

平成 21 年 5 月 19 日現在

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19591867

研究課題名（和文）膀胱癌での ATBF1 発現、その分子機構および癌悪性度との関連の解析

研究課題名（英文） Analysis of the mechanism concerning ATBF1 distribution and altered malignant potential in bladder cancer

研究代表者 川口 誠 (KAWAGUCHI MAKOTO)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：50204699

研究成果の概要：

AT motif-binding factor 1 (ATBF1) は 3703 アミノ酸からなる巨大タンパク質であり、23 個の Zinc finger と 4 個の Homeodomain を持つ。ATBF1 は α -fetoprotein や Myb の遺伝子発現を抑制し、前立腺などにおいて癌抑制因子として働くことが知られている。今回我々は膀胱癌における ATBF1 の発現および核細胞質移行と関連分子 p21 (waf1/cip1) の発現が腫瘍の悪性度と相関し、患者予後をよく反映する独立因子であることを見いだした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 19 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
平成 20 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：癌 病理学 核移行 ATBF1

1. 研究開始当初の背景

膀胱癌は 10 年以上の長い経過を示すことの多い癌腫であるが、急速進展する予後の悪い腫瘍も含まれる。予後診断法が未確立で、尿道的腫瘍切除のみで完治を目指すか、化学、放射線、免疫療法を追加するか、膀胱全摘か、これら治療選択の定型的指針が無く臨床医

を悩ませる。これは、同じ深達度、異型度でも、緩徐に発育する腫瘍と、急速進展し初期から膀胱全摘が必要な腫瘍の区別が容易でないことに起因する。膀胱癌治療現場で、これらの癌の悪性度判定が迅速にできれば、治療法選択の決断が容易となり、患者にとり大きな福音となる。

我々は新たな癌抑制因子 ATBF1 (AT-binding factor 1)に着目、悪性度判定指標としての実用性を確認し、実際に臨床応用することを目標とした。

2. 研究の目的

ATBF1 の細胞内局在 (細胞質・核) 変化は癌細胞の増殖性と分化程度の指標となる可能性が考えられ、癌悪性度 (特性)、癌の予後を反映する可能性を創案した。本研究の目的は、① ATBF1 の細胞内局在の分子機構を明らかにすること、② 膀胱癌予後診断への応用へ向けて疫学調査を行うことの2点であった。

3. 研究の方法

初発、再発、多発した腫瘍など全経過を通じ得られた 41 症例の全ての病理検体 (TUR, cystectomy 含む) を対象とし、計 115 例の尿路上皮癌検体を使用、免疫組織化学にて p21 と ATBF1 スコアを算出、p21-ATBF1 スコアの相互関係を含めた検索を行った。また、検体内に含まれる非癌組織 (正常尿路上皮 25 カ所、ブルン巢 6 カ所) に関しても同スコアを算出した。抗 ATBF1 抗体として ATBF1-A and B form に共通のラットモノクローナル抗体 (R87)、ATBF1-A and B に共通のポリクローナル抗体 (D1-120)、Zn フィンガー#22 全体と Zn フィンガー#23 の一部を含む ATBF1-A and B に共通のポリクローナル抗体 (AT6) を開発、過去に報告した染色法にて免疫組織化学的検討を行った。

4. 研究成果

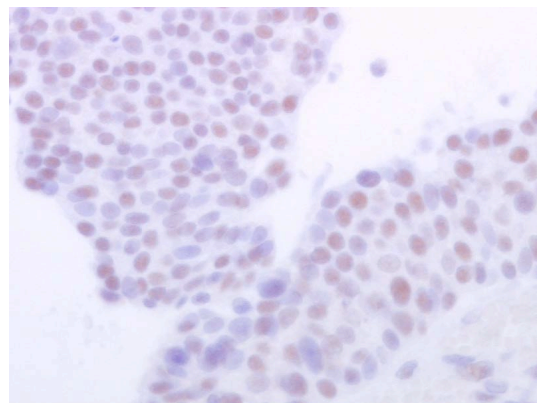
まず、抗 ATBF1 抗体として D1-120 を使用した場合の結果を示す (図 1、2 参照)。

Low-grade pTa 膀胱癌は非癌組織に比し優位に核 ATBF-1 スコアが高かった。癌組織で

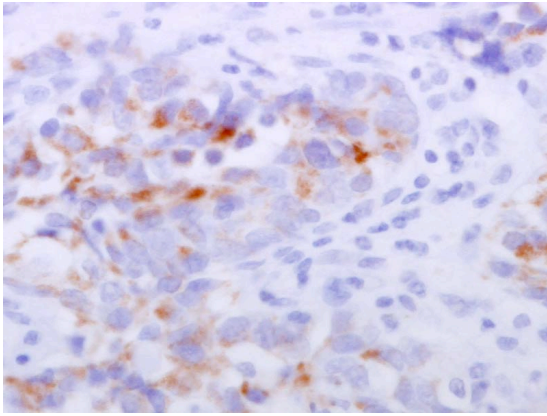
は High-grade pTa 症例は low-grade pTa 症例より細胞質 ATBF-1 スコアが高く ($p < 0.05$)、浸潤性癌では細胞質 ATBF-1 スコアは更に高くなった ($p < 0.01$)。pTis 症例では細胞質 ATBF-1 スコアは有意に高かった。ATBF1, p21 score 分布から cut off 値を設定したところ、ATBF1 < 0.86 or p21 < 0.20 ($n = 18$) 群は ATBF1 ≥ 0.86 & p21 ≥ 0.20 ($n = 23$) 群より生存率が悪かった (Kaplan-meyer 法, log-rank test, $p = 0.0089$)。多変量解析ではこの ATBF1 と p21 の組み合わせは、年齢、性別、病理ステージとは独立した予後因子であった。TUR-BT を繰り返した同一症例における縦断的解析では再発時の Grade の上昇に伴い細胞質 ATBF-1 スコアは低下、細胞質 ATBF-1 スコアは上昇し、更に転移巣では同タンパクが消失する傾向を認めた。

抗 ATBF1 抗体として R87 を使用した場合 (図 3, 4 参照) も D1-120 に類似する結果を得ているが、AT6 は細胞内局在と予後は関連しないことが明らかになった。この結果は ATBF1 蛋白が分断化していることを意味するが、膀胱癌における蛋白分断化の意義は今後明らかにしていく予定である。

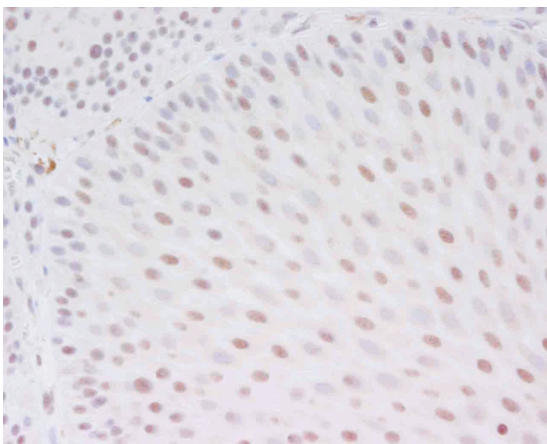
まとめると腫瘍組織内の核/細胞質 ATBF-1 (D1-120 および R87) の発現検討は予後や経過の予測に非常に有用であると考えられた。



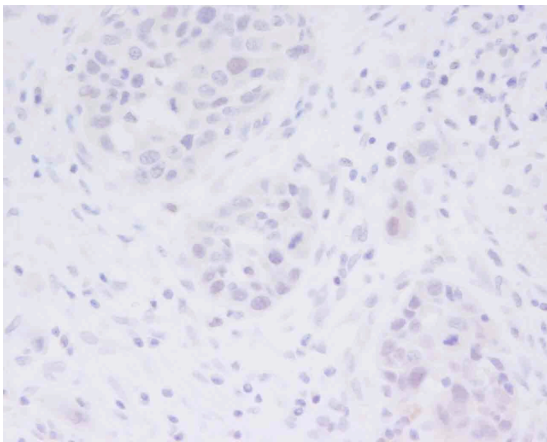
(図 1) D1-120, 粘膜内の膀胱癌での染色例



(図 2) D1-120, 固有筋層に浸潤する膀胱癌での染色例



(図 3) R87, 粘膜内の膀胱癌での染色例



(図 4) R87, 固有筋層に浸潤する膀胱癌での染色例

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)

- ① Mori Y, Kataoka H, Miura Y, Kawaguchi M, Kubota E, Ogasawara N, Oshima T, Tanida S, Sasaki M, Ohara H, Mizoshita T, Tatematsu M, Asai K, Joh T.
Subcellular localization of ATBF1 regulates MUC5AC transcription in gastric cancer.
Int J Cancer 121(2007)241-247 査読有

[学会発表] (計 7 件)

- ① 三浦 裕、金 泰善、鈴木光子、川口 誠、鄭 且均、浅井清文
P19 細胞の神経分化誘における転写調節因子 ATBF1 による細胞外マトリックス接着関連因子の発現調節
BMB2008 (第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学学会 合同大会)
12. 9-12, 2008 神戸
- ② 渡辺貴志、三浦知弘、井上政昭、川口 誠、降旗千恵
遺伝子発現プロファイルを用いたアルゴリズム分析による肺癌培養細胞の分類
BMB2008 (第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学学会 合同大会)
12. 9-12, 2008 神戸
- ③ 杉山真未、椿山由香、渡辺貴志、井上政昭、川口 誠、降旗千恵
オリジナル DNA マイクロアレイによるヒト肺癌組織型に特徴的な遺伝子発現の解析
BMB2008 (第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学学会 合同大会)
12. 9-12, 2008 神戸

- ④ 鄭 且均、川口 誠、三浦 裕、赤津裕
康、金 泰善、道川 誠

Aβ は ATBF1 の発現を上昇させ神経細胞
死を誘導する

第 51 回日本神経化学学会大会

9. 11-13, 2008 富山

- ⑤ 鄭 且均、川口 誠、浅井清文、三浦 裕

ATM/AR の標的因子 ATBF1 の細胞内局在
制御メカニズム

第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回

日本生化学会大会 合同大会 12. 11-15,

2007 横浜

- ⑥ 井上政昭、川口 誠、杉尾賢二、安元公
正、三浦 裕

ATBF1 Expression in Primary Lung
Cancer

第 66 回日本癌学会学術総会

10. 3-5, 2007 横浜

- ⑦ Inoue M, Kawaguchi M, Noguchi M,
Yasumoto K, Miura M

ATBF1 expression is a novel indicator
for diagnosis of small size lung
adenocarcinomas.

American Association for Cancer

Research Annual Meeting 2007 4. 14-18,

2007 Los Angels, CA, USA

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○ 出願状況 (計 1 件)

名称 : 抗 ATBF1 抗体及びその用途

発明者 : 川口 誠、三浦 裕

権利者 : (財) 名古屋産業科学研究所

種類 : 特願

番号 : 2009-062180

出願年月日 : 2009 年 3 月 16 日

国内外の別 : 国内

○取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川口 誠 (KAWAGUCHI MAKOTO)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号 : 50204699

(2) 研究分担者

三浦 裕 (MIURA YUTAKA)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号 : 90285198