

平成 22 年 4 月 1 日現在

研究種目：若手研究 (B)  
 研究期間：2008～2009  
 課題番号：20790976  
 研究課題名 (和文) 大腸癌で過剰発現する CytochromeP450 2A6 の機能解明と治療応用  
 研究課題名 (英文) Expression and role of Cytochrome P450 2A6 in colorectal cancer

研究代表者  
 松田 陽子 (MATSUDA YOKO)  
 日本医科大学・医学部・助教  
 研究者番号：20363187

研究成果の概要 (和文)：Cytochrome P450 (CYP) 系は生体内で大量に存在するPhase I酵素ファミリーの一つであり、大腸癌においては発癌物質の代謝や抗癌剤に対する効果の面から注目されており、様々なCYPの発現や遺伝子多型と大腸癌リスクとの関連が報告されている。これまでに我々は、ヒトの大腸腺癌及び腺腫において、特異的にCYP2A6が過剰発現していることを報告した。さらに、潰瘍性大腸炎における再生陰窩上皮においてCYP2A6の過剰発現を認めた。また、大腸腺癌組織においては線維芽細胞増殖因子受容体のFGFR2IIIcの過剰発現が認められ、FGFR2IIIcが大腸癌の発癌過程、及び進行において重要な役割を担っていることが分かった。本研究によって、大腸癌発生の予防と新たな治療の方策を見出す道筋を拓く可能性がある。

研究成果の概要 (英文)：Cytochrome P450 (CYP) is one of the phase I enzymes and is found abundantly in the body. In colorectal carcinomas (CRC), CYP has important roles in the metabolisms of carcinogens and anti-tumor drugs. It has been reported that the expression and gene polymorphisms of CYP correlate with a risk of CRC. Previously, we have reported the expression of CYP2A6 in colorectal adenocarcinomas and adenomas. In ulcerative colitis, CYP2A6 was expressed in the regenerative mucosa. Furthermore, overexpression of fibroblast growth factor 2IIIc (FGFR2IIIc) was observed in colorectal adenocarcinomas, and FGFR2IIIc has important roles in carcinogenesis and the progression of CRC. There is a possibility that the present study will lead to the development of new therapeutic strategies for CRC.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：Cytochrome P450、大腸癌、線維芽細胞増殖因子受容体

## 1. 研究開始当初の背景

Cytochrome P450 (CYP) 系は生体内で大量に存在する酵素であり、大腸癌においては発癌物質の代謝活性化や抗癌剤に対する効果の面から注目されてきた。臨床研究で、大腸癌患者の尿検体において CYP2A6 活性が亢進していることが報告されており (Sweeney C, 2002)、これは大腸癌に CYP2A6 が深く関わっていることを示唆する結果と考えられる。他にも CYP1B1 が大腸癌細胞において過剰に発現し、非腫瘍性大腸陰窩上皮ではほとんど発現していないことが報告されており (Glibson P, 2003)、様々な CYP 系が大腸癌に大きく関わっていると考えられる。

これまでに我々は、ヒトの大腸癌において、大腸腺癌細胞に特異的に Cytochrome P450 2A6 (CYP2A6) が過剰発現していることを免疫化学的染色法で確認し報告した (Matsuda Y, Cancer Sci. 2007)。この場合、同一患者の大腸癌から離れた部位の大腸陰窩上皮にはほとんど CYP2A6 の発現が見られなかったのに対し、癌に隣接する非腫瘍性大腸陰窩上皮においても大腸癌細胞と同様に、CYP2A6 が過剰発現しているという興味深い知見が得られた。さらに、腺腫においても腺癌と同様に CYP2A6 の過剰発現が見られた。以上より、大腸の発癌の過程の早期から CYP2A6 が関与すると考えられる。

一方で、大腸の発癌過程においては遺伝子変異が段階的に蓄積し、様々な増殖因子やその受容体の異常が認められる。その中

でも、線維芽細胞増殖因子受容体 FGFR2 は、その SNPs が発癌に関与することが報告され、近年注目されている。

## 2. 研究の目的

本研究では、大腸癌、及び大腸組織において特異的に発現する CYP2A6 の機能、及び発現パターンを詳細に検討する。さらに、増殖因子受容体である FGFR2 に着目し、FGFR2 のスプライシングアイソフォームである FGFR2IIIc の大腸組織における発現パターンについても検討し、大腸発癌過程における意義を解明することを目的とする。

