

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年06月05日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011-2012

課題番号：23790413

研究課題名（和文）肺腺癌の上皮間葉系転換におけるクロマチンリモデリング分子の機能異常の関与
研究課題名（英文）

Chromatin Remodeling Factors Correlate with Epithelial-Mesenchymal Transition of Lung adenocarcinoma

研究代表者 松原大祐 (Matsubara Daisuke)

東京大学・医科学研究所・講師

研究者番号：80415554

研究成果の概要(和文):我々は、肺腺癌細胞株 15 株、肺腺癌症例 93 例のパラフィン切片、肺腺癌 442 例の遺伝子発現データを使い、肺腺癌での BRG1, BRM の発現と、病理組織学的特徴、遺伝子異常、気管支上皮マーカー(TTF-1, CK7, MUC1, E-cadherin)の発現とを比較検討し、肺腺癌の BRG1, BRM の欠損は上皮間葉系転換(EMT)に関与する事を明らかにした。まず、細胞株 15 株において、BRG1 変異型 6 株、野生型 9 株がみられたが、BRG1 変異は BRG1 発現が落ちる不活性型変異であった。また、BRG1 変異は EGFR, MET, HER2 の遺伝子異常と相互排他的であった。BRG1 変異型は Vimentin を高発現し、気管支上皮マーカーの発現の乏しい EMT 形質を示すが、BRG1 野生型は気管支上皮マーカーを高発現し、Vimentin の発現の低い上皮系形質を示した。BRM 発現低下も同様に EMT 形質で多くみられた。次に、肺腺癌症例 93 例での免疫組織化学的な BRG1, BRM 陰性例(n=11, 16)は、それぞれ充実型腺癌に高頻度であり、気管支上皮マーカーの発現低下を伴った。BRG1 陰性例は EGFR 変異と相互排他的であり、かつ、BAC 成分を伴わないが、BRM 陰性例は BAC 成分、EGFR 変異を有する事もあった。最後に 442 例の遺伝子発現データに基づくクラスター解析、予後解析により、BRG1, BRM の発現低下はやはり EMT 形質の癌で高頻度であり、かつ、BRG1, BRM の欠損は有意に予後不良因子であることを示した。以上より、BRG1 の変異、欠損は EMT 形質をもつ Non-TRU type の発癌に関与し、一方、BRM 欠損は TRU type の癌の低分化腺癌への移行過程にも関与する事が示唆された。

研究成果の概要(英文): BRG1 and BRM, two core catalytic subunits in SWI/SNF chromatin remodeling complexes, have been suggested as tumor suppressors, yet their roles in carcinogenesis are unclear. Here, we present evidence that loss of BRG1 and BRM is involved in the progression of lung adenocarcinomas. Analysis of 15 lung cancer cell lines indicated that BRG1 mutations correlated with loss of BRG1 expression and that loss of BRG1 and BRM expression was frequent in E-cadherin-low and vimentin-high cell lines. Immunohistochemical analysis of 93 primary lung adenocarcinomas showed loss of BRG1 and BRM in 11 (12%) and 16 (17%) cases, respectively. Loss of expression of BRG1 and BRM was frequent in solid predominant adenocarcinomas and tumors with low thyroid transcription factor-1 (TTF-1,

master regulator of lung) and low cytokeratin7 and E-cadherin (two markers for bronchial epithelial differentiation). Loss of BRG1 was correlated with the absence of lepidic growth patterns and was mutually exclusive of epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations. In contrast, loss of BRM was found concomitant with lepidic growth patterns and EGFR mutations. Finally, we analyzed the publicly available dataset of 442 cases and found that loss of BRG1 and BRM was frequent in E-cadherin-low, TTF-1-low, and vimentin-high cases and correlated with poor prognosis. We conclude that loss of either or both BRG1 and BRM is involved in the progression of lung adenocarcinoma into solid predominant tumors with features of epithelial mesenchymal transition and loss of the bronchial epithelial phenotype. BRG1 loss was specifically involved in the progression of EGFR wild-type, but not EGFR-mutant tumors.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：病理

科研費の分科・細目：基礎医学 人体病理学

キーワード：肺腺癌

1. 研究開始当初の背景

申請者は、肺腺癌の、上皮マーカー (TTF1,CK7,MUC1) を高発現する Group1 と、上皮間葉系転換 (EMT) マーカーを高発現する Group2 への分類を提唱した (Matsubara et al, Am J Pathol, 2010)。Group1 は治療ターゲットとなる EGFR,MET,HER2 の変異、増幅を高頻度に示すが、Group2 は、EGFR,MET,HER2 異常は示さず、上皮マーカー、癌の増殖・浸潤関連遺伝子、癌抑制遺伝子などに広範な発現低下と、メチル化が認められた。申請者は Group2 でのクロマチンリモデリング因子の低下、変異が、そうした Group2 の性質に関わっていると考えた。

