

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590368

研究課題名(和文) 癌における細胞極性制御機構 aPKC/PAR 系の役割の検討  
— 乳癌、前立腺癌を中心に

研究課題名(英文) Impact of the aPKC/PAR system on carcinogenesis and progression.

## 研究代表者

長嶋 洋治 (NAGASHIMA YOJI)

横浜市立大学・医学研究科・准教授

研究者番号：10217995

研究成果の概要(和文):細胞極性規定因子 aPKC $\lambda/\iota$  は癌で高発現し、発生、進展に関係する。本研究では、乳癌、前立腺癌を中心に各種癌で aPKC $\lambda/\iota$  が予後因子あるいは治療標的となりうるかを検討した。その結果、乳癌および前立腺癌では aPKC $\lambda/\iota$  が高発現し、予後と相関すること、前立腺癌では aPKC $\lambda/\iota$  によって IL6 が誘導され (aPKC-IL6 経路)。ホルモン不応性の獲得と関係することがわかった。両者の発現亢進の相関は前立腺癌および乳癌でも確認された。

研究成果の概要(英文): aPKC $\lambda/\iota$  has a pivotal role in establishment and maintenance of cell polarity. In this study, we demonstrated that (1) aPKC $\lambda/\iota$  is overexpressed in various cancer cells, including breast and prostate cancers, (2) aPKC $\lambda/\iota$  induces IL6 expression to obtain castration resistance in prostatic cancer (aPKC-IL6 pathway), and (3) correlation of expression of aPKC $\lambda/\iota$  and IL6 was demonstrated in the breast cancer as well as prostatic cancer.

## 交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

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：細胞極性

## 1. 研究開始当初の背景

がんは細胞極性の喪失を伴い、発がん細胞極性制御の破綻は密接に関連する。aPKC $\lambda/\iota$  は多細胞生物種間で保存され、細胞極性制御を介して様々な生物種の組織形成と維持に重要な役割を果たしている。癌細胞における aPKC/PAR 系異常の検討を通じて、細胞極性異常が生じる機構を理解することは癌の発生、進展機構を解明し、分子標的治療に新しい局面を開く可能性がある。

## 2. 研究の目的

乳癌および前立腺癌組織における aPKC/PAR 系構成遺伝子、蛋白の発現や局在の異常を検討する。

## 3. 研究の方法

(1) aPKC $\lambda/\iota$  遺伝子および aPKC $\lambda/\iota$  蛋白について、続いて PAR3, PAR6 などの他の aPKC/PAR 系構成分子との結合(共局在や複合体形成)について検討を行う。

(2) 乳癌での先行研究で示唆されているよ

うに、癌の進行にしたがい、aPKC $\lambda/\iota$ が高発現し、細胞質内に瀰漫性に局在するなど、oncogenic な働きをしていることがわかった場合は培養細胞を用いて、aPKC $\lambda/\iota$ が分子標的治療の標的となりうるかを siRNA 法や aPKC 阻害剤を用いて検討する。

#### 4. 研究成果

1. 前立腺癌では aPKC $\lambda/\iota$  高発現と IL6 発現亢進が関連し、生化学的再発予測因子となることがわかった(Cancer Sci, in press). 両者の発現亢進の相関は乳癌でも認められた。メラノーマ、胃癌では両者の発現の相関は認められなかった。このことは、aPKC-IL6 経路は限られた癌で働いていること、メラノーマや胃癌では aPKC-IL6 経路以外の経路が働いていることを示唆している(発表準備中)。
2. aPKC $\lambda/\iota$  高発現乳癌細胞株、前立腺癌細胞株を用い、in vitro で aPKC $\lambda/\iota$  阻害剤処理により増殖抑制が見られた。

臨床検体では aPKC-IL6 経路が働き、癌の進展への関与が示唆された。今後は3次元培養やヌードマウス移植系を用いて、生体内に近い条件下で aPKC-IL6 経路を標的とした治療実験を行う。これらの実験を通じ、aPKC $\lambda/\iota$ -IL6 経路以外の aPKC $\lambda/\iota$  下流にある他分子を見いだしたい。

