

令和元年6月25日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10492

研究課題名(和文) iPS因子(KLF4)に着目した胃癌治療効果予測

研究課題名(英文) Role of KLF4 expression in gastric cancer.

研究代表者

橋本 伊佐也 (Hashimoto, Isaya)

富山大学・附属病院・助教

研究者番号：50649283

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)：・胃癌治療の効果予測や、胃癌の予後予測を目的として、iPS誘導因子のKLF4および、血中浮遊癌細胞に着目して研究を行なった。  
・胃癌切除組織でのKLF4の発現低下は、統計学的に有意に予後不良な結果を示した。また胃癌細胞株を用いた研究では、KLF4の発現を低下させることにより、癌細胞の転移能力(浸潤、遊走)が上がる結果を得た。更に切除組織でKLF4発現が亢進している、胃癌患者血中の浮遊癌細胞を同定に成功し、元々の胃癌とは異なり、KLF4発現およびE-Cadherin発現が低下している結果を得た。KLF4発現の低下は、転移能力の獲得と関連があると考えられた。(現在論文準備中)

研究成果の学術的意義や社会的意義

胃癌切除組織を用いた解析で、iPS誘導因子のKLF4の胃癌組織での発現低下は、強力な予後不良因子であった。また、特殊なチップを用いて、血中浮遊癌細胞の同定に成功した。組織ではKLF4発現が低下しているが、血中の癌細胞ではKLF4および転移能の1つの指標であるE-cadherinの発現の低下を認めた。以上から胃癌がより予後不良となる転移能を獲得する状態ではKLF4の発現が関わっていることが示唆された。今後は更に研究を進め、胃癌組織および血中浮遊癌細胞での、KLF4発現状況に応じた、抗がん剤、分子標的治療薬の効果予測が可能となれば、新たな胃癌治療のツールとなり得る。

研究成果の概要(英文)：To predict treatment effect and prognosis in gastric cancer, we analyzed the gastric cancer tissue and cells focusing at KLF4 and circulating tumor cells (CTC). In this study, the expression of KLF4 in human gastric cancer specimens were investigated by immunohistochemistry and analyzed with respect to clinicopathological characteristics, revealing that decreased KLF4 expression was associated with poor prognosis in these patients. In gastric cancer cell line, down regulation of KLF4(using SiRNA) showed enhancements of metastatic properties such as, cell migration and invasion. And we successfully identified CTCs in the gastric cancer patient. In this patient, resected specimen showed higher KLF4 expression but in the CTC analysis showed lower expression of KLF4 and E-Cadherin. KLF4 may exert a suppressive effect on the proliferation and metastasis of this type of cancer. Furthermore, the expression and activity of KLF4 in CSCs may be an important direction for cancer research.

研究分野：消化管外科学

キーワード：胃癌の予後、治療予測 サロゲートマーカー 血中浮遊癌細胞 KLF4 iPS誘導因子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

胃癌に対する化学療法において、有用なサロゲートマーカーは存在しない現状があり、各化学療法における効果予測因子の同定が必要である。iPS 誘導因子はそれらの発現の有無が種々の癌腫での発癌や予後因子となることが報告されており、我々はこれまでに iPS 誘導因子の内 KLF4 の発現低下が胃癌切除後の独立した予後不良因子であることを報告してきた。

### 2. 研究の目的

KLF4 に着目し胃癌組織及び、胃癌患者末梢血中 CTC(Circulating tumor cells)の KLF の発現の有無が胃癌治療のサロゲートになりうるかを検証する。

### 3. 研究の方法

1) 胃癌切除標本より Tissue Micro Array を作製し、(既作製に加えて)KLF4 を含めた iPS 因子の免疫組織染色を行い、その発現強度と予後、臨床病理学的因子との関係を確認する。

2) 各種胃癌細胞株を用いた解析(KLF4 の発現, KLF4 の knock down と overexpression)

