

研究種目：基盤研究(C)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19590346  
 研究課題名(和文) 転写因子PBX1を介した抗アポトーシス経路と転移との関連の解明  
 研究課題名(英文) Importance of anti-apoptotic pathway via transcription factor PBX1 in metastasis  
 研究代表者  
 富田 裕彦(TOMITA YASUHIKO)  
 地方独立行政法人大阪府立病院機構  
 大阪府立成人病センター(研究所)・病理・細胞診断科・部長  
 研究者番号：60263266

研究成果の概要：研究者はValosin-containing protein (VCP)の転写制御因子としてPre B cell leukemia transcription factor 1 (PBX1)を同定した。本研究は、これまでの研究を進展させ、癌細胞のVCP転写メカニズムをさらに詳細に検討すること、転写因子PBX1の重要性についての詳細な検討を行なうことを目的として行なった。その結果、VCP転写にはPBX1以外にE74-like factor 2が重要な役割をすること、肺腫瘍においては、PBX1よりむしろそのファミリーのPBX2が転写に重要な役割を果たすことが確認された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：がん、転移、抗アポトーシス

#### 1. 研究開始当初の背景

研究者は、cDNA subtraction hybridization法を用い見いだした *Valosin-containing protein (VCP)* の転移における役割について検討してきた。*VCP* 導入された細胞において、抗アポトーシス性の向上、転移率の増加が観察された。様々なヒト臨床がんにおいても、*VCP* 発現と転移、予後との関連が確認された。*VCP* の mRNA レベルでの発現と蛋白質レベルでの発現が関連していたため、*VCP* の発現調節は主として転写レベルで制御されると考え、*VCP* 転写制御機構の検討を行なった。レポーターアッセイによる検討から、転写因子 Pre B

cell leukemia transcription factor 1 (PBX1)に着目し、クロマチン免疫共沈法により *VCP* 5' 領域塩基配列と PBX1 との結合を確認した。PBX1 siRNA 発現プラスミドの導入により、PBX1 発現を抑えると *VCP* 発現も抑制され、PBX1 が *VCP* 転写に必要な転写因子であることを確認した。

#### 2. 研究の目的

(1) *VCP* プロモーター領域をさらに検討し、*VCP* 転写に関与する PBX1 以外の転写因子を見いだす。

(2) PBX1 あるいは、そのファミリーに属する転写因子が実際のヒト癌において、VCP の転写に機能しているかどうかを検討し、さらにそれらの因子の予後因子としての重要性を検討する。

### 3. 研究の方法

(1) ヒトならびにマウスの VCP プロモーター領域のゲノム配列を比較し、その共通となる塩基配列に結合する可能性のある転写因子を調べる。見いだされた転写因子が実際に VCP プロモーター配列に結合することを Chromatin immunoprecipitation (ChIP) assay にて確認し、さらにその転写因子に対する siRNA の導入で VCP 発現が低下することを確認する。

(2) PBX1 ならびにそのファミリーに属する転写因子の発現を肺癌において検討する。その発現の臨床病理学的な意義について検討を行なう。

### 4. 研究成果

(1) ヒトならびにマウスの VCP プロモーター領域のゲノム配列の比較により、両者の共通部分に結合する転写因子 E74-like factor 2/new Ets-related factor (ELF2/NERF) に着目した。ChIP assay により、ELF2/NERF の VCP プロモーター塩基配列への結合を確認した(図 1 A)。ELF2/NERF siRNA の導入により ELF2/NERF とともに、VCP の発現低下を Western blot 法により確認した(図 1 B)。

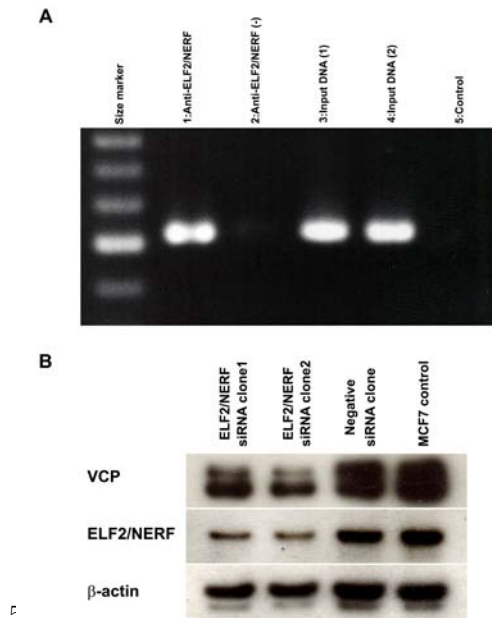


図 1

蛍光免疫染色においても ELF2/NERF siRNA 導入細胞において、ELF2/NERF、ならびに VCP

蛋白質の発現低下を確認した(図 2 A)。ELF2/NERF siRNA 導入細胞株においては、コントロール群に対し、有意に TNF $\alpha$  刺激後の生存率の低下が確認された(図 2 B)。