#### 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 21 件)

1. Ishiguro H, Akimoto K, Nagashima Y, Kagawa E, Sasaki T, Sano J-y, Takagawa R, Fujinami K, Sasaki K, Aoki I, Ohno S, Kubota Y, Uemura H: The co-expression of aPKC $\lambda/\iota$  and IL-6 in prostate cancer tissue correlates with biochemical recurrence. Cancer Sci (in press).
2. Kawachi K, Sasaki T, Murakami A, Ishikawa T, Kito A, Ota I, Shimizu D, Nozawa A, Nagashima Y, Machinami R, Aoki I: The topoisomerase II alpha gene status in primary breast cancer is a predictive marker of the response to anthracycline-based neoadjuvant chemotherapy. Pathol Res Pract 2010, 206(3): 156-162.
3. Masuda S-I, Tamura K, Wakui H, Maeda A, Dejima T, Hirose T, Toyoda M, Azuma K, Ohsawa M, Kanaoka T, Yanagi M, Yoshida S-i, Mitsuhashi H, Matsuda M, Ishigami T, Toya Y, Suzuki D, Nagashima Y, Umemura S:

Expression of angiotensin II type 1 receptor interacting molecule in normal human kidney and IgA nephropathy. Am J Physiol Renal Physiol 2010, 299(4): F720-731.

4. Miyake N, Kosho T, Mizumoto S, Furuichi T, Hatamochi A, Nagashima Y, Arai E, Takahashi K, Kawamura R, Wakui K, Takahashi J, Kato H, Yasui H, Ishida T, Ohashi H, Nishimura G, Shiina M, Saito H, Tsurusaki Y, Doi H, Fukushima Y, Ikegawa S, Yamada S, Sugahara K, Matsumoto N: Loss-of-function mutations of CHST14 in a new type of Ehlers-Danlos syndrome. Hum Mutat 2010, 31(8): 966-974.

5. Murakami A, Oshiro H, Kanzaki S, Yamaguchi A, Yamanaka S, Furuya M, Miura S, Kanno H, Nagashima Y, Aoki I, Nagahama K: A novel method for isolating podocytes using magnetic activated cell sorting. Nephrol Dial Transplant 2010, 25(12):3884-3890.

6. Takagawa R, Akimoto K, Ichikawa Y, Akiyama H, Endo I, Kojima Y, Ishiguro H, Inayama Y, Aoki I, Kunisaki C, Nagashima Y, Ohno S: High expression of the atypical protein kinase C $\lambda/\iota$  in gastric cancer is promising prognostic factor for recurrence. Ann Surg Oncol 2010, 17(1): 81-88.

7. Tsubota Y, Ogawa T, Oyanagi J, Nagashima Y, Miyazaki K: Expression of laminin  $\gamma$ 2 chain monomer enhances invasive growth of human carcinoma cells in vivo. Int J Cancer 2010, 127(9): 2031-2041.

8. Huang Y, Murakami T, Sano F, Kondo K, Nakaigawa N, Kishida T, Kubota Y, Nagashima Y, Yao M: Expression of aquaporin 1 in primary renal tumors: A prognostic indicator for clear-cell renal cell carcinoma. Eur Urol 6(4): 690-698, 2009.

9. Ishiguro H, Akimoto K, Nagashima Y, Kojima Y, Sasaki T, Ishiguro-Imagawa Y, Nakaigawa N, Ohno S, Kubota Y, Uemura H: aPKC $\lambda/\iota$  promotes growth of prostate cancer cells in an autocrine manner through transcriptional activation of interleukin-6. Pro Natl Acad Sci USA 106(38): 16369-16374, 2009.

10. Sato H, Iwata H, Takano Y, Yamada R, Okuzawa H, Nagashima Y, Yamaura K, Ueno K, Yano T: Enhanced effect of connexin 43 on cisplatin-induced cytotoxicity in mesothelioma cells. *J Pharmacol Sci* 110(4):466-475, 2009.
11. Kojima Y, Akimoto K, Nagashima Y, Ishiguro H, Kobayashi N, Matsuzaki O, Shirai S, Aoki I, Yao M, Shima H: Collecting duct carcinoma of the kidney: an immunohistochemical evaluation of the use of antibodies for differential diagnosis. *Hum Pathol* 39(9): 1350-1359, 2008.
12. Sakuma Y, Matsukuma S, Yoshihara M, Sakurai S, Nishii M, Kishida T, Kubota Y, Nagashima Y, Inayama Y, Sasaki T, Nakamura Y, Miura T, Kameda Y, Tsuchiya E, Miyagi Y: Mutations of c-kit gene in bilateral testicular germ cell tumours in Japan. *Cancer Lett* 259(2): 119-126, 2008.
13. Hagiwara H, Sato H, Ohde Y, Takano Y, Seki T, Ariga T, Hokaiwado N, Asamoto M, Shirai T, Nagashima Y, Yano T: 5-Aza-2'-deoxycytidine suppresses human renal carcinoma cell growth in a xenograft model via up-regulation of the connexin 32 gene. *Br J Pharmacol* 153(7):1373-1381, 2008.
14. Kumamoto T, Togo S, Ishibe A, Morioka D, Watanabe K, Takahashi T, Shimizu T, Matsuo KI, Kubota T, Tanaka K, Nagashima Y, Kawai J, Hayashizaki Y, Shimada H: Role of nitric oxide synthesized by nitric oxide synthase 2 in liver regeneration. *Liver Int* 28(6): 865-877, 2008.
15. Fujita K, Nozaki Y, Wada K, Yoneda M, Endo H, Takahashi H, Iwasaki T, Inamori M, Abe Y, Kobayashi N, Kirikoshi H, Kubota K, Saito S, Nagashima Y, Nakajima A: Effectiveness of antiplatelet drugs against experimental non-alcoholic fatty liver disease. *Gut* 57(11): 1583-1591, 2008.
16. Ueki T, Uemura H, Nagashima Y, Ohta S, Ishiguro H, Kubota Y: Antitumour effect of electrochemotherapy with bleomycin on human prostatic cancer xenograft. *Brit J Urol BJU Int* 102(10): 1467-1471, 2008.
17. Kirino M, Kirino Y, Takeno M, Nagashima Y, Takahashi K, Kobayashi M, Murakami S, Hirasawa T, Ueda A, Aihara M, Ikezawa Z, Ishigatsubo Y: Heme oxygenase 1 attenuates the development of atopic dermatitis-like lesions in mice: implications for human disease. *J Allergy Clin Immunol* 122(2): 290-297, 2008.
18. Yamaguchi J, Nakamura F, Aihara M, Yamashita N, Usui H, Hida T, Takei K, Nagashima Y, Ikezawa Z, Goshima Y: Semaphorin3A alleviates skin lesions and scratching behavior in NC/Nga mice, an atopic dermatitis model. *J Invest Dermatol* 128(12): 2842-2849, 2008. (大学院優秀論文)
19. Yoneda K, Tomimoto A, Endo H, Iida H, Sugiyama M, Takahashi H, Mawatari H, Nozaki Y, Fujita K, Yoneda M, Inamori M, Nakajima N, Wada K, Nagashima Y, Nakagama H, Uozaki H, Fukayama M, Nakajima A: Expression of adiponectin receptors, AdipoR1 and AdipoR2, in normal colon epithelium and colon cancer tissue. *Oncol Rep* 20(3):479-488, 2008.
20. Nakajima A, Tomimoto A, Fujita K, Sugiyama M, Takahashi H, Ikeda I, Hosono K, Endo H, Yoneda K, Iida H, Inamori M, Kubota K, Saito S, Nakajima N, Wada K, Nagashima Y, Nakagama H: Inhibition of peroxisome proliferator-activated receptor gamma activity suppresses pancreatic cancer cell motility. *Cancer Sci* 99(10): 1892-1900, 2008.
21. Tomimoto A, Endo H, Sugiyama M, Fujisawa T, Hosono K, Takahashi H, Nakajima N, Nagashima Y, Wada K, Nakagama H, Nakajima A: Metformin suppresses intestinal polyp growth in Apc Min/+ mice. *Cancer Sci* 99(11): 2136-2141, 2008.
- [学会発表] (計 20 件)
1. Akimoto K, Zheng Y-W, Nagashima Y, Ishiguro H, Asai-Sato M, Kojima Y, Li B, Sasaki K, Kagawa E, Kim M, Taniguchi H, Noda T, and Ohno S. Atypical protein kinase C  $\lambda / \iota$  regulates mouse mammary progenitor cell propagation. 6th International Symposium on Hormonal Oncogenesis, Tokyo, 2010, 9.
2. 井上享, 成松隆弘, 中田知里, 松浦恵子,

