

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591592

研究課題名(和文) 大腸発癌における細胞極性異常と aPKC/PAR 系の役割

研究課題名(英文) In Carcinogenesis of colon and rectum, abnormality of tumor cell polarity is induced by expression change of aPKC/PAR system

研究代表者

市川靖史 (ICHIKAWA YASUSHI)

横浜市立大学・医学研究科・准教授

研究者番号：70254208

研究成果の概要(和文)：大腸癌の前がん病変である腺腫は、その肉眼的形態の特徴から polypoid type (PT) と laterally spreading tumor (LST) に分かれる。LST の形態学的特徴に正常粘膜細胞に置き換わるように腺腫細胞が増殖し、その極性が保たれたまま腺腫化することにある。PT では腺腫の時期から Type IV collagen の消失などの極性の消失が始まることが示唆されたが、LST では腺腫内癌でも比較的維持されていることが示された。一方 aPKC 発現は LST の腺腫、腺腫内癌では弱く、PT では強く発現することから、極性の変化に伴ってその発現強度を増すことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Both adenoma and cancer in situ of LSTs showed a unique growth morphology as neoplastic cells tend to spread along the surface of the lumen and 2 layer structure, which is different from expanding growth pattern showed by polypoid tumor or invasive cancer. Those morphological characteristics were built up by adequate coexpression of beta-catenin, type IV collagen and aPKC lambda/iota.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：大腸腺腫、aPKC、細胞極性

1. 研究開始当初の背景

上皮細胞は、形態学および機能的に極性を示す。すなわち、上皮細胞においては隣接する細胞との junctional complex (以下 JC) を境に細胞膜が apical 面と basolateral 面に分けられ、細胞質内小器官も不均一な分布を示す。このように正常上皮細胞では、生理的機能を果たすための極性(非対称性)生じ

ており、隣接する細胞とともに秩序だった組織を形成している。これに対して癌細胞は、秩序だった極性が失われ、不規則な組織構築を示す。病理学では癌の組織診断に際し、構造異型、細胞異型を示標としてきたが、極性の異常は前者を反映している。

aPKC/PAR 系は、多細胞生物間で広く保存されている分子機構で、上皮細胞の極性化に重要な機能を有している。われわれは aPKC λ/ι ,

が PAR3, PAR6 と複合体を形成して、細胞極性形成に重要な役割を果たしていることを見出し、報告してきた (Akimoto et al., EMBO J 15(4): 788-98, 1996; Izumi, Nagashima et al., J Cell Biol 143 (1): 95-106, 1998; Hirose, Nagashima et al., J Cell Sci 115(Pt12):2485-95, 2001).

以上から、癌細胞における aPKC/PAR 系異常の検討を通じて、細胞極性異常機構を理解することは癌の発生、進展機構を解明し、分子標的治療に新しい局面を開く可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では LST 大腸腺腫・大腸癌において aPKC/PAR 系構成遺伝子、蛋白の異常の検討の一環として aPKC λ/ι に着目する。ヒト悪性腫瘍では様々な程度の極性の乱れがあり、各遺伝子の変異、発現量異常、蛋白の結合障害、局在異常が生じていることが予想されるが LST では形態学上極性の異常はほとんどない。我々は研究期間中に臨床検体における aPKC λ/ι の蛋白の発現と局在 (免疫組織化学) を検討した。

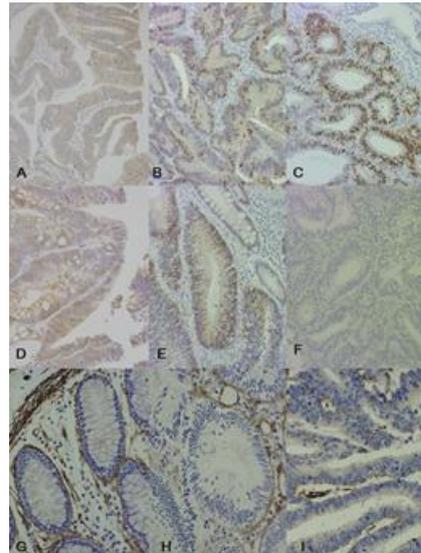
3. 研究の方法

当施設で 1998 年から 2007 年の間に切除された LST37 (腺腫 15、腺腫内癌 9、浸潤癌 13) と PT20 (腺腫 11、腺腫内癌 9) である。極性の確認として beta-catenin (Clone 14, diluted 1:100, BD Transduction Laboratories, USA)、E-cadherin (BV-6, 1:100, CHEMICON, USA)、type IV collagen (CIV 22, 1:50; DAKO, DENMARK) の免疫染色を行い、また aPKC lambda/iota の発現を免疫染色 (23PKC1 lambda/iota BD Transduction Laboratories, USA) で確認した。それぞれの染色性については細胞内の染色部位、染色強度などから grading を行い比較した。