3) 胃癌患者より末梢血を採取し、CTSC を同定、採取し遺伝子解析を行うとともに、治療前後での CTCS 数の変化、KLF4 の発現強度を解析し、臨床データとの関連を比較検討する。

### 4. 研究成果

・胃癌切除組織での KLF4 の発現低下は統計学的に有意に予後不良な結果を示した (論文掲載)。また胃癌細胞株を用いた研究では、KLF の発現を低下させることにより、癌細胞の転移能力 (浸潤、遊走) が上がる結果を得た。更に切除組織で KLF4 発現が亢進している、胃癌患者血中の浮遊癌細胞を同定に成功し、元々の胃癌とは異なり、KLF4 発現および E-Cadherin 発現が低下している結果を得た。KLF4 発現の低下は、転移能力の獲得と関連があると考えられた。(論文準備中)

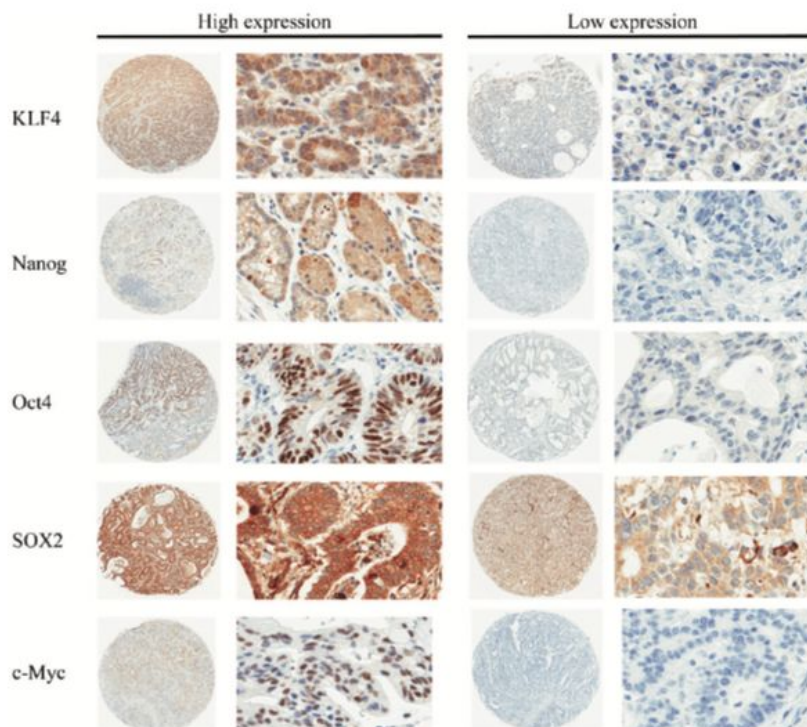


Figure 1. Immunohistochemical analysis of pluripotency-inducing factors in human gastric cancers. Immunohistochemistry was performed using antibodies against KLF4, Nanog, Oct4, SOX2 and c-Myc on tissue microarray slides. Representative slides are shown (circular images, x40 magnification; rectangular images, x400 magnification). KLF4, Krüppel-like factor 4; Oct4, octamer-binding transcription factor 4; SOX2, sex-determining region Y-box 2; c-Myc, avian myelocytomatosis viral oncogene homolog.