2. 研究の目的

肺腺癌細胞株と原発性肺腺癌症例を用いて、クロマチンリモデリング因子 (BRG1,BRM) の発現と、上皮マーカー、EMT マーカー、癌の増殖・浸潤関連因子の発現、メチル化、遺伝子異常との関係について調べる。

3. 研究の方法

肺腺癌細胞株 40 株、自治医科大学の肺腺癌外科切除症例 100 例について、クロマチンリモデリング因子 (BRG1,BRM)、その関連因子のタンパク発現をウェスタンブロット法、免疫染色法等で調べる。背景遺伝子異常、上皮マーカー、EMT マーカーの発現と比較検討する。

4. 研究成果

肺腺癌細胞株と原発性肺腺癌症例 (93 例) を用いて、クロマチンリモデリング因子である BRG1、BRM の変異、発現低下が、Group II の性質、すなわち、上皮マーカーの発現低下、EMT 形質、充実性腺癌形態などに関わり、予後不良を示すこと、かつ、BRG1 欠失と EGFR 変異とが相互排他的であることを見出した (Matsubara et al, Cancer Sci, 2013)。また、肺腺癌細胞株 40 株におけるクロマチンリモデリング因子の発現とチロシンキナーゼの発現との比較を行っている過程で、Group I に属する肺腺癌細胞株 LC-2/ad において、RET が過剰発現していることに気づき、RET 転座特異的 PCR を行ったところ、CCDC6-RET 転座を見出した。結果として、世界で初めて、RET 転座を有する肺腺癌細胞株の存在を報告し、なおかつ、RET 転座を有する肺腺癌に対し RET 阻害剤 (Vandetanib) が有効である可能性を示した (Matsubara et al, J Thorac Oncol, 2012)。

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 3 件)

- ① Matsubara D, Kishaba Y, Ishikawa S, Sakatani T, Oguni S, Tamura T, Hoshino H, Sugiyama Y, Endo S, Murakami Y, Aburatani H, Fukayama M, Niki T. Lung Cancer

with Loss of BRG1/BRM, shows Epithelial Mesenchymal Transition Phenotype and Distinct Histologic and Genetic Features. *Cancer Science* 2013;104(2):266-73.

② Matsubara D, Kanai Y, Ishikawa S, Ohara S, Yoshimoto T, Sakatani T, Oguni S, Tamura T, Kataoka H, Endo S, Murakami Y, Aburatani H, Fukayama M and Niki T. Identification of CCDC6-RET Fusion in a Human Lung Adenocarcinoma Cell Line, LC-2/ad. *J Thorac Oncol.* 2012;7(12):1872-6.

③ Matsubara D, Niki T. (Letter to the Editor) Epidermal Growth Factor Receptor Mutation and Chemosensitivity. *J Thorac Oncol.* 2012;7(4):771-772,

[学会発表] (計 7 件)

① Matsubara D, Kisyaba Y, Ishikawa S, Murakami Y, Aburatani H, Fukayama M, Niki T. Pathologic & Genetic Feature of Lung Cancer with loss of BRG1/BRM:Correlation with EMT feature and lack of EGFR mutation. 71th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (oral presentation), Sapporo, 2012.

② Matsubara D, Kishaba Y, Ishikawa S, Fukayama M, Niki T. Histopathologic and genetic features of lung adenocarcinomas with loss of chromatin remodeling factors, BRG-1 and BRM. Annual Meeting of American Association for Cancer Research (poster presentation), Chicago, 2012.

③ Matsubara D, Ishikawa S, Fukayama M, Niki T. Lung adenocarcinomas show genetic-morphologic correlations in three dimensional culture. Annual Meeting of American Association for Cancer Research (poster presentation), Orlando, 2011.

[図書] (計 1 件)

仁木利郎、松原大祐 「クロマチンリモデリング因子と癌」*病理と臨床* 30(9) : 1019-1021、2012

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :

種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

<http://www.jichi.ac.jp/pathol>

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/hitogan/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松原大祐 (Matsubara Daisuke)

東京大学 医科学研究所 講師

研究者番号 : 80415554

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :