

令和 5 年 6 月 9 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：19K18156

研究課題名（和文）食道癌の浸潤におけるNOTCH1シグナルの解析

研究課題名（英文）Analysis of NOTCH1 Signal in Esophageal Cancer Invasion

研究代表者

大久保 友貴（Okubo, Tomotaka）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・助教

研究者番号：70770238

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）：食道癌の臨床検体を用いてNOTCH1の発現の違いにより予後に差があるかを検討した。NICDの発現と予後に明らかな因果関係は認められなかった。食道癌細胞株を用いてNOTCH1の強制発現や抑制を行った。増殖能などを調べるためにWST-1 assay、Ki67などの発現量を調べ、浸潤能を調べるためInvasion assayおよびE-cadherinなどの発現量を調べたが、有意な結果を得ることはできなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では食道癌におけるNOTCH1の意義の解明にはつながらなかった。

研究成果の概要（英文）：Clinical specimens of esophageal cancer were used to investigate whether there is a prognostic difference in the expression of NOTCH1. no clear causal relationship between NICD expression and prognosis was found. Esophageal cancer cell lines were used for forced expression or suppression of NOTCH1. WST-1 assay, Ki67, etc. were examined for proliferative potential, and Invasion assay and E-cadherin, etc. were examined for invasive potential, but no significant results were obtained.

研究分野：消化器外科

キーワード：食道癌 NOTCH1

1. 研究開始当初の背景

食道癌は予後不良な疾患であり、診断時には進行癌であることが多く、手術適応外である事も多い。手術適応を決定する際に、特に他臓器浸潤があるかどうかが基準となる。そのため、食道癌の癌浸潤メカニズムを解明し、浸潤のコントロールができれば、手術成績を向上させると同時に、手術治療などで予後の改善ができると思われる。

NOTCH1 シグナル経路は発癌や癌浸潤に寄与するといった報告がみられる。膜貫通タンパク質である NOTCH1 は セクレターゼによって NECD1(NOTCH1 Extra cellular domain)と NICD1 (NOTCH1 Intra cellular domain)に分割され、NOTCH1 経路が活性化される。NICD1 は核内に入り、NOTCH1 経路の下流遺伝子を活性化させて癌の浸潤が進むと考えられている。

一方、我々は大腸癌において NICD が核移行する際に β -catenin も核内へ移行し、Wnt シグナルが活性化され、癌細胞の増殖を促進することを報告しており、NOTCH1 経路の活性を抑制すると、Wnt/ β -catenin 経路も抑制され、癌細胞の増殖を抑制することも確認した。しかしながら、食道癌における β -catenin の核移行はごく少数であると報告されており、Wnt シグナルは活性化していないと考えられている。

β -catenin の関与がある大腸癌と β -catenin の関与がない食道癌を対比させて、食道癌において NOTCH1 が食道癌浸潤におけるシグナルにどのように関与するのかを検討することが、食道癌の進行の解明につながると考えられたため、本研究を行うに至った。

2. 研究の目的

本研究の目的は、 β -catenin が核に蓄積しない食道癌において、NOTCH1 シグナル活性化が浸潤へ誘導する因子を同定することである。

3. 研究の方法

以下 ~ の方法で行う。

予備実験では食道癌臨床検体の半数以上に NICD1 の核移行がみられた。つまり、食道癌においても NOTCH1 シグナルが活性化していることが示唆される。

進行(浸潤性)食道癌と非浸潤性食道癌の臨床サンプルの数を増やして、進行度や予後と NICD1 の発現の相関を確認する。また、NICD1 を強制発現させた食道癌細胞株と親株を比較して、浸潤能/増殖能を検索し、NICD1 発現との相関を解析する。

食道癌細胞株に NICD1 を強発現させた群および siNOTCH1 を用いて NOTCH1 経路を抑制した群においてマイクロアレイを行い、関連する遺伝子を抽出する(A)。臨床検体を用いて NICD1 の発現が高値である群と低値である群においてマイクロアレイを行い、関連する遺伝子を抽出する(B)。細胞株(A)および臨床検体(B)から抽出した遺伝子の中から共通しているものを抽出し NOTCH1 の癌関連遺伝子を同定する

β -catenin の発現が少ない、食道癌細胞株にベクターを用いて β -catenin を強発現する。一方、 β -catenin の発現が多い、大腸癌細胞株に siRNA を用いて β -catenin を抑制する。両者においてマイクロアレイを行い、 β -catenin に関連する遺伝子を同定する。で同定した NOTCH1 の癌関連遺伝子から β -catenin に関連する遺伝子を除外することで、NOTCH1 に関連する遺伝子をさらに絞り込む。

で同定した候補遺伝子を食道癌細胞株にベクターや siRNA を導入して強発現または抑制し、 で用いた実験方法を用いて、浸潤能や増殖能の変化を調べる。続いて、候補遺伝子を臨床検体にて確認する。候補遺伝子に対して、臨床検体で免疫染色を行い、その発現量と予後や浸潤能などとの比較検討を行う。さらには、候補遺伝子を強発現もしくは抑制した食道癌細胞株を nude mouse に移植し、増殖能や浸潤能の変化を検討する。

4 . 研究成果

食道癌の臨床検体を用いて NOTCH 1 の発現の違いにより予後に差があるかを検討した。NICD の発現と予後に明らかな因果関係は認められなかった。食道癌細胞株を用いて NOTCH1 の強制発現や抑制を行った。増殖能などを調べるために WST-1 assay を施行し、Ki67 などの発現量を調べ、浸潤能を調べるため Invasion assay を施行し E-cadherin などの発現量を調べたが、有意な結果を得ることはできなかった。

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
---------	---------