## 3. 研究の方法

- ・大腸癌培養細胞 DLD-1, LoVo, SW480, Colo-201, HCT-15 を用いて CYP2A6 の発現、及び FGFR2IIIc の発現を検討した。
- ・潰瘍性大腸炎等の特異的大腸炎の切除材料を用いて、CYP2A6 の発現を確認した。
- ・大腸腺癌、腺腫、過形成性ポリープの切除材料を用いて FGFR2IIIc の発現パターンと臨床病理学的意義を検討した。
- ・ヒト大腸癌培養細胞を用いて FGFR2IIIc の full length cDNA を遺伝子導入し、FGFR2IIIc 過剰発現株を作成する。次に、short hairpin RNA (shRNA) を用いて、FGFR2IIIc 抑制株を作成する。FGFR2IIIc 過剰発現株、及び FGFR2III 抑制株を用いて、細胞増殖、運動、接着、形態的变化について検討した。

#### 4. 研究成果

大腸癌培養細胞 DLD-1, LoVo, SW480, Colo-201, HCT-15 において免疫染色にて CYP2A6 の胞体内での発現を認めた。また、Tegafur は CYP2A6 にて代謝活性化されるため、DLD-1, HCT-15, Colo-201 に Tegafur を投与してその抗腫瘍効果を検討したところ、いずれの細胞においても増殖抑制効果を認めた。このことから、ヒト培養大腸癌細胞においても CYP2A6 は発現しており、抗癌剤の代謝に関与している可能性が示唆された。

次に、大腸癌周囲の非腫瘍性陰窩上皮での CYP2A6 発現の意義を検討するために、潰瘍性大腸炎の切除材料を用いて、免疫染色にて CYP2A6 の発現を検討したところ、潰瘍性大腸炎の病変部に見られる再生上皮においても CYP2A6 の過剰発現を認めた。このことから、陰窩上皮の再生に伴う増殖亢進が CYP2A6 の発現に関与すると考えられた。

大腸癌で認められる様々な増殖因子や増殖因子受容体の内、近年注目されている FGFR2 について、大腸切除材料を用いて検討したところ、FGFR2IIIc の発現は大腸腺癌 > 腺腫 > 過形成性ポリープの順に認められた。また、大腸癌における FGFR2IIIc の発現は、肝転移と予後に関連を認めた。

大腸癌における FGFR2IIIc の役割を詳細に検討するため、ヒト大腸癌培養細胞を用いて、FGFR2IIIc 過剰発現株と抑制株を樹立した。その結果、FGFR2IIIc 過剰発現株では細胞増殖の亢進を認めたのに対し、FGFR2IIIc 抑制株では細胞増殖の抑制を認めた。以上の結果より、FGFR2IIIc は大腸の発癌過程、及び大腸癌の進展において重要な役割を担う可能性がある。

#### 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 2 件)

1. Matsuda Y, Ishiwata T, Kawamoto Y, Kawahara K, Peng W, Yamamoto T, Naito Z. Morphological and cytoskeletal changes of pancreatic cancer cells in three-dimensional spheroidal culture. *Med Mol Morphol. in press*
2. Ishiwata T, Yamamoto T, Kawahara K, Kawamoto Y, Matsuda Y, Ishiwata S, Naito Z. Enhanced expression of lumican inhibited the attachment and growth of human embryonic kidney 293 cells. *Exp Mol Pathol. in press*

[学会発表] (計 3 件)

1. Matsuda Y, Fibroblast growth factor receptor 2 IIIc development of colorectal adenocarcinoma. The 100<sup>th</sup> Annual Meeting of American Association for Cancer Research, 2009 年 4 月, コロラド州デンバー
2. 松田陽子, 大腸癌における線維芽細胞増殖因子受容体 Fibroblast growth factor receptor 2IIIc の発現と役割. 第 98 回日本病理学会総会, 2009 年 5 月, 京都
3. Matsuda Y, Expression and role of fibroblast growth factor receptor 2IIIc in colorectal adenocarcinoma. 第 68 回日本癌学会学術総会, 2009 年 9 月, 横浜

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

松田 陽子 (MATSUDA YOKO)  
日本医科大学・医学部・助教  
研究者番号：20363187

(2) 研究分担者  
なし  
研究者番号：

(3) 連携研究者  
なし  
研究者番号：