき現在論文作成中であり、国際英文誌に投稿予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計4件)

1. Placental growth factor is a predictive biomarker for ramucirumab treatment in advanced gastric cancer. Natsume M, Shimura T, Iwasaki H, Okuda Y, Kitagawa M, Okamoto

Y, Hayashi K, Kataoka H. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2019 Jun;83(6):1037-1046. doi: 10.1007/s00280-019-03817-2.

2. Long-term Outcomes of One Stage Surgery Using Transanal Coloanal Tube for Acute Coloanal Obstruction of Stage II/III Distal Colon Cancer. Okuda Y, Yamada T, Hirata Y, Shimura T, Yamaguchi R, Sakamoto E, Sobue S, Nakazawa T, Kataoka H, Joh T. *Cancer Res Treat*. 2019 Apr;51(2):474-482. doi: 10.4143/crt.2018.059.
3. Urinary Cysteine-Rich Protein 61 and Trefoil Factor 3 as Diagnostic Biomarkers for Coloanal Cancer. Shimura T, Iwasaki H, Kitagawa M, Ebi M, Yamada T, Yamada T, Katano T, Nisie H, Okamoto Y, Ozeki K, Mizoshita T, Kataoka H. *Transl Oncol*. 2019 Mar;12(3):539-544. doi: 10.1016/j.tranon.2018.12.006.
4. Coloanal obstruction is a potential prognostic factor for stage II coloanal cancer. Okuda Y, Shimura T, Yamada T, Hirata Y, Yamaguchi R, Sakamoto E, Kataoka H. *Int J Clin Oncol*. 2018 Dec;23(6):1101-1111. doi: 10.1007/s10147-018-1307-2.

〔学会発表〕(計0件)

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者
研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。