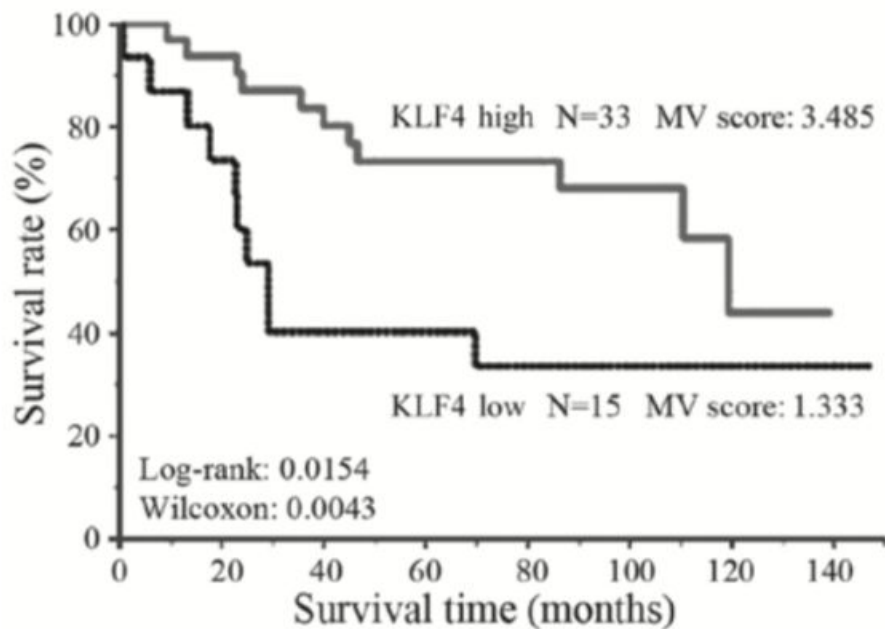
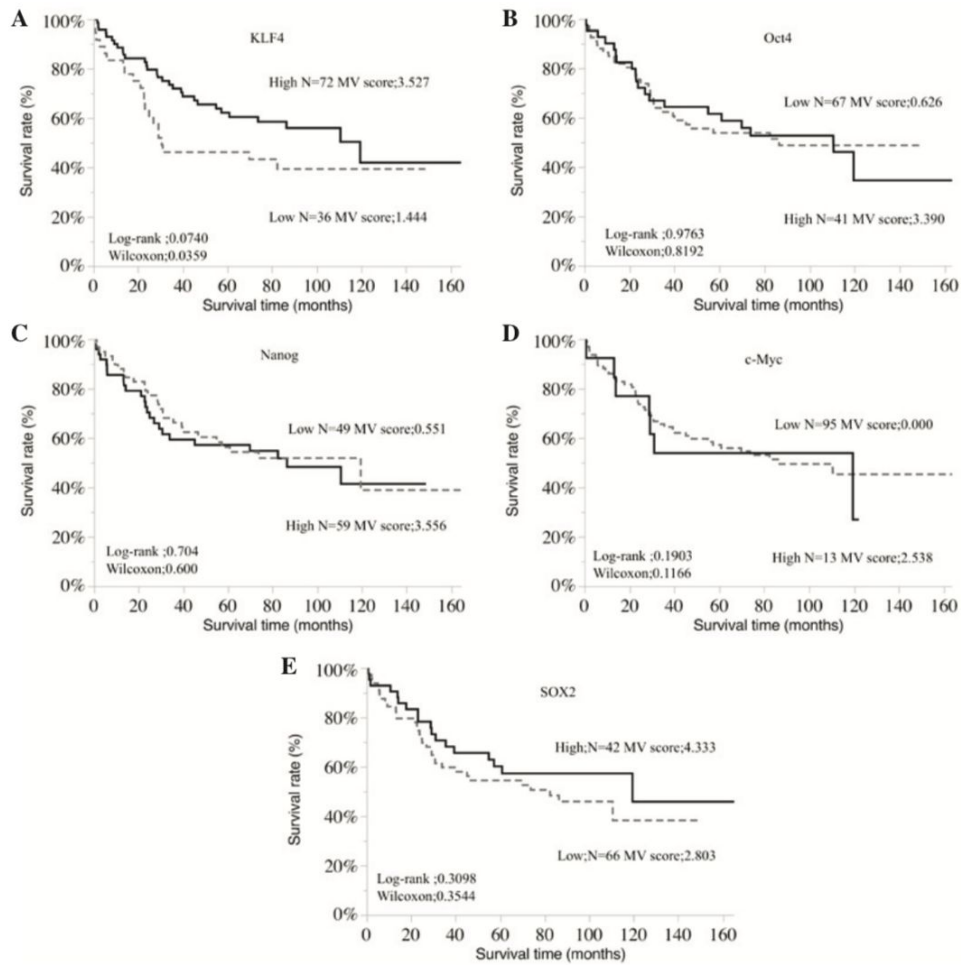


Table III. Univariate (log-rank) and multivariate (Cox proportional hazards) analyses of the association between patient characteristics and prognosis in gastric cancer.