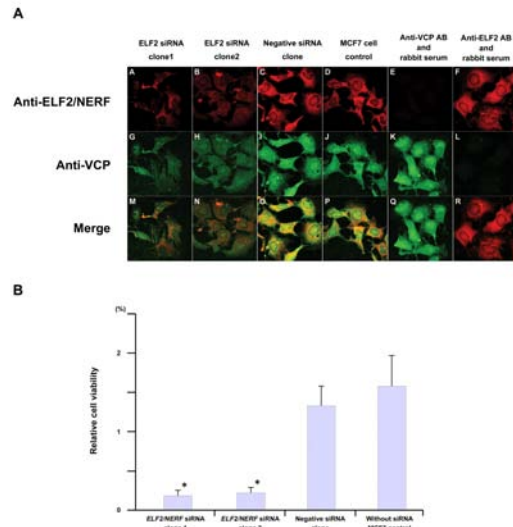


図 2

以上の検討により、ELF2/NERF が VCP の重要な転写因子であることが示唆された。

(2) 肺癌細胞株において、siRNA の導入による VCP の発現抑制を検討したところ、PBX1 より PBX2 のほうが発現抑制効果が強いことが確認された(図 3)。

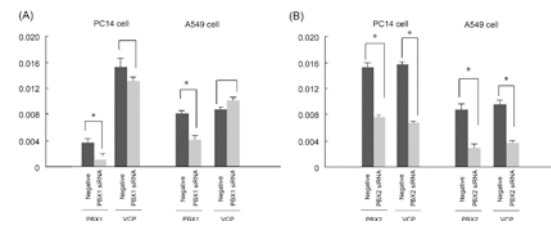


図 3

ChIP assay により PBX2 の VCP プロモーター領域への結合を確認した。ヒト肺癌において、PBX2 の発現は VCP 発現とよく相関し、PBX2 発現が肺癌予後因子としても有用であることを確認した(図 4)。

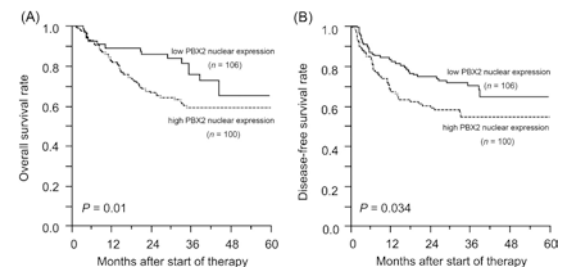


図 4

## 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20件)

- ① Zhang B, Tomita Y, Qiu Y, He J, Morii E, Noguchi S, Aozasa K. E74-like factor regulates Valosin-containing protein expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 356, 536-541, 2007 査読あり
- ② Ch'ng ES, Tomita Y, Zhang B, He J, Hoshida Y, Qiu Y, Morii E, Nakamichi I, Hamada K, Ueda T, Aozasa K. Prognostic significance of CD100 expression in soft tissue sarcoma. *Cancer* 110, 164-172, 2007 査読あり
- ③ Yamamoto S, Tomita Y, Hoshida Y, Morii E, Yasuda T, Doki Y, Aozasa K, Uyama H, Nakamura H, Monden M. Expression of Hepatoma-derived growth factor is correlated with tumor recurrence of esophageal carcinoma. *Ann. Surg. Oncol.* 14, 2141-2149, 2007 査読あり
- ④ Nakamichi I, Tomita Y, Zhang B, Sugiyama H, Kanakura Y, Fukuhara S, Hino M, Kanamaru A, Ogawa H, Aozasa K. Correlation between promoter hypermethylation of GSTP1 and response to chemotherapy in diffuse large B- cell lymphoma. *Ann Hematol.* 86, 557-564, 2007 査読あり
- ⑤ Nakagiri T, Okumura M, Inoue M, Minami M, Kiyohara E, Umegaki N, Nakamura T, Tomita Y, Katayama I, Aozasa K. Thymoma-associated graft-versus-host disease-like erythroderma. *J Thorac Oncol.* 2, 1130-1132, 2007 査読あり
- ⑥ Shimamoto H, Hamada K, Higuchi I, Tsujihata M, Nonomura N, Tomita Y, Okuyama A, Aozasa K, Hatazawa J. Abdominal Tuberculosis: peritoneal involvement shown by F-18 FDG PET. *Clin Nucl Med.* 32, 716-718, 2007 査読あり
- ⑦ Matsumura M, Uedo N, Ishihara R, Iishi H, Fujii T, Tomita Y. A case of intraepithelial neoplasia in the oropharynx detected by endoscopic screening with narrow-band imaging videoendoscopy. *Gastrointestinal endoscopy* 68, 147-148, 2008 査読あり
- ⑧ Enomoto K, Hamada K, Inohara H, Higuchi I, Tomita Y, Kubo T, Hatazawa J. Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma studied with FDG-PET: a comparison with CT and endoscopic findings. *Ann. Nuclear Med.* 22, 261-267, 2008 査読あり
- ⑨ Hamada K, Tomita Y, Qiu Y, Zhang B, Ueda T, Myoui A, Higuchi I, Yoshikawa H, Aozasa K, Hatazawa J. 18F-FDG PET of Musculoskeletal Tumors: A Correlation with the Expression of Glucose Transporter 1 and Hexokinase II. *Ann. Nuclear Med.* 22, 699-705, 2007 査読あり
- ⑩ Enomoto K, Inohara H, Hamada K, Tamura M, Tomita Y, Kubo T, Hatazawa J. FDG PET imaging of myxofibrosarcoma on the sphenoid sinus. *Clin Nucl Med.* 33, 421-422, 2008 査読あり
- ⑪ Qiu Y, Morii E, Zhang B, Tomita Y, Aozasa K. E74-like factor 2 transactivates valosin-containing protein gene, a gene involved in cancer growth. *Exp Mol Pathol.* 84, 226-229, 2008 査読あり
- ⑫ Inohara H, Akahani S, Yamamoto Y, Hattori K, Tomiyama Y, Tomita Y, Aozasa K, Kubo T. The role of fine-needle aspiration cytology and magnetic resonance imaging in the management of parotid mass lesions. *Acta Otolaryngol.* 10, 1-7, 2008 査読あり
- ⑬ Hamada K, Tomita Y, Inoue A, Fujimoto T, Hashimoto N, Myoui A, Yoshikawa H, Hatazawa J. Evaluation of Chemotherapy response in osteosarcoma with FDG-PET. *Ann. Nuclear Med.* 23, 89-95, 2009 査読あり
- ⑭ Hamada K, Tomita Y, Konishi E, Jin YF, Fujimoto T, Outani H, Tamiya H, Naka N, Araki N. FDG-PET evaluation of chondromyxoid fibroma of left ilium. *Clin Nucl Med.* 34, 15-17, 2008 査読あり
- ⑮ Hamada K, Tomita Y, Qiu Y, Tomoeda M, Ueda T, Tamai N, Hashimoto N, Yoshikawa H, Aozasa K, Hatazawa J. 18F-FDG PET analysis of schwannoma: increase of SUVmax in the delayed scan is correlated with elevated VEGF/VPF expression in the tumors. *Skeletal Radiol.* 38, 261-266, 2008

- 査読あり
- ⑩ Qiu Y, Morii E, Tomita Y, Zhang B, Matsumura A, Kitaichi M, Okumura M, Aozasa K. Prognostic significance of pre B cell leukemia transcription factor 2 (PBX2) expression in non-small cell lung carcinoma. Cancer Sci. 100, 1198-1209, 2009  
査読あり
- ⑪ Zhang B, Tomita Y, Ch'ng E, Qiu Y, He J, Jin YF, Tomoeda M, Hamada K, Ueda T, Aozasa K. Prognostic significance of phosphorylated FOXO1 expression in soft tissue sarcoma. Ann. Surg. Oncol. 印刷中
- ⑫ Gotoh K, Yamada T, Ishikawa O, Takahashi H, Eguchi H, Yano M, Ohigashi H, Tomita Y, Miyamoto Y, Imaoka S. A novel image-guided surgery of hepatocellular carcinoma by indocyanine green fluorescence imaging navigation. J Surg Oncol 印刷中
- ⑬ Kashiwagi N, Takashima S, Tomita Y, Araki Y, Yoshino K, Taniguchi S, Nakanishi K. Salivary duct carcinoma of the parotid gland: Clinical and MR features in six patients. Brit. J Radiol. 印刷中
- ⑭ Nagata N, Jin YF, Yoshizato K, Tomoeda M, Song M, Iizuka N, Kitamura M, Takahashi H, Eguchi H, Ohigashi H, Ishikawa O, Tomita Y. CD74 Is a Novel Prognostic Factor for Patients with Pancreatic Cancer Receiving Multimodal Therapy. Ann. Surg. Oncol. 印刷中

[学会発表] (計 1 件)

- ① Tomita Y, Jin YF, Ohta S, Ryu A, Takenaka A, Nakayama T, Imamura F, Higashiyama M, Kodama K. Carcinoid tumor occurring in the mediastinum. 第 47 回日本臨床細胞学会秋期大会、2008

[図書] (計 1 件)

- ① 富田裕彦 著 解明 病理学 病気のメカニズムを解く 青笹克之編 各論 第12章 乳腺 第16章 骨・軟部組織 医歯薬出版株式会社 東京 2009

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

富田 裕彦 (TOMITA YASUHIKO)  
地方独立行政法人大阪府立病院機構  
大阪府立成人病センター (研究所)・病理・  
細胞診断科・部長  
研究者番号：6 0 2 6 3 2 6 6

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし