

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18127

研究課題名(和文)インフラマソーム機構に関連した胃癌における血行性転移制御の解明と新規治療薬の開発

研究課題名(英文)Elucidation of hematogenous metastasis control in gastric cancer related to inflammasome mechanism and development of novel therapeutic agents

研究代表者

佐川 弘之(Hiroyuki, Sagawa)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・助教

研究者番号：60645092

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：非アルコール性脂肪肝炎(NASH)の発癌にインフラマソームの関与を示し、NASH発癌関連遺伝子としてbrain expressed, X-linked 1 (Bex1)を同定した。肝細胞癌に対するIn situ hybridization, ラット正常肝細胞株へのBex1導入, ラット肝癌細胞株での発現抑制にてBex-1の肝腫瘍増殖関与を示した。胃肝様腺癌・AFP産生胃癌が血行性転移メカニズム解明に有用と判断し、胃癌1,100症例から肝転移性胃癌, 胃肝様腺癌, AFP産生腫瘍を選定し、AFPおよびBex1の免疫組織染色, Microarray analysis施行も関連遺伝子の同定に至らなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胃癌の再発形式には、腹膜播種, リンパ節転移, 血行性転移が挙げられ, 再発機構によって治療法を選択できる状況が望ましいものの, 分子標的薬を含め再発症例という枠組みでの治療法しか現状存在しない。治療法の細分化が必要となる発案契機になった可能性がある。血行性転移のメカニズムを解明する上で, 胃肝様腺癌は, 胃の組織でありながら肝細胞癌に類似した腫瘍細胞を発生し, 早期から高頻度に転移性肝腫瘍をきたす双方の観点から, AFP産生胃癌とともに腫瘍性増殖能ならびに血行性転移メカニズム解明に注目すべき病態である可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：We demonstrated the involvement of inflammasome in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) carcinogenesis and identified brain expressed, X-linked 1 (Bex1) as a NASH carcinogenesis-related gene. In situ hybridization of hepatocellular carcinoma, transfection of Bex1 into a normal rat hepatocyte cell line, and suppression of Bex1 expression in a rat hepatocellular carcinoma cell line showed the involvement of Bex-1 in liver tumor growth. Gastric hepatoid adenocarcinoma and AFP-producing gastric carcinoma were selected from 1,100 gastric cancer cases to elucidate the mechanism of hematogenous metastasis, and liver metastatic gastric carcinoma, gastric hepatoid adenocarcinoma, and AFP-producing tumor were selected.

研究分野：消化器外科

キーワード：胃癌 転移性肝腫瘍 血行性転移 インフラマソーム Bex1遺伝子 胃肝様腺癌 AFP産生胃癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 本邦における胃癌の年間罹患数は増加傾向にあり、年間死亡者数は約 5 万人にのぼり、第 3 位と頻度が高い。さらに転移ならびに再発をきたした場合、その予後は非常に厳しいものとなる。胃癌の再発形式には、腹膜播種、リンパ節転移そして血行性転移が挙げられる。本来は、各々の再発形式に対しての治療法が必要であり、再発機構によって治療法を選択できる状況が望ましい。しかしながら現状は分子標的薬も含め再発症例という枠組みでの治療法の選択となっており、今後さらなる細分化が必要と考えた。肝転移をはじめとした血行性転移の頻度は近年増加傾向にあり、その治療法を求める需要は大きい現状にある。

(2) 炎症反応は、癌細胞による組織破壊の修復や、組織を破壊する癌細胞排除するための防御機構による応答である。しかしながらこの炎症反応が、癌細胞を刺激し、癌の微小環境や、シグナル伝達の過程を通じ悪性腫瘍の発生、その進展に影響を与えていると考えられている。炎症反応を惹起するのに重要な役割を果たすものにタンパク複合体インフラソームがある。インフラマソームの血行性転移の関わりを究明することが新たな血行性転移メカニズムにおける新境地を開拓する可能性を秘めているのではと考えた。

