

令和 2 年 5 月 26 日現在

機関番号：81303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10660

研究課題名(和文) 上皮間葉転換を基盤とした大腸癌の新規治療法および集学的治療の開発

研究課題名(英文) Development of novel therapeutics and multidisciplinary strategies for colorectal cancer based on epithelial-to-mesenchymal transition

研究代表者

三浦 康 (Miura, Koh)

地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城県立がんセンター(研究所)・がん薬物療法研究部・特任研究員

研究者番号：40282074

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：私たちの先行研究を進展させて、上皮間葉転換(epithelial-to-mesenchymal transition: EMT)を制御する候補遺伝子の機能解析を進めて難治性大腸癌の新規治療につなげるために、EMT関連候補遺伝子(Serpini1, CHST11)の解析を進めて来た。EMT形質をもつ大腸癌細胞株においてSERPINI1分泌蛋白がE-cadherinの発現を抑制しEMT形質を誘導することを明らかにした。また、ヒト大腸癌細胞のマウス盲腸への同所性移植腫瘍も解析対象としてSerpini1, CHST11遺伝子産物の免疫組織化学染色を行い、EMT誘導の役割を検証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸癌を含む上皮系悪性腫瘍は、本来の上皮細胞が形質転換することで発生しますが、その過程で間葉系細胞の特性を獲得してくることがあり(上皮間葉転換; epithelial-to-mesenchymal transition: EMT)、癌がさらに浸潤、転移する機能を獲得して癌治療を困難にすることが知られています。私たちはこれまでの先行研究において、大腸癌におけるEMT関連遺伝子を明らかにし、解析を続けてきました。難治性の大腸癌そのほかの悪性腫瘍の新しい治療につなげることを目的として、この研究を続けています。

研究成果の概要(英文)：To further promote our research (Sasaki H, et al. Cancer Sci. 2008 Apr;99(4):711-9.; Matsuda Y, et al. Cancer Sci. 2016 May;107(5):619-28.) and to develop novel therapeutics for refractory colorectal cancer through functional analyses of genes regulating epithelial-to-mesenchymal transition (EMT), we performed functional analyses of the EMT-associated genes such as Serpini1 and CHST11. With Western blotting, we clarified that SERPINI1 protein in supernatants suppressed the expression of E-cadherin in colorectal cancer cells with EMT phenotype such as SW620. The same results were found in COLO320 as well. On the other hand, similar results were not found in colorectal cancer cells such as HT-29, SW948, T84, LoVo, HCT8, HCT15, and DLD-1. This analysis is also ongoing on CHST11. We also analyzed immunohistochemical staining of SERPINI1 and CHST11 in orthotopic mice models of human colorectal cancer cells.

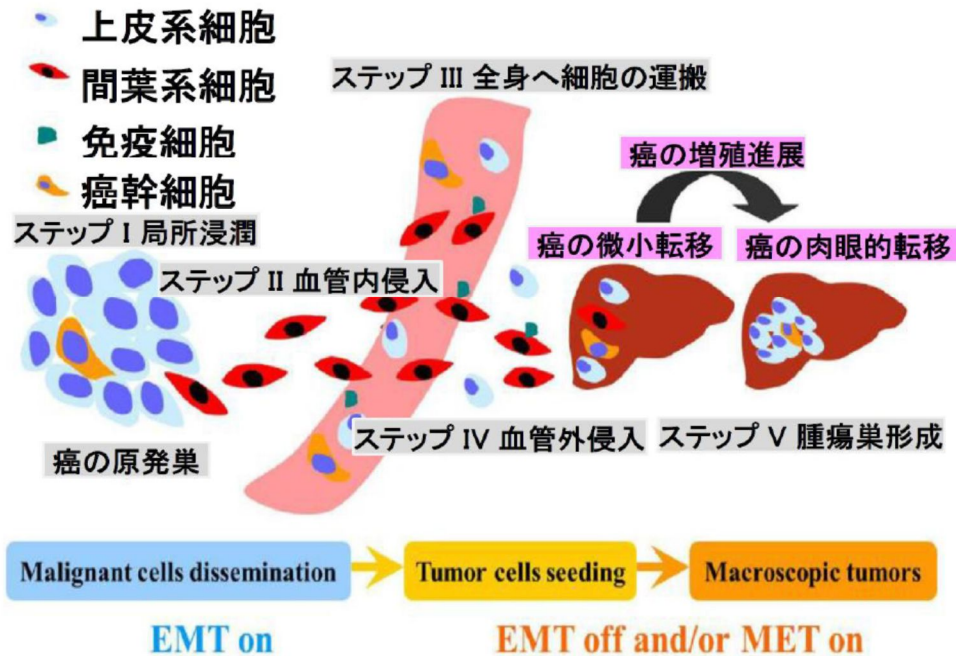
研究分野：消化器外科

キーワード：上皮間葉転換 大腸癌

1. 研究開始当初の背景

上皮間葉転換 (epithelial-to-mesenchymal transition: EMT) (図1) は、上皮細胞がその細胞極性や周囲細胞との細胞接着機能を失い、遊走能および浸潤能を得ることで間葉系様の細胞へと変化するプロセスであり、発生、創傷治癒や組織の線維化などのプロセスで重要であるのみならず、癌の浸潤と転移においても重要であり、精力的に研究が進められている分野である。しかし、分子生物学的機序の解明、治療標的の解明、治療法の開発はまだ今後の課題であり、大腸癌およびそれ以外の悪性腫瘍、個々の患者における EMT の機能的背景を明らかにすることが今後の課題である。

図1 上皮間葉転換



2. 研究の目的

私たちのヒト大腸癌細胞株のマウス盲腸への同所移植モデルの研究 (Sasaki H, et al. Cancer Sci. 2008 Apr; 99(4):711-9.) にもとづく上皮間葉転換 (EMT) の解析と、対応する cDNA マイクロアレイの発現プロファイルとの相関解析 (Matsuda Y, et al. Cancer Sci. 2016 May; 107(5):619-28.) から、EMT 関連候補遺伝子 (*Serpini1*, *CHST11*, そのほか) を絞り込んできた。本研究の目的は、これら先行する研究をさらに発展させて、EMT を制御する候補遺伝子の機能解析を進めてその機序を明らかにし、EMT の制御により大腸癌の新規治療法と集学的治療を開発することである。

3. 研究の方法

1. 検体における発現の解析

ヒト大腸癌細胞株のマウス盲腸への同所移植腫瘍の抗 *SERPINI1* 抗体および *CHST11* 抗体を用いた免疫組織化学染色にて、移植腫瘍での *SERPINI1* および *CHST11* タンパクの発現を明らかにしてその機能を明らかにし、臨床検体等においても検討を進める。

2. 候補遺伝子の in vitro での機能解析

SERPINI1、*CHST11* の E-cadherin, vimentin, そのほかの EMT 関連遺伝子の誘導など機能解析を進める。とくに *SERPINI1* は分泌型タンパクであり、細胞内および培養上清中の *SERPINI1* がヒト大腸癌細胞における EMT の機能を明らかにする。

3. 既知の EMT 遺伝子群との相互作用の解明

既知の EMT 遺伝子群 (*SNAL1*, *STAT3*, *TWIST1*, ほか) に及ぼす機能を、*SERPINI1* そのほかについて明らかにする。

4. 研究成果

1. 外科臨床をとおして切除凍結標本をティッシュバンクに保存し、対応するホルマリン固定標本の蓄積につとめ、大腸癌、胃癌、そのほかの組織を約 100 検体保存し今後の研究の基盤としてきた。

2. Western blotting にて、EMT 形質をもつ大腸癌細胞株 SW620 の培養上清中の *SERPINI1* 分泌

蛋白が E-cadherin の発現を抑制することで EMT を誘導していることを明らかにした。同様に EMT 形質をもつ大腸癌細胞株 COLO320 においても同じ傾向が得られた。このことは、EMT 形質をもたない細胞と分類された大腸癌細胞株 (HT-29, SW948, T84, LoVo, HCT8, HCT15, DLD-1 など) では確認できなかった。CHST11 が大腸癌細胞の EMT にもたらす効果についても検討中である。

3 . ヒト大腸癌細胞のマウス盲腸への同所性移植腫瘍を解析対象として、Serpini1, CHST11 遺伝子産物の免疫組織化学染色を行い、原発巣に加えて肝、肺、リンパ節、ほかの浸潤と転移における意義についても検討を進めてきた。盲腸への移植腫瘍原発巣では、腫瘍先進部において Serpini1 の発現が強く、腫瘍先進部において大腸癌は EMT 様の形質を得て浸潤さらに転移をもたらす要因になっていることが推察された。転移巣における腫瘍組織の特徴をも明らかにする必要があるが、原発巣との発現様式の比較、転移巣での発現様態の評価には、できるだけ同一の基準をもうけた評価が必要であり、今後の課題として取り組むことが必要と考えている。臨床検体においても検討を進めて、大腸癌および胃癌においてよりステージの進んだ進行癌において、Serpini1 が強く発現している傾向がある。

また、AACR-NCI-EORTC International Conference 2019: Molecular Targets and Cancer Therapeutics (October 26-30, 2019; Boston, MA)に参加し、Educational Session: Targeting Molecular Subtypes: Successes and Failures、CC6: The Genomic Landscape of Cancer and the Evolution of Tumor Heterogeneity などで Epithelial-to-mesenchymal transition を含めた癌研究および今後の展望について、討論してきた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kurosawa Koreyuki, Inoue Yui, Kakugawa Yoichiro, Yamashita Yoji, Kanazawa Kosuke, Kishimoto Kazuhiro, Nomura Miyuki, Momoi Yuki, Sato Ikuro, Chiba Natsuko, Suzuki Mai, Ogoh Honami, Yamada Hidekazu, Miura Koh, Watanabe Toshio, Tanuma Nobuhiro, Tachi Masahiro, Shima Hiroshi	4. 巻 109
2. 論文標題 Loss of protein phosphatase 6 in mouse keratinocytes enhances K-ras G12D-driven tumor promotion	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2178 ~ 2187
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13638	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Minami Yuko, Kanemura Seiki, Oikawa Tomoyuki, Suzuki Shinichi, Hasegawa Yasuhiro, Miura Koh, Nishino Yoshikazu, Kakugawa Yoichiro, Fujiya Tsuneaki	4. 巻 143
2. 論文標題 Associations of cigarette smoking and alcohol drinking with stomach cancer survival: A prospective patient cohort study in Japan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 1072 ~ 1085
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ijc.31408	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yokoyama Misa, Tanuma Nobuhiro, Shibuya Rie, Shiroki Takeharu, Abue Makoto, Yamamoto Kuniharu, Miura Koh, Yamaguchi Kazunori, Sato Ikuro, Tamai Keiichi, Satoh Kennichi	4. 巻 52(3)
2. 論文標題 Pyruvate kinase type M2 contributes to the development of pancreatic ductal adenocarcinoma by regulating the production of metabolites and reactive oxygen species	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 881-891
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2018.4258	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shiroki Takeharu, Yokoyama Misa, Tanuma Nobuhiro, Maejima Ryuhei, Tamai Keiichi, Yamaguchi Kazunori, Oikawa Tomoyuki, Noguchi Tetsuya, Miura Koh, Fujiya Tsuneaki, Shima Hiroshi, Sato Ikuro, Murata-Kamiya Naoko, Hatakeyama Masanori, Iijima Katsunori, Shimosegawa Tooru, Satoh Kennichi	4. 巻 108
2. 論文標題 Enhanced expression of the M2 isoform of pyruvate kinase is involved in gastric cancer development by regulating cancer-specific metabolism	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 931 ~ 940
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13211	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miura Koh, Shima Hiroshi, Takebe Naoko, Rhie Julie, Satoh Kennichi, Kakugawa Yoichiro, Satoh Masayuki, Kinouchi Makoto, Yamamoto Kuniharu, Hasegawa Yasuhiro, Kawai Masaaki, Kanazawa Kousuke, Fujiya Tsuneaki, Unno Michiaki, Katakura Ryuichi	4. 巻 14
2. 論文標題 Drug delivery of oral anti-cancer fluoropyrimidine agents	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Expert Opinion on Drug Delivery	6. 最初と最後の頁 1355 ~ 1366
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/17425247.2017.1316260	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sato Taku, Morita Mami, Tanaka Ryota, Inoue Yui, Nomura Miyuki, Sakamoto Yoshimi, Miura Koh, Ito Shigemi, Sato Ikuro, Tanaka Nobuyuki, Abe Jiro, Takahashi Satomi, Kawai Masaaki, Sato Masami, Hippo Yoshitaka, Shima Hiroshi, Okada Yoshinori, Tanuma Nobuhiro	4. 巻 14(6)
2. 論文標題 Ex vivo model of non-small cell lung cancer using mouse lung epithelial cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 6863 ~ 6868
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2017.7098	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yokoyama Misa, Tanuma Nobuhiro, Shibuya Rie, Shiroki Takeharu, Abue Makoto, Yamamoto Kuniharu, Miura Koh, Yamaguchi Kazunori, Sato Ikuro, Tamai Keiichi, Satoh Kennichi	4. 巻 52(3)
2. 論文標題 Pyruvate kinase type M2 contributes to the development of pancreatic ductal adenocarcinoma by regulating the production of metabolites and reactive oxygen species	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 881 ~ 891
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2018.4258	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----