A, All stages				
Factor	Univariate	Multivariate		
	P-value	Risk ratio	95% CI	P-value
Gender (male vs. female)	0.157	1.58	0.768-1.928	0.426
Age ( $\geq 70$ vs. $< 70$ years)	0.135	1.20	0.917-2.803	0.100
Tumor invasion ( $\geq T3$ vs. $< T3$ )	$< 0.001^a$	1.83	1.159-2.892	0.007 <sup>a</sup>
Number of metastatic LNs ( $\geq 7$ vs. $< 7$ )	$< 0.001^a$	1.28	0.754-2.211	0.358
M stage (1 vs. 0)	$< 0.001^a$	1.98	1.143-3.366	0.015 <sup>a</sup>
Lymphovascular invasion (+ vs. -)	$< 0.001^a$	1.82	1.127-2.935	0.010 <sup>a</sup>
Vascular invasion (+ vs. -)	0.026 <sup>a</sup>	1.33	0.858-2.056	0.200
Tumor size ( $\geq 5$ vs. $< 5$ cm)	0.029 <sup>a</sup>	1.16	0.738-1.855	0.507
KLF4 expression (low vs. high)	0.036 <sup>a</sup>	2.04	1.118-3.682	0.033 <sup>a</sup>
Nanog expression (low vs. high)	0.600	-	-	-
Oct4 expression (high vs. low)	0.819	-	-	-
SOX2 expression (high vs. low)	0.354	-	-	-
c-Myc expression (high vs. low)	0.896	-	-	-

B, Stage II-III				
Factor	Univariate	Multivariate		
	P-value	Risk ratio	95% CI	P-value
Gender (male vs. female)	0.103	4.68	1.143-32.195	0.030 <sup>a</sup>
Age ( $\geq 70$ vs. $< 70$ years)	0.175	1.91	0.607-5.512	0.256
Tumor invasion ( $\geq T3$ vs. $< T3$ )	0.027 <sup>a</sup>	1.93	0.740-5.162	0.176
Lymphovascular invasion (+ vs. -)	$< 0.001^a$	4.52	1.178-22.472	0.027 <sup>a</sup>
Vascular invasion (+ vs. -)	0.010 <sup>a</sup>	3.42	0.792-13.944	0.096
Number of metastatic LNs ( $\geq 7$ vs. $< 7$ )	0.001 <sup>a</sup>	1.12	0.342-3.379	0.854
KLF4 expression (low vs. high)	0.004 <sup>a</sup>	4.39	1.578-12.808	0.005 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Statistically significant (P<0.05). CI, confidence interval; LN, lymph node; M stage, metastasis stage; KLF4, Krüppel-like factor 4; Oct4, octamer-binding transcription factor 4; SOX2, sex-determining region Y-box 2; c-Myc, avian myelocytomatosis viral oncogene homolog.

## 5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

### Prognostic significance of KLF4 expression in gastric cancer

Isaya Hashimoto et al. ONCOLOGY LETTERS 13: 819-826, 2017

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

## 6 . 研究組織

富山大学大学院 医学薬学研究部 (医学) 消化器・腫瘍・総合外科

(1)-1 研究分担者

研究分担者氏名：長田 拓哉

ローマ字氏名：Nagata Takuya

所属研究機関名：富山大学

部局名：附属病院

職名：講師

研究者番号 (8 桁)：40303242

(1)-2 研究分担者

研究分担者氏名：奥村 知之

ローマ字氏名：Okumura Tomoyuki

所属研究機関名：富山大学

部局名：附属病院

職名：講師

研究者番号(8桁): 10533523

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。