

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10130

研究課題名(和文) 大腸癌薬物療法抵抗性の分子機構における転写メディエーターMED12異常発現の解明

研究課題名(英文) The role of MED12 expression in molecular mechanism of drug resistance of colorectal cancer

研究代表者

島田 能史 (Yoshifumi, Shimada)

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：20706460

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：転写メディエーターサブユニットであるMediator complex subunit 12 (MED12) は、癌の発育進展に關するMitogen-activated protein kinase経路および上皮間葉転換 (EMT) 關連遺伝子発現を抑制的に制御している。大腸癌100例を対象に、免疫組織化学染色を用いてMED12発現を評価すると、陽性が79例 (79%)、陰性が21例 (21%) あった。MED12発現陰性症例では、簇出、リンパ節転移、遠隔転移が有意に多かった。本研究により、大腸癌の遠隔転移の機序として、MED12発現低下によるEMTが關与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：MED12 is a transcriptional mediator complex subunit, which negatively regulates transforming growth factor- (TGF- ) pathway. TGF- pathway plays a main role of induction signals of epithelial mesenchymal transition (EMT). We aimed to investigate the clinical significance of MED12 expression in patients with colorectal cancer (CRC). A total of 100 patients diagnosed with stage I-IV CRC were enrolled. MED12 expression was evaluated using immunohistochemistry. The relationships between MED12 loss and clinicopathological characteristics were analyzed. In 100 patients, 79 and 21 patients were classified into MED12 positive and MED12 negative, respectively. MED12 negative was significantly associated with tumor budding, nodal metastasis, and distant metastasis. In conclusion, MED12 loss induces activation of TGF- pathway resulting EMT. In future, treatment strategy for patients with MED12 loss may improve the prognosis of patients with CRC.

研究分野：消化器外科

キーワード：MED12 大腸癌 転写メディエーター

1. 研究開始当初の背景

(1) Mediator complex 12 (MED12) は Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) シグナル伝達系において TGF- $\beta$ 2 receptor のグリコシル化を妨げることによりシグナル伝達をブロックし、Mitogen-activated protein kinase (MAPK) 経路および Epithelial-mesenchymal transition (EMT) 関連遺伝子発現を抑制的に制御している (図 1)。MED12 発現が低下することで、EMT が惹起され、殺細胞性抗癌剤に耐性を示すことが想定される。また、MAPK 経路において RAS 以下のシグナルが恒常的に活性化されることにより、抗 Epidermal growth factor receptor (EGFR) 抗体薬に耐性を示す可能性がある。

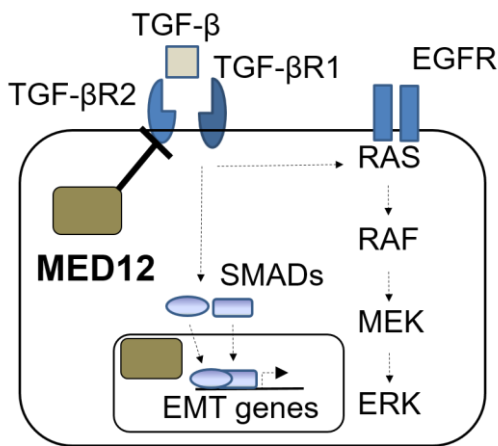


図 1 MED12 の機能

(2) 申請者らは、「大腸癌において MED12 発現低下により、TGF- $\beta$  シグナル伝達系を介した EMT が惹起される」と考えた。また、「MED12 発現低下が大腸癌の予後不良および薬物療法耐性機序に関与している」と考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、「大腸癌において MED12 発現低下が TGF- $\beta$  シグナル伝達経路を介した EMT を活性化し癌細胞の転移に関与すること、さらには MED12 発現低下が抗 EGFR 抗体薬への耐性にも関与する可能性があることを証明し、大腸癌における MED12 発現低下の臨床的意義を明らかにすること」である。

3. 研究の方法

原発巣切除を行った Stage I-IV 大腸癌 100 例を対象とした。各症例の腫瘍最大割面で連続

切片 (4 $\mu$ m 切片 2 枚) を作製し、それぞれ HE 染色と MED12 免疫染色を行った。MED12 免疫染色の評価は、癌細胞の細胞質および核が染色された場合に陽性とし、腫瘍全体の 20% 以上の癌細胞で MED12 発現が認められた場合は MED12 陽性症例、20% 未満の場合は MED12 陰性症例と定義した (図 2)。そして、MED12 発現と臨床病理学的特徴との関係を検討した。また、MED12 発現と EMT の表現型である Budding との関係を検討した (図 3)。また、MAPK 経路の RAS 遺伝子変異とそれを制御する MED12 発現との組み合わせによる抗 EGFR 抗体薬の効果予測について検討した。

