

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19899

研究課題名(和文)モデルマウスを用いた胃癌腹膜播種規定因子の解明と治療標的分子の探索

研究課題名(英文) Identified genetic signature stimulated peritoneal dissemination in gastric cancer

研究代表者

藏重 淳二 (KURASHIGE, Junji)

九州大学・医学研究院・助教

研究者番号：90594474

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：スキルス胃癌の終末期像といえる腹膜播種転移機序については未知な部分が多く、有効な予防法や治療法の確立のためにその分子メカニズムの解明が待たれる。現在われわれは胃癌腹膜播種モデルマウスを作成し、細胞生物学、実験動物学的視点より胃癌腹膜播種について研究を行っている。胃癌腹膜播種に関係する遺伝子の検索を行い、最終的にDDR2-PLOD2遺伝子について注目している。DDR2、PLOD2は、腹膜播種症例で高発現しており、DDR2-PLOD2 collagen axisの抑制は胃癌腹膜播種の有望な治療ターゲットであることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Molecular mechanisms driving peritoneal dissemination still remain poorly understood. Here, we aimed to provide novel insights into the molecular mechanisms that drive the peritoneal dissemination of GC. We performed combined expression analysis with in vivo-selected metastatic cell lines and samples from 200 GC patients to identify driver genes of peritoneal dissemination. We identified a peritoneal dissemination-associated expression signature, whose profile correlated with those of genes related to development, focal adhesion, and the extracellular matrix. Among the genes comprising the expression signature, we identified that genes (DDR2 and PLOD2) as a potential regulator of peritoneal dissemination. These three gene were identified as a driver gene for GC dissemination from the combined expression signature and can potentially serve as a novel therapeutic target for inhibiting GC peritoneal dissemination.

研究分野：消化器外科学

キーワード：胃癌 腹膜播種 コラーゲン DDR2 PLOD2

1. 研究開始当初の背景

スキルス胃癌は比較的若年者に発症し、短期間に浸潤・腹膜播種を起こす極めて予後の悪い腫瘍であり、その終末期像といえる腹膜播種転移機序については未知な部分が多く、有効な予防法や治療法の確立のためにその分子メカニズムの解明が待たれる。

2. 研究の目的

われわれは胃癌腹膜播種モデルマウスを作成し、細胞生物学、実験動物学的視点より胃癌腹膜播種について研究を行っている。このモデルマウスは、上述の腹膜播種転移の過程を表現しており、その解析によって、腹膜播種転移の機序や治療抵抗性などの原因を解明できると考えている。

3. 研究の方法

腹膜播種モデルマウスを用いて、腹膜播種性転移に有意に働き、胃癌患者の予後を大きく規定する遺伝子を治療標的と考えその探索を行った。

4. 研究成果

腹膜播種モデルマウスに用いる腹膜播種性転移細胞株 4 種類およびそれぞれの親株 3 種類の gene array による遺伝子発現比較と胃癌臨床サンプル 200 例の遺伝子発現情報との統合解析を行い、腹膜播種陽性症例に高発現し、予後を規定する遺伝子群の同定を行った。それぞれの腹膜播種性転移細胞株と親株との比較のなかで、HSC-58 に比較して 58As9 において高発現する遺伝子で構成した遺伝子群が、胃癌臨床検体において腹膜播種陽性症例に高発現しており、予後不良因子であることが分かった。(表 1)

gene symbol	gene name	fold change (log2)	OS p-value
HGDFRP3	hepatoma-derived growth factor, related protein 3	8.75	0.0168
GFP12	glutamine-fructose-6-phosphate transaminase 2	7.54	0.0181
CXCR7	chemokine (C-X-C motif) receptor 7	7.41	0.0127
GJA1	Gap Junction Protein, Alpha 1	7.11	0.0404
GMAP5	GTPase, MAP family member 5	6.06	0.0299
TRPC1	Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily C, Member 1	5.97	0.0071
PLOD2	procollagen-lysine, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 2	5.52	0.0002
DDR2	discoidin domain receptor tyrosine kinase 2	4.95	0.0099
FERMT2	feritin family member 2	4.50	0.0311
SERPINE2	Serpin Peptidase Inhibitor, Clade E2	4.74	0.0005
CALD1	caldesmon 1	4.16	0.0006
FGFR1	fibroblast Growth Factor Receptor 1	4.03	0.0194
GLI1	GLI Family Zinc Finger 1	3.76	0.0480
MAP1A	microtubule-Associated Protein 1A	3.30	0.0360
DZIP1	DIAZ Interacting Zinc Finger Protein 1	3.24	0.0089
RGS4	regulator of G-protein signaling 4	3.09	0.0003
SPO2	Spondin 2	3.09	0.0191
PALLD	Palladin, Cytoskeletal Associated Protein	2.94	0.00465
VCAN	versican	2.71	0.0054
CTNNA1	catenin Associated Protein 1	2.70	0.0478
LTBP1	latent Transforming Growth Factor Beta Binding Protein 1	2.64	0.0027
MYL9	myosin9	2.47	0.0019

ターであり、DDR2 は、高発現症例で予後が不良で腹膜播種陽性症例で高発現していた (Fig.1)

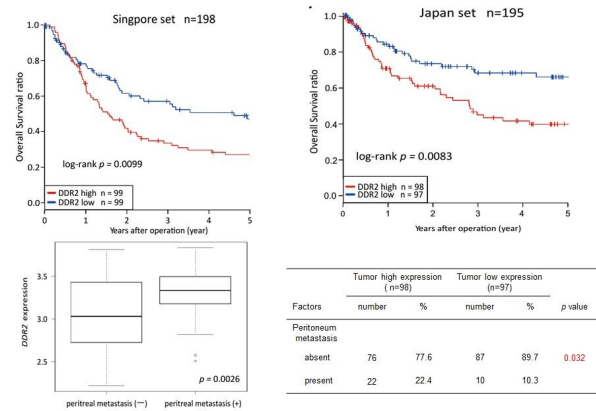


Fig.1 DDR2 の発現と胃癌の予後との関連

また、DDR2 の発現を knockdown させると、胃癌腹膜播種モデルマウスにて有意に腹膜播種の数が増加した (Fig.2)。

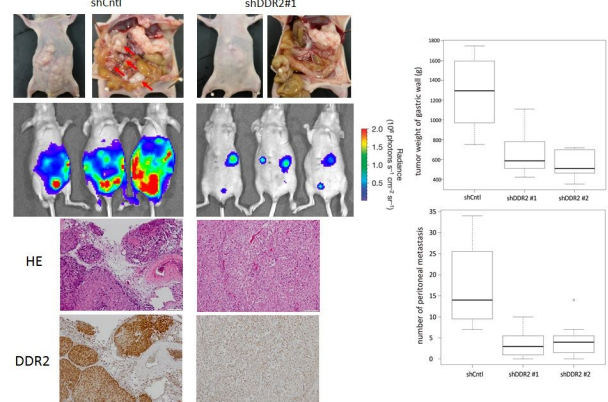


Fig.2 DDR2 の発現を抑制すると腹膜播種の数が増加される。

またコラーゲンを安定化させる分子である PLOD2 も腹膜播種陽性症例で高発現していた (Fig.3)

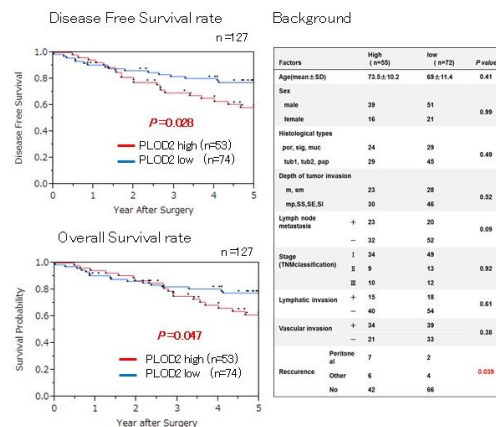


Fig.3 PLOD2 の発現と胃癌の予後との関連

コラーゲンは、いわゆる scirrhous 型胃癌の間質に広範に発現しており、発現が高い症例では、腹膜播種再発症例が多いことが分かった。胃癌間質のコラーゲンは、癌関連線維芽細胞より発現していること、また、腹膜播種陽性症例の腹水中には多くのコラーゲンが含まれておりこれらは腹膜中皮細胞から発現していることが知られている。これらの癌・癌微小環境の関係性を抑制することは今後の癌治療の新しい標的となる可能性がある。腹膜播種性転移細胞の遺伝子発現は、胃癌臨床検体における遺伝子発現ならびに臨床情報を表現しており、胃癌腹膜播種のメカニズムを解く非常に有用なツールであると思われる。その中でも DDR2、PLOD2 は、腹膜播種症例で高発現しており、DDR2-PLOD2 collagen axis の抑制は胃癌腹膜播種の有望な治療ターゲットであることが示唆された。

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 3 件)

1. Kurashige J, Hasegawa T, Niida A, Sugimachi K, Deng N, Mima K, Uchi R, Sawada G, Takahashi Y, Eguchi H, Inomata M, Kitano S, Fukagawa T, Sasako M, Sasaki H, Sasaki S, Mori M, Yanagihara K, Baba H, Miyano S, Tan P, Mimori K. Integrated Molecular Profiling of Human Gastric Cancer Identifies DDR2 as a Potential Regulator of Peritoneal Dissemination. *Sci Rep.* 2016 Mar 3;6:22371. doi: 10.1038/srep22371.
2. Uchi R, Takahashi Y, Niida A, Shimamura T, Hirata H, Sugimachi K, Sawada G,

Iwaya T, Kurashige J, Shinden Y, Iguchi T, Eguchi H, Chiba K, Shiraishi Y, Nagae G, Yoshida K, Nagata Y, Haeno H, Yamamoto H, Ishii H, Doki Y, Iinuma H, Sasaki S, Nagayama S, Yamada K, Yachida S, Kato M, Shibata T, Oki E, Saeki H, Shirabe K, Oda Y, Maehara Y, Komune S, Mori M, Suzuki Y, Yamamoto K, Aburatani H, Ogawa S, Miyano S, Mimori K. Integrated Multiregional Analysis Proposing a New Model of Colorectal Cancer Evolution. *PLoS Genet.* 2016 Feb 18;12(2):e1005778. doi: 10.1371/journal.pgen.1005778. eCollection 2016 Feb.

3. Shinden Y, Ueo H, Tobo T, Gamachi A, Utou M, Komatsu H, Nambara S, Saito T, Ueda M, Hirata H, Sakimura S, Takano Y, Uchi R, Kurashige J, Akiyoshi S, Iguchi T, Eguchi H, Sugimachi K, Kubota Y, Kai Y, Shibuta K, Kijima Y, Yoshinaka H, Natsugoe S, Mori M, Maehara Y, Sakabe M, Kamiya M, Kakareka JW, Pohida TJ, Choyke PL, Kobayashi H, Ueo H, Urano Y, Mimori K. Rapid diagnosis of lymph node metastasis in breast cancer using a new fluorescent method with γ -glutamyl hydroxymethyl rhodamine green. *Sci Rep.* 2016 Jun 9;6:27525. doi: 10.1038/srep27525.

[図書] (計 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 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 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

藏重 淳二 (KURASHIGE, Junji)

九州大学・医学研究院・助教

研究者番号：90594474

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：