

令和 6 年 9 月 26 日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20755

研究課題名（和文）CHAC1を介したスキルス胃癌発症メカニズムの解析と治療ターゲットの検索

研究課題名（英文）Research for development mechanisms and therapeutic targets of gastric cancer mediated by CHAC1

研究代表者

和田 友里子（WADA, YURIKO）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師

研究者番号：60963923

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：CHAC1は発現亢進によりグルタチオンの枯渇をもたらし、酸化ストレスを誘導することで癌の発生や進展に影響を及ぼすとされている。これまでに様々な癌種においてCHAC1の発現について臨床病理学的検討が行われているものの報告結果が異なり、一定の見解は得られていない。本研究では、胃癌の外科切除標本に対して免疫組織化学法を施行し、臨床病理学的解析を行った結果、免疫組織化学的CHAC1発現はリンパ節転移と相関し、またCHAC1高発現は予後不良因子であることがわかった。また、ウィルスベクターで恒常的CHAC1を高発現させたAGS細胞の作成に成功し、コントロールAGS細胞と共にRNAseq解析を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本での胃癌罹患率は諸外国と比べ顕著に高く、その要因については多くの研究がされている。CHAC1は本研究室での長年の研究テーマであり、先行研究にてピロリ菌感染が原因となる胃癌はCHAC1の高発現が誘導されることがわかった。本研究では胃癌患者の症例を用い、臨床病理学的解析を行った結果、CHAC1発現はリンパ節転移と相関することが示され、さらにCHAC1の発現が強い胃癌症例ほど予後不良になることがわかった。また、RNAseq解析のため、CHAC1を高発現した培養細胞の作成に成功しており、CHAC1発現により誘導される詳細な遺伝子群の解析を現在進めている。

研究成果の概要（英文）：Increased expression of CHAC1 leads to the depletion of glutathione and induces oxidative stress, which is thought to possibilities for development and progression of cancer. Although clinicopathological studies have been conducted on the expression of CHAC1 in various cancer types, function of CHAC1 are still unknown.

In this study, we performed clinicopathological analysis with immunohistochemistry on surgical resection specimens of gastric cancer. As a result, immunohistochemical CHAC1 expression was statistically related with lymph node metastasis and also high expression of CHAC1 was correlated with poor prognosis. In addition, we succeeded in creating AGS cells that constitutively CHAC1 was overexpressed by using viral vectors and now we are proceeding with RNAseq analysis in order to investigate induced genes related with CHAC1 overexpression.

研究分野：病理

キーワード：CHAC1 胃癌

1. 研究開始当初の背景

内視鏡技術の発展やピロリ菌に対する除菌治療が積極的に行われたことで、胃癌の罹患数・死亡数は年々減少を認め、予後も大きく改善している。しかし、胃癌の中でも予後不良の未分化型胃癌(スキルス胃癌)については未だに明確な発癌機序が特定されておらず、特異的な治療法も確立されていない。

申請者の研究室では抗酸化物質であるグルタチオンを分解する Cation transport regulator 1(CHAC1)という酵素に着目した研究を行っている。CHAC1はグルタチオンを直接分解できる唯一の酵素であることから、他の酵素以上に細胞内の酸化レベルの維持に重要であると考えられてはいるものの、その制御機構や酵素活性についての詳細な研究は行われていない。

申請者らの先行研究では、進行胃癌においては CHAC1 が過剰発現した患者群では過剰発現を認めない患者群に比べ予後不良であることや、CHAC1 を過剰発現したマウスでは数カ月後の胃粘膜上皮に異型を伴う変化を認めていた。また、一般的に胃粘膜表層に感染するとされるピロリ菌が、CHAC1 が発現亢進した一部の胃底腺の壁細胞内に潜伏する様子を捉えることに成功した。つまり、これらの予備実験は、ピロリ菌の潜伏感染等で酸化ストレスが誘導された壁細胞内で、CHAC1 が過剰に発現し続けることで形態学的な変化をもたらすことを意味すると考えられる。

スキルス胃癌に対する特定の治療薬や早期発見を可能とするようなマーカーは見つかっていないことから、このような患者に対し新たな治療戦略の開発は急務である。本研究は予後不良なスキルス胃癌の患者を救うため、CHAC1 が本疾患の発症にどのように関与するのかを分子生物学的・実験病理学的に実証することは CHAC1 の機能解明だけでなく、スキルス胃癌の早期発見や治療選択、更には分子標的薬の開発基盤に寄与することが期待される。

2. 研究の目的

申請者は先行研究として、パラフィン切片に使用可能な CHAC1 のモノクローナル抗体を作製した。抗 CHAC1 抗体を使用した病理組織学的解析では一部の進行胃癌において CHAC1 が過剰発現しており、過剰発現群は予後不良であることを確認したことから、CHAC1 の発現更新が予後不良な胃癌の発症に関与しているという仮説を立てた。この仮説検証のため、ヒトの胃壁細胞の一部で CHAC1 が発現することに注目し、マウスの胃壁細胞に CHAC1 を特異的に高発現させたところ、数カ月後の胃粘膜組織に異型を伴う変化を認めた。

また、CHAC1 を過剰発現させた細胞を作製したところ、グルタチオン減少に伴い活性酸素種の蓄積が認められ、遺伝子変異を誘導する可能性も示された。そこで、仮に、細胞内の CHAC1 の発現を制御できれば、CHAC1 を介した形態変化を阻止できる可能性があり、さらには CHAC1 が過剰に発現した細胞の遺伝子発現や変異を詳細に調べることで、治療ターゲットとなる分子の同定が期待される。

3. 研究の方法

予備実験で作成した壁細胞に CHAC1 を過剰発現したノックインマウスの系を用い、次世代シーケンシング解析により CHAC1 過剰発現によって誘導される分子のスクリーニングを行うことで、壁細胞が CHAC1 過剰発現を介したスキルス胃癌の発生母地になるかどうかの検証を行う。

また、CHAC1 の酵素活性を阻害する small molecules について網羅的な解析を行う。候補となる阻害分子については、in vitro の系を用いて、活性酸素種や遺伝子変異誘導の変化を解析する。また、阻害分子をマウスに投与することで、腫瘍化までの時間、腫瘍の縮小効果、生存への影響等を総合的に判定することで治療ターゲットとしてのポテンシャルの評価を行う。

さらに、スキルス胃癌患者検体を使用し、CHAC1 発現や誘導分子の発言を病理組織学的に検索する。また、患者の臨床所見や予後データを用い、CHAC1 および CHAC1 の誘導因子の予後予測因子としての可能性を統計学的に解析する。

4. 研究成果

CHAC1 は発現亢進によりグルタチオンの枯渇をもたらし、酸化ストレスを誘導することで癌の発生や進展に影響を及ぼすとされている。これまでに様々な癌種において CHAC1 の発現について臨床病理学的検討が行われているものの報告結果が異なる

り、一定の見解は得られていない。本研究では、胃癌の外科切除標本に対して免疫組織化学法を施行し、臨床病理学的解析を行った結果、免疫組織化学的 CHAC1 発現はリンパ節転移と相関し、また CHAC1 高発現は予後不良因子であることがわかった。また、ウイルスベクターで恒常的 CHAC1 を高発現させた AGS 細胞の作成にも成功しており、今後はコントロール AGS 細胞と共に RNAseq 解析を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 宮代梨花、和田友里子、古川あすか、山本浩平、木下真由美、南順子、大橋健一
2. 発表標題 Clinical-histopathological analysis of CHAC1 in gastric cancer.
3. 学会等名 第113回日本病理学会総会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------