- 佐藤文憲, 長嶋洋治, 矢尾正祐, 窪田吉信, 羽瀧友則, 大山力, 西山博之, 小川修, 中川正之, 守山正胤, 三股浩光: ペリニ管癌の網羅的ゲノム解析, 第 19 回泌尿器科分子・細胞研究会, 神戸, 2010, 2.
3. 長嶋洋治, 山中正二, 村上あゆみ, 稲山嘉明, 青木一郎: 胃癌における aPKC  $\lambda/\iota$  の高発現は再発の危険因子である. 第 99 回日本病理学会春季総会, 東京, 2010, 4.
4. 石黒斉, 秋本和憲, 長嶋洋治, 加川絵理子, 佐々木毅, 佐野仁勇, 高川亮, 佐々木和教, 藤浪潔, 青木一郎, 大野茂男, 窪田吉信, 上村博司: aPKC and IL-6 expression in prostate cancer tissues. 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010, 9.
5. 秋本和憲, 鄭允文, 長嶋洋治, 石黒斉, 佐々木和教, 金民大, 李文武, 角和卓, 谷口英樹, 野田哲生, 大野茂男: 細胞極性因子 aPKC  $\lambda$  による上皮前駆細胞の増殖制御とその破綻. 第 33 回日本分子生物学会・第 83 回日本生化学会合同大会 ワークショップ「上皮細胞の機能とその破綻をもたらす病態のメカニズム」, 神戸, 2010, 12.
6. Huang Y, Shioi K, Hattori K, Murakami T, Sano F, Baba M, Kondo K, Nakaigawa N, Kishida T, Nagashima Y, Kubota Y, Yao M: A three gene expression signature model to predict clinical outcome of clear cell renal carcinoma. The 2<sup>nd</sup> International Workshop co-sponsored by Yokohama City University and FDA (United States Food and Drug Administration). “Biomarkers for development of biological products and new therapy. (Yokohama), 2009. 3.
7. Ichikawa Y, Kojima Y, Ishikawa T, Shimizu D, Goto A, Hirokawa S, Kijima M, Yamamoto H, Suwa H, Yamagishi S, Osada S, Ota M, Fujii S, Endo I, Shimada H, Akimoto K, Nagashima Y, Ohno S: Expression of the atypical protein kinase C in lateral spreading type tumors of the colon or the rectum. 100<sup>th</sup> Annual Meeting of American Association for Cancer Research (Denver), 2009. 4.
8. Takano Y, Iwata H, Sato H, Okuzawa H, Yamada R, Nagashima Y, Yamaura K, Ueno K, Yano T: Improvement of sensitivity to vinblastine by restoration of connexin 32 gene in renal cell carcinoma cells. 100<sup>th</sup> Annual Meeting of American Association for Cancer Research (Denver), 2009. 4.
9. Nozaki Y, Fujita K, Yoneda M, Mawatari H, Shinohara Y, Imajo K, Endo H, Hosono K, Yakahashi H, Kirikoshi H, Abe Y, Kobayashi N, Inamori M, Kubota K, Nagashima Y, Saito S, Nakajima A: Endothelial nitric oxide synthase changes the fat distribution in high-fat diet-induced NAFLD mice. GASTRO2009 UEGW/WCOG (London), 2009. 11.
10. 矢尾正祐, 黄榮, 村上貴之, 佐野太, 近藤慶一, 中井川昇, 岸田健, 長嶋洋治, 窪田吉信: 腎癌における aquaporin 1 遺伝子発現とその診断的有用性, 臨床応用についての検討. 第 97 回日本泌尿器科学会総会 (岡山), 2009. 4.
11. 中井川昇, 矢尾正祐, 和田朋子, 長嶋洋治, 窪田吉信: 淡明細胞型腎癌における MET 蛋白の機能の多様性. 第 97 回日本泌尿器科学会総会 (岡山), 2009. 4.
12. 吉本多一郎, 松浦恵子, 中田知里, 成松隆弘, 井上享, 瀬戸加大, 長嶋洋治, 佐藤文憲, 守山正胤, 三股浩光: 透析腎癌の網羅的ゲノム解析. 第 97 回日本泌尿器科学会総会 (岡山), 2009. 4.
13. 石黒斉, 秋本和憲, 長嶋洋治, 小島康幸, 佐々木毅, 上村博司, 大野茂男, 窪田吉信: 前立腺癌における aPKC の発現と前立腺癌進展機構. 第 97 回日本泌尿器科学会総会 (岡山), 2009. 4.
14. 長嶋洋治, 稲山嘉明, 山中正二, 佐々木毅, 青木一郎: The overexpression and altered localization of the atypical protein kinase C  $\lambda/\iota$  in breast cancers. 第 56 回日本臨床検査医学会学術集会 (札幌), 2009. 8.
15. Ichikawa Y, Kojima Y, Nagashima Y, Akimoto K, Ishikawa T, Goto A, Hirokawa S, Yamagishi S, Ota M, Fujii S, Nakajima A, Endo I, Ohno S: Expression of the atypical protein kinase C in lateral spreading type tumors of the colon or the rectum. 第 68 回日本癌学会学術総会 (横浜), 2009. 10.
16. Takagawa R, Nagashima Y, Akimoto K, Akiyama H, Ono H, Kimura J, Ichikawa Y, Endo I: Clinical significance of typical protein kinase iota expression in gastric cancer. 第 68 回日本癌学会学術総会 (横浜), 2009. 10.
17. Huang Y, Murakami T, Sano F, Kondo K, Nakaigawa N, Kishida T, Kuboya Y,

Nagashima Y, Yao M: Construction of the gene expression signature model for predict of patient outcome with clear cell renal carcinoma. 第 68 回日本癌学会学術総会 (横浜), 2009.10.

18. Miwa H, Akimoto K, Inoue Y, Wada H, Ishiguro H, Ohno S, Nagashima Y, Ikezawa Z: The overexpression of the atypical protein kinase C  $\lambda / \iota$  in malignant melanoma correlates with its undifferentiation state and metastatic ability. 34th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology (福岡), 2009.12.

19. 長嶋洋治, 稲山嘉明, 佐々木毅, 大城久, 村上あゆみ, 山中正二, 河内香江, 野澤昭典, 青木一郎: The status of aPKC  $\lambda / \iota$  in breast cancer correlates with the pathologic types. 第 97 回日本病理学会総会 (金沢), 2008.5.

20. Ishiguro H, Akimoto K, Nagashima Y, Kojima Y, Ishiguro Y, Sasaki T, Uemura H, Ohno S, Kubota Y: The role of aPKC lambda in prostate cancer progression. 第 67 回日本癌学会学術総会 (名古屋), 2008.10.

[図書] (計 1 件)

1. Nagashima Y, Kobayashi N, Kagawa E, Aoki I, Inayama Y, Yao M: Pathology and molecular biology of renal neoplasms. Recent advances and impacts on pathological classification. Nakamura M, Kakudo K (eds.). Molecular mechanism and Morphology in Cancer. Bentham Science Publishers E-Book, 12-41, 2009.

[その他]

ホームページ等

<http://www-user.yokohama-cu.ac.jp/~byori2/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長嶋 洋治 (NAGASHIMA YOJI)  
横浜市立大学・医学研究科・准教授  
研究者番号: 10217995

(2) 研究分担者

秋本 和憲 (AKIMOTO KAZUNORI)  
横浜市立大学・医学部・助教  
研究者番号: 70285104

(3) 連携研究者

千島 隆司 (CHISHIMA TAKASHI)  
横浜市立大学・附属病院・准教授  
研究者番号: 70438141

石川 孝 (ISHIKAWA TAKASHI)  
立大学・市民総合医療センター・准教授  
研究者番号: 80275049

上村 博司 (UEMURA HIROJI)  
横浜市立大学・附属病院・准教授  
研究者番号: 50244439

石黒 斉 (ISHIGURO HITOSHI)  
横浜市立大学・医学研究科・客員准教授  
研究者番号: 00381666

菅野 洋 (KANNO HIROSHI)  
横浜市立大学・医学部・准教授  
研究者番号: 40244496

青木 一郎 (AOKI ICHIRO) 横浜市  
横浜市立大学・医学研究科・教授  
研究者番号: 00184028

稲山 嘉明 (INAYAMA YOSHIAKI)  
横浜市立大学・附属病院・教授  
研究者番号: 10184730

野澤 昭典 (NOZAWA AKINORI)  
横浜市立大学・市民総合医療センター・  
准教授  
研究者番号: 00228321