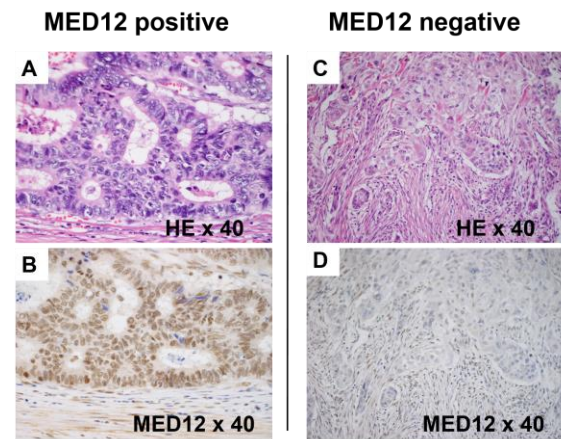


図 2 免疫染色による MED12 発現の評価

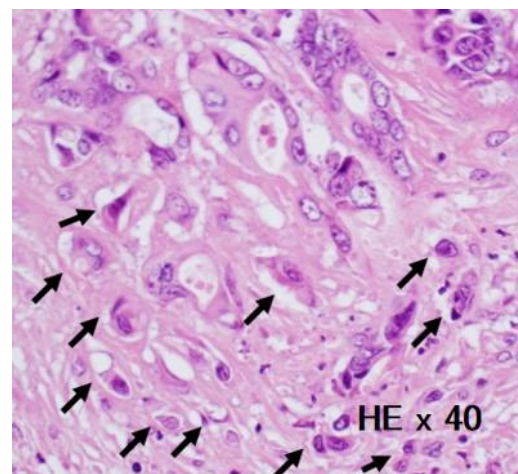


図 3 大腸癌の発育先進部における Budding 像

4. 研究成果

対象 100 例中、MED12 発現陽性症例が 79 例 (79%)、陰性症例が 21 例 (21%) あった。MED12 発現と臨床病理学的特徴との関係を解析すると、MED12 発現陰性症例では Budding が有意に多く ( $P = 0.034$ )、遠隔転移が有意に多く ( $P = 0.031$ ) (表 1)、そして遠隔転移の中でも肝臓以外の遠隔転移が有意に多かった ( $P = 0.004$ )<sup>2)</sup>。これらから、大腸癌の遠隔転移の機序として、MED12 発現低下による EMT が関与している可能性が示唆された。

Association between MED12 immunohistochemistry and other clinicopathological characteristics			
Variable	MED12 IHC		P value
	Positive (n = 79)	Negative (n = 21)	
<b>T category</b>			
T1, 2	15	4	0.999
T3, 4	64	17	
<b>Histopathological grading</b>			
G1, 2	59	17	0.775
G3	20	4	
<b>Tumor budding</b>			
Low	76	17	<b>0.034</b>
High	3	4	
<b>Lymphatic invasion</b>			
Absence	43	13	0.581
Presence	36	8	
<b>Venous invasion</b>			
Absence	23	8	0.437
Presence	56	13	
<b>N category</b>			
N0	32	9	<b>0.010</b>
N1	31	2	
N2	16	10	
<b>M category</b>			
M0	59	10	<b>0.031</b>
M1	20	11	

表 1 MED12 発現と臨床病理学的特徴

また、Stage IV の 31 例のうち 18 例が RAS 野生型であり、そのうちの 6 例は RAS 野生型であるが、MED12 発現が認められなかった (図 4)<sup>2)</sup>。したがって、RAS 野生型であっても、MED12 発現低下のために抗 EGFR 抗体薬の効果が減弱する可能性がある症例が存在することが示唆された。