2. 研究の目的

本研究では、胃癌の肝転移を中心とした血行性転移の新たな分子機構を解明し、新規の胃癌治療法開発に繋げることを目指した。胃癌の血行転移に関わる分子機構にはインフラマソームの関連性が強くその機序を併せて解明し、今回の研究を足がかりとして、強いては他臓器原発腫瘍からの血行性転移の治療の発展に繋げていくことを目的とした。

3. 研究の方法

当初以下のように研究方法・手順を想定した。

- (1) 肝転移をきたした胃癌ならびに胃肝様腺癌組織による網羅的遺伝子発現解析
- (2) 肝転移をきたした胃癌ならびに胃肝様腺癌組織におけるインフラマソーム発現解析
- (3) ヒト正常胃粘膜（胃上皮）培養細胞に対して解析遺伝子の発現誘導による機能解析
- (4) ヒト胃癌由来の腺癌・肝様腺癌細胞株に対する解析遺伝子の発現抑制による機能解析
- (5) 動物実験による解析遺伝子の役割の追求

4. 研究成果

- (1) NASH 関連肝発癌ラットでの Bex1 の同定と発現増加の発見

これまでに NASH および NASH 関連肝発癌の病態の解析に Cx32ΔTg ラットが有用なモデルであると報告した。Cx32ΔTg ラットおよび同腹の野生型ラットに対し、肝化学発癌剤の投与後に、methionine, choline deficient diet を投与し、NASH および NASH 関連肝発癌を誘導した。その上で、肝発癌感受性の群間差と関連した遺伝子の発現変化を Microarray 解析した結果、Cx32ΔTg ラットで高い発現を示した遺伝子として Bex1 を同定した。

- (2) 前癌病変における Bex1 mRNA 発現上昇

In situ ハイブリダイゼーションの結果、Bex1 mRNA は肝細胞癌に有意に発現することを明らかにした。さらに Cx32ΔTg ラットで前癌病変である GST-P 陽性細胞巢においてその発現が上昇することを示した。

- (3) Bex1 の肝細胞における腫瘍性増殖能

ラット正常肝細胞株に対して Bex1 遺伝子を導入した結果、mock 細胞と比較して、有意な

細胞増殖能の上昇を認め、リン酸化 NF κ B タンパクの発現の増加を明らかにした。ラット肝癌細胞株を用いた Bex1 発現抑制実験で、細胞増殖抑制とリン酸化 NF κ B タンパクとリン酸化 JNK タンパクの発現の低下を明らかにした。

(4) 胃肝様腺癌は、胃の組織でありながら肝細胞癌に類似した腫瘍細胞（肝細胞様の好酸性の豊富な細胞質と円形ないし類円形の核を有し、索状あるいは充実性の増殖を示す）を発生し、かつ早期から高頻度に転移性肝腫瘍をきたす双方の観点から、フェトプロテイン：AFP 産生胃癌とともに腫瘍性増殖能ならびに血行性転移メカニズム解明に有用な組織像と判断した。その上で Bex1 が、胃癌の腫瘍性増殖能ならびに血行性転移に強く関与していると構想した。加えて、Bex1 に縛られることなく当科における全肝転移胃癌症例から網羅的遺伝子発現解析することでその裏付け、もしくは新たな原因遺伝子の同定に繋がるものと考えた。

(5) 胃癌に対し外科的治療を施行した 1,100 を超える症例から臨床・病理 組織学的に肝転移胃癌症例、胃肝様腺癌症例、AFP 産生腫瘍を選定した（胃肝様腺癌：5 症例、AFP 産生腫瘍：5 症例（転移性肝腫瘍切除例を含む））。

(6) 切除標本の腫瘍部位を中心に AFP および Bex1 の免疫組織染色を施行した。AFP の免疫染色から AFP 発現の多い検体を中心に Microarray analysis にて同疾患・病態に関与する Bex1 を含めたいいくつかの遺伝子の選定に着手したものの明確な関与遺伝子の同定に至らなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|