

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 3 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20111

研究課題名(和文)GEP100-Arf6-AMAP1経路を介した新規尿路上皮間葉転換制御機構の解明

研究課題名(英文)Epithelial to mesenchymal transition thorough GEP100-Arf6-AMAP1 pathway in urothelial cancer

研究代表者

大門 達明(Daimon, Tatsuaki)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・助教

研究者番号：40573275

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：尿路上皮癌細胞株T24、UMUC-3におけるEPB4.1L5の発現をwestern blotting並びに免疫蛍光染色で検討した。EPB4.1L5の発現を認めた。腎盂尿管全摘除術を施行した165例を対象とした(Ta-4N0-1M0)臨床検体のホルマリン固定パラフィン包埋組織切片を抗EPB4.1L5抗体を用い免疫組織化学染色を行った。EPB4.1L5の発現をスコアと臨床病理学的所見との関連を、統計学的に解析を行った。EPB4.1L5の強発現は臨床病期、グレード、壁内脈管浸潤と有意な相関を認めた。また強発現群においては弱発現群に比し有意に無再発生存率、癌特異的生存率が低かった。

研究成果の概要(英文)：We examined EPB4.1L5 expression in urothelial cancer cells, T24 and UMUC-3 by western blotting and immunofluorescence staining. We found the EPB4.1L5 expression in those cell lines.

Retrospective analysis of the clinical records of 165 patients with UTUC (Ta-4N0M0) subjected to radical nephroureterectomy and immunohistochemical examination of EPB4.1L5 expression in those tissues. The score of EPB4.1L5 significantly correlated with tumor grade, pathological T stage, and lymphovascular invasion. The 5-year Kaplan-Meier recurrence-free survival and cancer-specific survival rates were 54.1% and 59.5% in patients with high EPB4.1L5 expression, compared with 81.6% and 87.2%, (all $p < 0.001$) in their counterparts. Multivariate analyses revealed that high expression of EPB4.1L5 was one of the independent prognostic factors for tumor recurrence and cancer specific survival.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：上皮間葉転換 尿路上皮癌

1. 研究開始当初の背景

浸潤、あるいは転移を有する難治性尿路上皮癌に対して集学的治療が行われるが、効果は限定的であり、新規治療戦略の確立が急務である。GEP100-Arf6-AMAP1 シグナル経路 (Nat Cell Biol. 2008)とその中心的な役割を果たすものとして Erythrocyte protein band 4.1-like5(EPB4.1L5) (J. Cell Biol.2008)を介した上皮間葉転換 Epithelial-Mesenchymal Transition(EMT)の制御機構が近年新たに注目され、同シグナル経路にある Arf6 や AMAP1 の腫瘍の浸潤、転移への関連が報告されてきた。

2. 研究の目的

今回、新たな癌治療戦略の確立に向け、尿路上皮癌を対象に EPB4.1L5 の発現並びに GEP100-Arf6-AMAP1 シグナル経路を介した新規 EMT 制御機構の解明を目的とする。まず始めとして EPB4.1L5 の発現と尿路上皮癌の予後との関連について検討を行った。

3. 研究の方法

(1)尿路上皮癌細胞株における EPB4.1L5 の発現を検討した。

(2)慶應義塾大学病院で腎盂尿管全摘除術を施行した 165 例を対象とした(Ta-4N0-1M0)。

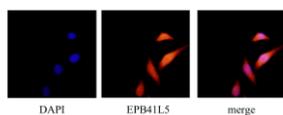
これらの手術検体のホルマリン固定パラフィン包埋組織切片を抗 EPB4.1L5 抗体を用い免疫組織化学染色を行った。EPB4.1L5 の発現をスコアと臨床病理学的所見との関連を、統計的に解析を行った。

4. 研究成果

(1)尿路上皮癌細胞株での EPB4.1L5 の発現 Western blotting、免疫蛍光染色を施行し、尿路上皮癌細胞株における EPB4.1L5 の発現を検討した。

T24、UMUC-3 においては発現を認めた。

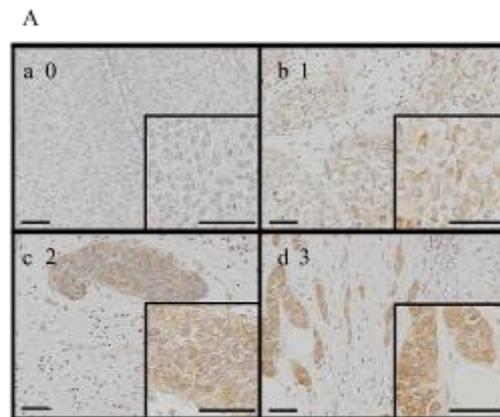
細胞免疫 T24 EPB4.1L5(1:2000)



