

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 17 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462045

研究課題名(和文)肝内胆管癌におけるCDH3の発現とRho familyとの関連

研究課題名(英文)Relation of P-cadherin and Rho family in intrahepatic cholangiocarcinoma

研究代表者

堀野 敬 (HORINO, Kei)

熊本大学・医学部附属病院・非常勤診療医師

研究者番号：60452900

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：今回、肝内胆管癌と膵癌におけるP-cadherinの発現は、腫瘍の浸潤・遊走に関与し、予後の指標となることが分かった。また、P-cadherinの発現はそのプロモーター領域の脱メチル化に制御されていることが示唆された。

肝内胆管癌・膵癌を中心として癌の進展と関わる因子を考察したが、EMT関連因子や幹細胞マーカーに関しては関連の可能性が低いことが分かった。Rho familyに関しては結果がでなかったが、癌の進展と関連する既知の報告もありAkt/Ark signalやSmadと共に検討を続けていく予定である。

研究成果の概要(英文)：P-cadherin overexpression may serve as a useful biomarker of invasive phenotype and poor prognosis. P-cadherin expression was found to be regulated by its promoter methylation. These results suggest that P-cadherin represents a novel therapeutic target for the treatment of intrahepatic cholangiocarcinoma and pancreatic cancer.

However, how P-cadherin affects tumor behavior is still unclear. There is a discrepancy in its role between different cancer types. We should continue a study of mechanism caused by P-cadherin overexpression.

研究分野：消化器外科(肝胆膵外科)

キーワード：P-cadherin methylation unmethylation promoter invasion migration Rho family

1. 研究開始当初の背景

東京大学医科学研究所の中村祐輔教授らとの共同研究により、膵癌組織及び正常組織における 27,648 種の遺伝子の発現をゲノムワイドの cDNA マイクロアレイを用いて解析し、正常組織にほとんど発現を認めず、膵癌組織に高発現する新規腫瘍関連抗原遺伝子として CDH3 を同定し、さらにこの HLA-A2 拘束性細胞障害性 T 細胞 (CTL) エピトープを同定、その抗腫瘍免疫誘導能について報告してきた (Clin Cancer Res 2008)。cDNA マイクロアレイ解析より、CDH3 遺伝子は膵癌以外にも、肝内胆管癌や大腸癌、胃癌など、様々な消化器癌において高発現していた。他方、正常組織ではほとんど発現がなく、分子標的治療のターゲットとしては最適なものであると考えられた。

肝内胆管癌は肝臓癌のなかでも肝細胞癌に次いで 10% 程度の割合を占める。膵癌は本邦において 4 番目に死亡数が多い癌である。近年、この両者の癌は増加傾向にあるにもかかわらず、進行した状態で発見される症例も多い。予後改善の為に発癌や予後の予測因子を探索する研究を行うことは重要である。P-cadherin は様々な癌腫において癌細胞の進展と関与している。しかし、肝内胆管癌・膵癌などの肝胆膵領域癌と P-cadherin の発現との関係については具体的な data がなく未知の部分も多い。

2. 研究の目的

P-cadherin の発現と予後の関連を明らかにし、その発現とメチル化との関係性を含め癌進展に關する作用機序を解明する。

cDNA マイクロアレイ解析より、CDH3/P-cadherin は癌細胞特異的に高発現しており、その臨床応用は副作用が軽微であることが予想される。また、CDH3/P-cadherin の発現が癌の悪性度や予後と関連するといった報告は存在するが、悪性化の機序や癌幹細胞との関連についてはほとんど分かっていない。CDH3/P-cadherin の各癌腫における機能解析は、様々な消化器癌における、効果的かつ副作用の少ない新たな癌治療、個別化治療の開発につながるものと考えられる。

3. 研究の方法

免疫染色における P-cadherin 発現と予後や臨床因子・病理因子との検討を行う。癌の進展における関連因子との検討、DNA を抽出し methyl 化との関連性との検討を行う。

4. 研究成果

肝内胆管癌・膵癌において P-cadherin (CDH3) の発現が予後との関連があり、浸潤能や遊走能との関連があることを示した。

図) 肝内胆管癌における P-cadherin 発現と DFS (a)、OS (b)

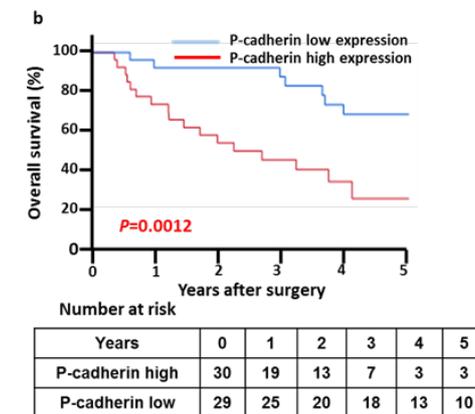
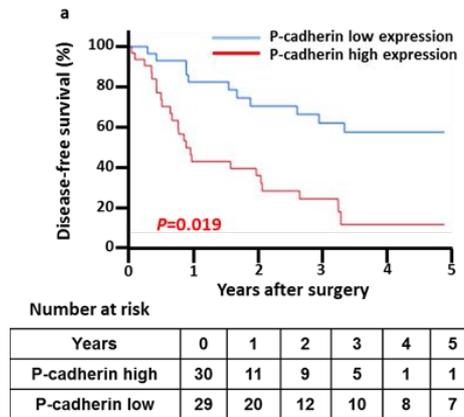
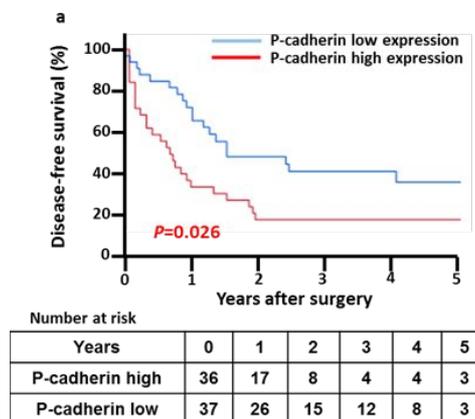
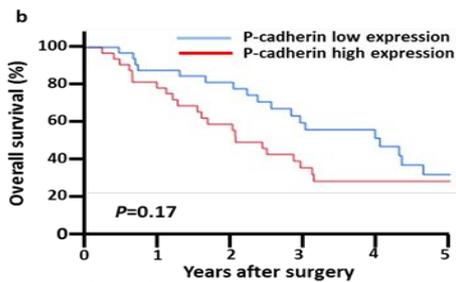


図) 膵癌における P-cadherin 発現と DFS (a)、OS (b)

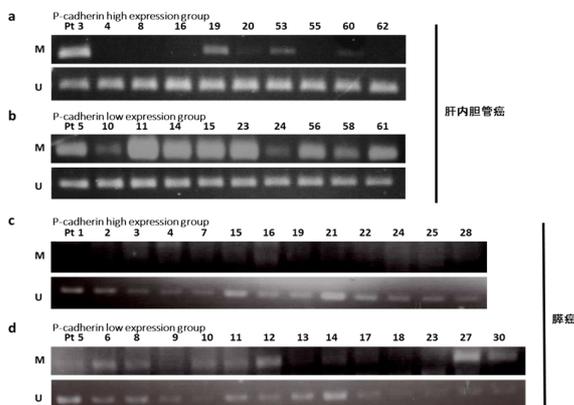




| Number at risk | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-----------------|--|----|----|----|----|----|---|
| Years | | | | | | | |
| P-cadherin high | | 36 | 29 | 19 | 9 | 6 | 5 |
| P-cadherin low | | 37 | 32 | 25 | 16 | 11 | 6 |

肝内胆管癌・膵癌における P-cadherin の発現とプロモーター領域のメチル化との関連について、メチル化特異的 PCR を用いて検討した。癌細胞株では、P-cadherin 高発現株ではそのプロモーター領域は脱メチル化されているのに対し、低発現株ではメチル化されていた。P-cadherin 低発現株において、脱メチル化剤である 5-Aza を添加したところ、プロモーター領域の脱メチル化に伴って P-cadherin の発現増加を認めた。さらに切除症例の新鮮凍結標本の癌部から DNA を抽出し、P-cadherin の発現とプロモーター領域のメチル化との関連を検討した。肝内胆管癌 20 症例 (P-cadherin 高発現・低発現症例ともに 10 症例ずつ) において、高発現群では 10 症例中 4 症例のみにメチル化を認めたのに対し、低発現群では 10 症例全てにメチル化を認めた。膵癌においては、27 症例 (P-cadherin 高発現 13 症例、低発現 14 症例) を用い、高発現群 13 症例中 4 症例のみにメチル化を認めたのに対し、低発現群では 14 症例中 12 症例にメチル化を認めた。

図) 切除標本における P-cadherin の発現とプロモーター領域のメチル化の関連 a. 肝内胆管癌、b. 膵癌



P-cadherin の発現は予後の指標となる。また、

P-cadherin の発現はそのプロモーター領域の脱メチル化に制御されている。

プロモーター領域における DNA のメチル化が、P-cadherin の発現を制御されている機序の 1 つであることが示された。メチル化異常を含むエピジェネティックな変化は可逆的な反応であり、難治癌の治療のターゲットとして非常に有用であると思われる。さらには、胃癌や乳癌などでいわれているプロモーター領域のメチル化と CDH3 の発現が、これらの癌種においても関連があるかを検討していく予定である。

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 1 件)

- Keita Sakamoto, Katsunori Imai, Takaaki Higashi, Katunobu Taki, Shigeki Nakagawa, Hirohisa Okabe, Hidetoshi Nitta, Hiromitsu Hayashi, Akira Chikamoto, Takatoshi Ishiko, Toru Beppu and Hideo Baba. Significance of P-cadherin overexpression and possible mechanism of its regulation in intrahepatic cholangiocarcinoma and pancreatic cancer. *Cancer Science*. 2015 Sep;106(9):1153-62 DOI : 10.1111/cas.12732. 査読有

[学会発表](計 6 件)

- 近本 亮、橋本 大輔、甲斐田 剛圭、有馬 浩太、東 孝暁、高城 克暢、井上 梨沙、武山 秀晶、岡部 弘尚、新田 英利、林 洋光、石河 隆敏、別府透、馬場 秀夫
「術後再発形式からみた肝内胆管癌切除術式の検討」
第 27 回日本肝胆膵外科学会・学術集会、2015 年 6 月 12 日、ホテルグランパシフィック LE DAIBA (東京都)
- 林 洋光、黒木 秀幸、馬場 秀夫
「cDNA マイクロアレイを用いた肝再生抑制因子トロンボスポンディン 1 の同定と阻害ペプチドを用いた肝再生促進療法」
第 51 回日本肝臓学会総会、2015 年 5 月 22 日、鶴屋東館 (熊本県)

3. 坂本 慶太、今井 克憲、東 孝暁、中川 茂樹、新田 英利、林 洋光、近本亮、石河 隆敏、別府 透、馬場 秀夫
「膵癌における P-cadherin の発現と予後との関連」
第 69 回日本消化器外科学会総会、2014 年 7 月 18 日、郡山市民文化センター(福島県)
4. Keita Sakamoto, Katsunori Imai, Shigeki Nakagawa, Hidetoshi Nitta, Hiromitsu Hayashi, Akira Chikamoto, Takatoshi Ishiko, Toru Beppu, Hideo BaBa.
“ P-cadherin overexpression is associated with poor prognosis in pancreatic carcinoma and is regulated by its promoter hypomethylation ”
AACR Annual Meeting 2014, 2014 年 4 月 6 日 San Diego Convention Center (サンディエゴ・米国)
5. 坂本 慶太、今井 克憲、東 孝暁、中川 茂樹、新田 英利、林 洋光、近本 亮、石河 隆敏、別府 透、馬場 秀夫
「肝胆管癌における P-cadherin の発現と予後との関連」
第 114 回日本外科学会定期学術集会、2014 年 4 月 5 日、国立京都国際会館(京都府)
6. 今井 克憲、美馬 浩介、坂本 慶太、東 孝暁、中川 茂樹、新田 英利、林 洋光、近本 亮、石河 隆敏、別府 透、馬場 秀夫
「消化器癌における CD44 発現制御機構を標的とした治療戦略」
第 114 回日本外科学会定期学術集会、2014 年 4 月 4 日、国立京都国際会館(京都府)

〔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：

〔その他〕
ホームページ等
無し

6 . 研究組織

(1)研究代表者
堀野 敬 (HORINO, Kei)
熊本大学・医学部附属病院・非常勤診療医師
研究者番号：60452900

(2)研究分担者
今井 克憲 (IMAI, Katsunori)
熊本大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：60555746

別府 透 (BEPPU, Toru)
熊本大学・医学部附属病院・非常勤診療医師
研究者番号：70301372

林 洋光 (HAYASHI, Hiromitsu)
熊本大学・医学部附属病院・非常勤診療医師
研究者番号：80625773

(3)連携研究者
無し

(4)研究協力者
坂本 慶太 (SAKAMOTO, Keita)
熊本大学・医学部附属病院・非常勤診療医師