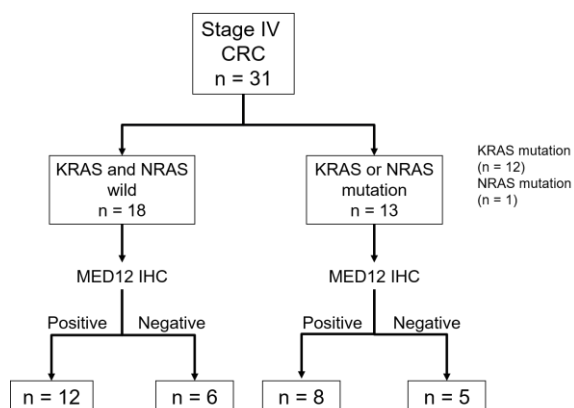


図 4 RAS 遺伝子変異と MED12 発現による抗 EGFR 抗体薬の効果予測

<引用文献>

- Huang S, Hölzel M, Knijnenburg T, Schlicker A, Roepman P, McDermott U, Garnett M, Grenrum W, Sun C, Prahallad A, Groenendijk FH, Mittempergher L, Nijkamp W, Neefjes J, Salazar R, Ten Dijke P, Uramoto H, Tanaka F, Beijersbergen RL, Wessels LF, Bernards R. MED12 controls the response to multiple cancer drugs through regulation of TGF- $\beta$  receptor signaling. *Cell* 2012;151:937-50.
- Shimada Y, Tajima Y, Kameyama H, Yagi R, Okamura T, Hirose Y, Sakata J, Kobayashi T, Matsuda Y, Ajioka Y, Kosugi SI, Wakai T. Clinical significance of MED12 expression in colorectal cancer. *Int J Clin Exp Pathol.* 2016;9:6937-44.
- 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 5 件)
- Hotta S, Shimada Y, Nakano M, Yamada S, Abe K, Oyanagi H, Yagi R, Tajima Y, Nakano M, Kameyama H, Nagahashi M, Sakata J, Kobayashi T, Wakai T. Feasibility of restorative proctocolectomy in patients with ulcerative colitis-associated lower rectal cancer: A retrospective study. *Asian J Surg.* 2018 Feb 14. pii: S1015-9584(17)30583-3. doi: 10.1016/j.asjsur.2018.01.003.
- Shimada Y, Kameyama H, Nagahashi M, Ichikawa H, Muneoka Y, Yagi R, Tajima Y, Okamura T, Nakano M, Sakata J, Kobayashi T, Nogami H, Maruyama S, Takii Y, Hayashida T, Takaishi H, Kitagawa Y, Oki

E, Konishi T, Ishida F, Kudo SE, Ring JE, Protopopov A, Lyle S, Ling Y, Okuda S, Ishikawa T, Akazawa K, Takabe K, Wakai T. Comprehensive genomic sequencing detects important genetic differences between right-sided and left-sided colorectal cancer. **Oncotarget**. 2017 Aug 24;8(55):93567-93579. doi: 10.18632/oncotarget.20510.

3. Shimada Y, Yagi R, Kameyama H, Nagahashi M, Ichikawa H, Tajima Y, Okamura T, Nakano M, Nakano M, Sato Y, Matsuzawa T, Sakata J, Kobayashi T, Nogami H, Maruyama S, Takii Y, Kawasaki T, Homma KI, Izutsu H, Kodama K, Ring JE, Protopopov A, Lyle S, Okuda S, Akazawa K, Wakai T. Utility of comprehensive genomic sequencing for detecting HER2-positive colorectal cancer. **Hum Pathol**. 2017 Aug;66:1-9. doi: 10.1016/j.humpath.2017.02.004.
4. Tajima Y, Shimada Y, Kameyama H, Yagi R, Okamura T, Kobayashi T, Kosugi SI, Wakai T. Association between poorly differentiated clusters and efficacy of 5-fluorouracil-based adjuvant chemotherapy in stage III colorectal cancer. **Jpn J Clin Oncol**. 2017 Apr 1;47(4):313-320. doi: 10.1093/jjco/hyw209.
5. Shimada Y, Tajima Y, Kameyama H, Yagi R, Okamura T, Hirose Y, Sakata J, Kobayashi T, Matsuda Y, Ajioka Y, Kosugi SI, Wakai T. Clinical significance of MED12 expression in colorectal cancer. **Int J Clin Exp Pathol**. 2016;9:6937-44.

[学会発表] (計 2 件)

1. 島田能史, 田島陽介, 亀山仁史, 八木亮磨, 岡村拓磨, 中野雅人, 坂田 純, 小

林 隆, 小杉伸一, 若井俊文. 大腸癌における転写メディエーターMED12 異常発現の臨床的意義. 第 71 回日本消化器外科学会総会 (徳島) 2016.7.16

2. Toge K, Shimada Y, Tajima Y, Kameyama H, Yagi R, Okamura T, Hirose Y, Sakata J, Kobayashi T, Ajioka Y, Wakai T: MED 12 expression may be a significant prognosis prediction in colorectal cancer. 26th World Congress of International Association of Surgeons, Gastroenterologists and Oncologists (Seoul, Korea) 2016.9.8

[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] なし

6. 研究組織  
(1)研究代表者  
島田 能史 (SHIMADA, Yoshifumi)  
新潟大学・医歯学系・助教  
研究者番号 : 20706460

(2)研究分担者  
坂田 純 (SAKATA, Jun)  
新潟大学・医歯学系・講師  
研究者番号 : 70447605

味岡 洋一 (AJIOKA, Yoichi)  
新潟大学・医歯学系・教授  
研究者番号 : 80222610

亀山 仁史 (KAMEYAMA, Hitoshi)

新潟大学・医歯学系・准教授  
研究者番号： 40626420

小杉 伸一 (KOSUGI, Shin-ichi)  
新潟大学・医歯学総合病院・教授  
研究者番号： 70447605

小林 隆 (KOBAYASHI, Takashi)  
新潟大学・医歯学総合病院・講師  
研究者番号： 40464010

(3)連携研究者

若井 俊文 (WAKAI, Toshifumi)  
新潟大学・医歯学系・教授  
研究者番号： 50372470

(4)研究協力者

なし