Western blotting



(2)尿路上皮癌における EPB4.1L5 の発現



尿路上皮癌の手術検体に対して免疫組織染色を施行した。発現の強度を 0-3 にスコアリングを行った(強度×面積(%):0-300)。平均スコアは 161.2±61.1 であった。スコアが 160 以上を強発現群、160 未満を弱発現群と定義した。全 165 例のうち高発現群は 71 例、弱発現群は 94 例であった。

(3)臨床病理学的背景と EPB4.1L5 スコアとの関連

表 1 に示す。高 grade、高 stage、壁内脈管浸潤を認める症例において EPB4.1L5 スコアは有意に高かった。

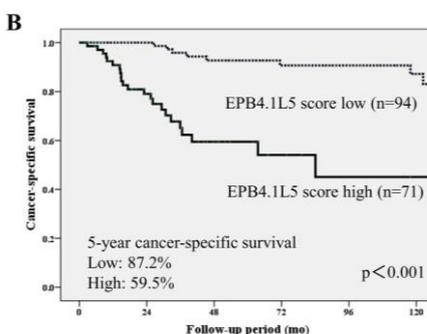
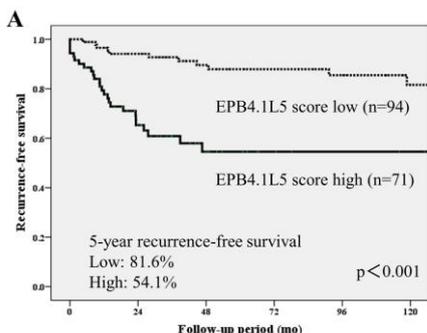
表 1

Characteristics	No. of patients	(%)	EPB4.1L5 score (mean±SD)	P-value
Age				
<70	94	57.0	155.9±61.8	0.118
≥70	71	43.0	168.3±60.0	
Gender				
Male	122	73.9	157.9±59.2	0.258
Female	43	26.1	170.7±66.0	
Tumor location				
Renal pelvis	100	60.6	156.2±61.0	0.189
Ureter	65	39.4	168.9±61.0	
Side				
Left	95	57.6	162.1±63.2	0.774
Right	70	42.4	160.0±58.6	
Pathologic tumor stage				
lower than pT2	86	52.1	137.0±55.1	<0.001
pT3 or higher	79	47.9	187.6±56.5	
Grade				
low	49	29.7	125.1±44.9	<0.001
high	116	70.3	176.5±60.8	
Lymphovascular invasion				
positive	49	29.7	189.4±59.6	<0.001
negative	116	70.3	148.1±57.3	

(4)EPB4.1L5 スコアと無再発生存率、癌特異的生存率との関連

カプランマイヤー曲線を示す。EPB4.1L5 高発現群においては弱発現群に比し有意に無再発生存率(high 54.1%、low 81.6%、p<0.001)、癌特異的生存率(high 59.5%、low 87.2%、

p<0.001)が低かった。再発、生命予後との関連が示唆された。
多変量解析においても、EPB4.1L5 スコアは grade、stage と共に再発、癌死を予測する独立した因子であった。



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 0 件)

[学会発表] (計 3 件)

- ① 発表者 Tatsuaki Daimon, Takeo Kosaka, Eiji Kikuchi, Shuji Mikami, Yasumasa Miyazaki, Ari Hashimoto, Shigeru Hashimoto, Ryuichi Mizuno, Akira Miyajima, Yasunori Okada, Hisataka Sabe and Mototsugu Oya

課題 EPB4.1L5 expression in patients with upper urinary tract urothelial carcinoma correlates with tumor recurrence 2015.10.10 日本癌学会 会場 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市)

- ②発表者 大門達明、小坂威雄、菊地栄次、三上修治、宮崎保匡、田中伸之、水野隆一、宮嶋 哲、佐邊壽孝、大家基嗣

課題 上部尿路上皮癌における Erythrocyte protein band 4.1-like5(EPB4.1L5)発現の意義 2015.6.11 日本がん分子標的学会 会場 名 松山全日空ホテル (愛媛県松山市)

- ③発表者 大門達明、小坂威雄、菊地栄次、三上修治、宮崎保匡、田中伸之、水野隆一、宮嶋 哲、佐邊壽孝、大家基嗣

課題 腎盂尿管癌での EPB4.1L5 発現の意義 2015.2.27 泌尿器分子細胞研究会 会場 名 JPタワー ホテル&カンファレンス(東京都千代田区)

[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：

6. 研究組織

(1)研究代表者

大門 達明 (Tatsuaki Daimon)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号：40573275

(2)研究分担者

菊地 栄次 (Eiji Kikuchi)
慶應義塾大学・医学部・講師
研究者番号： 10286552

小坂 威雄 (Takeo Kosaka)
慶應義塾大学・医学部・講師
研究者番号： 30445407

大家 基嗣 (Mototsugu Oya)
慶應義塾大学・医学部・教授
研究者番号： 00213885

佐邊 壽孝 (Hisataka Sabe)
北海道大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号： 40187282