4. 研究成果

beta-catenin は腺腫に関しては LST、PT とともに細胞膜に局在を示したが、PT の腺腫内癌の 50% で核内移行を示した。一方 LST の腺腫内癌では 10% にとどまった。E-cadherin に関しても同様の傾向であった。また type IV collagen は LST、LST 腺腫内癌では 70% 以上が維持されていたが、PT の腺腫では 30%、腺腫内癌では維持されているものはなかった。

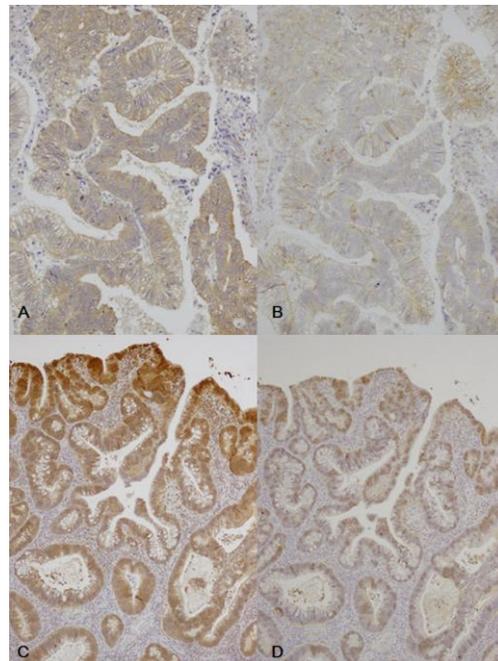
図 1



(図 1 A, B, C は beta-catenin 染色の結果である。A は細胞膜に染色性を有する正常パターン、C は核が染色される核移行パターンであり、B がその中間型である。D, E, F は E-cadherin 染色の結果である。D は細胞膜上に発現を維持する正常パターン、F は消失パターン、E が中間を示す。G, H, I は Type IV collagen 染色の結果である。G が正常パターン、I が消失パターンを示す)

aPKC 発現は LST 腺腫/腺腫内癌で 1+ が 87.5%/55.6%であったが、PT 腺腫/腺腫内癌では 2+以上が 50%/99.7%を占めた。

図 2



(図 2 A, C は aPKC の発現、B, D はそれぞれ A, C に対応した部位での beta-catenin 発現を観察している。A では aPKC の発現は弱く同部位の B では beta-catenin は細胞膜状に発

現が維持されていることから細胞極性は保たれていることがわかる。一方 D では beta-catenin の発現は核内に移行しており、極性の乱れが始まっていることが示唆され、その部位での aPKC 発現は強陽性であった。）

図 3

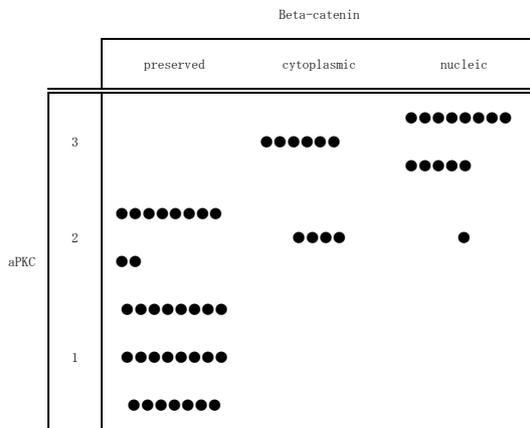
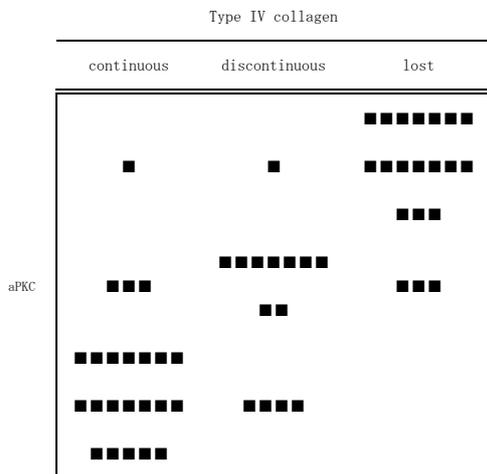


図 4



(図 3 は aPKC 発現と beta-catenin 発現の相関を見たグラフであり、図 4 は aPKC と Type IV collagen 発現の相関を見ている。図 3 での相関係数は 0.084 ($p < 0.0001$) であり図 4 では 0.832 ($p < 0.0001$) を示した。aPKC 発現と大腸腫瘍細胞の極性を示すマーカーとの間には強い相関があることが示唆された)

【結論】 PT(polyposis type tumor) では腺腫の時期から Type IV collagen の消失などの極性の消失が始まることが示唆されたが、LST では腺腫内癌でも比較的維持されていることが示された。一方 aPKC 発現は LST の腺腫、腺腫内癌では弱く、PT では強く発現することから、極性の変化に伴ってその発現強度を増すことが示唆された。以上のことから大腸腫瘍はその浸潤性がまずにつれて、細胞極性のマーカーと考えられる E-cadherin、beta-catenin、Type IV collagen の発現異常を生じ、すなわち細胞極性の乱れが生じてくるということが分かった。その際細胞極性を制御

する aPKC 発現は増強し、細胞質のみならず核内での発現も見られるようになる。これらの現象は、我々がこれまでに観察してきた胃癌、乳癌においてもほぼ同様の傾向が認められている。

【今後の展望】

がんの浸潤性に関与する細胞極性の乱れは aPKC 発現によって予測できる可能性が示唆されており、いわゆる進行大腸がんの転移再発予測因子としての価値を検討する必要がある。またこれらの因子の癌における制御が転移再発に与える影響を検討する必要があると考えられた。

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 2 件)

- ① Takagawa R, Akimoto K, Ichikawa Y, Akiyama H, Kojima Y, Ishiguro H, Inayama Y, Aoki I, Kunisaki C, Endo I, Nagashima Y, Ohno S. High expression of atypical protein kinase C lambda/iota in gastric cancer as a prognostic factor for recurrence. *Ann Surg Oncol*. 2010 Jan;17(1):81-8.
- ② Kojima Y, Akimoto K, Nagashima Y, Ishiguro H, Shirai S, Chishima T, Ichikawa Y, Ishikawa T, Sasaki T, Kubota Y, Inayama Y, Aoki I, Ohno S, Shimada H. The overexpression and altered localization of the atypical protein kinase C lambda/iota in breast cancer correlates with the pathologic type of these tumors. *Hum Pathol*. 2008 Jun;39(6):824-31

【学会発表】(計 5 件)

- ① Ichikawa Y, Nagashima Y et al., In laterally spreading type tumors (LSTs) of the colon or the rectum, expression of the atypical protein kinase C lambda/iota is correlated to expression of beta-catenin and Type IV collagen. American Association Cancer Research, 102nd Annual Meeting 2011, Orland
- ② 市川靖史 長嶋洋治ほか、Lateral Spreading type Tumors (LST) における atypical protein kinase C lambda/iota の発現 第 65 回日本消化器外科学会総会、2010
- ③ Ichikawa Y, Nagashima Y, et al., Expression of the atypical protein

kinase C combined with expression of other factors is important for determination of structures in lateral spreading type tumors of the colon or the rectum. American Association Cancer Research, 101st Annual Meeting 2010, Washington DC.

- ④ 市川靖史、長嶋洋治 他、大腸 lateral spreading tumor (LST)における atypical protein kinase C 発現の意義 (Expression of the atypical protein kinase C in lateral spreading type tumors of the colon or the rectum) 第 68 回日本癌学会総会、2009
- ⑤ Ichikawa Y. Nagashima Y, et al, Expression of the atypical protein kinase C in lateral spreading type tumors of the colon or the rectum. American Association for Cancer Research, 100st Annual Meeting, 2009 Denver, Colorado

6. 研究組織

(1) 研究代表者

市川 靖史 (ICHIKAWA YASUSHI)
横浜市立大学・医学研究科・准教授
研究者番号：7 0 2 5 4 2 0 8

(2) 研究分担者

長嶋 洋治 (NAGASHIMA YOJI)
横浜市立大学・医学研究科・准教授
研究者番号：1 0 2 1 7 9 9 5

(3) 連携研究者

()

研究者番号：