

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23890036

研究課題名（和文）癌転移形成に関与するポドプラニンの腫瘍集団的浸潤における機能解析

研究課題名（英文）Role of podoplanin in collective cell invasion

研究代表者

国田 朱子 (KUNITA AKIKO)

東京大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：50608768

研究成果の概要（和文）：

本研究では転移および浸潤促進因子であるポドプラニンの浸潤先端部発現機構の解明とその発現の意義について解析した。腫瘍浸潤先端部および腫瘍中心部、正常部組織の遺伝子発現プロファイルを解析した結果、腫瘍浸潤先端部においてインターフェロン応答遺伝子の発現上昇が見られる事を見いだした。扁平上皮癌細胞株を用いた検討によりインターフェロン γ はstat1を介してポドプラニンの発現を誘導することを明らかにした。さらに、腫瘍モデルを用いた検討により、stat1経路を介したポドプラニンの発現亢進が腫瘍浸潤先端部の形成に寄与する事が示唆された。ポドプラニン発現や機能を抑制させる事により浸潤が抑制される事が示唆され、ポドプラニンを標的とした浸潤阻害薬への応用の可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：

Tumor invasion is the first step to the formation of metastasis. We found that podoplanin is expressed in the invasive front of human squamous carcinomas. In order to elucidate the mechanisms to induce podoplanin expression in the invasive front and to clarify the mechanism of collective invasion, we investigated the transcriptome analysis of podoplanin-expressing cells located at the tumor invasive front, and compared the profile to the tumor mass. As a result, interferon responsive genes were upregulated in the tumor invasive front. In addition, podoplanin-expressing tumor cells were surrounded by CD45-positive inflammatory cells. Podoplanin expression was induced by interferon gamma in human squamous carcinoma cell lines, A431 and SCC9. Moreover, A431-induced tumor invasive front formation in mice was inhibited by podoplanin or stat1 depletion. These results point at a central role of podoplanin, induced by stromal inflammatory cells, in promoting collective invasion.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学
科研費の分科・細目：実験病理学
キーワード：浸潤

1. 研究開始当初の背景

癌は日本人の死亡原因の第一位を占めるが未だ有効な治療法が確立されていない。癌の悪性度の決め手となるのが転移である。転移を抑えることができれば癌による死亡率は激減すると考えられる。そこで本研究では癌転移を阻止する薬剤開発を目的として転移形成に重要な役割を果たす血小板凝集因子 podoplanin の機能解析を行い新たな浸潤機序を解明する。podoplanin は多くの腫瘍の浸潤先端部で発現が認められ悪性度との相関が報告されている

申請者らはこれまでに血小板凝集因子 aggrus/podoplanin の遺伝子を同定し、podoplanin が血小板凝集機能を有し、マウス実験的転移モデル系において有意に癌転移を誘導することを見出した。また podoplanin による癌転移は抗 podoplanin 中和抗体投与により顕著に抑制され、転移阻害剤のターゲットとして podoplanin が有用である可能性が示された。さらに最近、podoplanin は骨肉腫において発現亢進が認められ、podoplanin の発現は肺転移と相関することを見だし、骨肉腫の肺転移においても podoplanin が重要な役割を果たすことが示唆された。podoplanin は血小板凝集を介して転移を促進させる他に、podoplanin は腫瘍浸潤先端部に限局して発現し、上皮間葉転換 (EMT) 非依存的に腫瘍集団的浸潤 (collective invasion) を誘導することが報告され癌転移における podoplanin の更なる重要性が示された。

2. 研究の目的

癌転移は癌患者の予後を決定する因子であり癌転移メカニズムの解明および癌転移を

阻止する治療法の開発が急務である。癌転移形成において浸潤は最も重要な過程である。申請者らは転移形成に重要な役割を果たす podoplanin を同定しその機能を解析してきた。本研究ではこの研究をさらに発展させ podoplanin による浸潤機構を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

子宮頸癌モデルマウスである K14-HPV16 トランスジェニックマウスの腫瘍浸潤先端部および腫瘍中心部、正常部組織をレーザーマイクロダイセクション法により採取し RNA を抽出後マイクロアレイ解析を行い各組織間での遺伝子発現プロファイルを網羅的に解析し浸潤先端部で高発現する遺伝子およびパスウェイを同定した。さらにヒト類表皮癌細胞株 A431 をヌードマウスに皮下移植することにより形成した腫瘍モデルを用いて浸潤機構の解析を行った。

4. 研究成果

本研究では転移および浸潤促進因子であるポドプラニンの浸潤先端部発現機構の解明とその発現の意義について解析した。子宮頸癌モデルマウスの腫瘍浸潤先端部および腫瘍中心部、正常部組織をレーザーマイクロダイセクションにより採取し、遺伝子発現プロファイルを網羅的に解析した結果、腫瘍浸潤先端部においてインターフェロン応答遺伝子の発現上昇が見られる事を見いだした。さらに、扁平上皮癌細胞株を用いた検討によりインターフェロン γ によりポドプラニンの発現誘導が認められ、かつポドプラニンの発現誘導は stat1 ノックダウンでは認められな

かったことから、インターフェロン γ によるポドプラニンの発現誘導は stat1 を介した経路による事を明らかにした。さらにポドプラニンを内在性に発現する A431 細胞株をヌードマウスの皮下へ移植すると浸潤先端部を形成するが、ポドプラニン抗体投与により浸潤先端部の形成が抑制されること、stat1 発現を shRNA でノックダウンした A431 細胞株では浸潤先端部の形成が抑制されることを見いだした。本研究の結果から stat1 経路を介したポドプラニンの発現亢進が腫瘍浸潤先端部の形成に寄与する事が示唆された。癌細胞周囲の間質からのインターフェロン γ により癌細胞のポドプラニン発現が亢進し、浸潤を先導し浸潤先端部が形成されたと考えられる。ポドプラニン発現や機能を抑制させる事により、浸潤が抑制できる事が示唆され、ポドプラニンを標的とした浸潤阻害薬への応用の可能性が示された。

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 5 件)

- (1) Mariko Tanaka, Hiroshi I. Suzuki, Junji Shibahara, Akiko Kunita, et al. “EV11 oncogene promotes KRAS pathway through suppression of microRNA-96 in pancreatic carcinogenesis” *Oncogene* 2013, 査読あり、掲載決定
- (2) Takeo Nakaya, Yoshinao Kikuchi, Akiko Kunita et al. “Enrichment of stem-like cell population comprises transformation ability of Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A for non-transformed cells.” *Virus Research* 2013 June; 174 (1-2), p108-p115, doi:

10.1016/j.virusres.2013.03.009. 査読あり

- (3) Hiroyuki Abe, Daichi Maeda, Rumi Hino, Yuya Otake, Maya Isogai, Aya Shinozaki Ushiku, Keisuke Matsusaka, Akiko Kunita et al. “ARID1A expression loss in gastric cancer: pathway-dependent roles with and without Epstein-Barr virus infection and microsatellite instability.” *Virchows Archiv* 2012, 461(4), p367-p377 doi: 10.1007/s00428-012-1303-2. 査読あり
- (4) Mika K Kaneko*, Akiko Kunita* et al. (*equal contributor) “A chimeric anti-podoplanin antibody suppresses tumor metastasis via neutralization and antibody-dependent cellular cytotoxicity.” *Cancer Science* 2012, 103 (11), p1913-1919 doi: 10.1111/j.1349-7006.2012.02385.x. 査読あり
- (5) Minhua Sun, Hiroshi Uozaki, Rumi Hino, Akiko Kunita et al. “SOX9 expression and its methylation status in gastric cancer” *Virchows Archiv* 2012, 460(3), p271-p279 doi: 10.1007/s00428-012-1201-7. 査読あり

[学会発表] (計 6 件)

- (1) Akiko Kunita “Role of podoplanin in tumor invasive front”
The 5th Global COE Retreat in Oiso 2013
年 01 月 19 日~2013 年 01 月 20 日 大磯
- (2) Akiko Kunita “Suppression of tumor growth and metastasis by anti-podoplanin antibodies” EORTC-NCI-AACR Symposium on Molecular Targets and Cancer Therapeutics

2012年11月06日～2012年11月09日 ダブリン アイルランド

(3) 国田朱子

“上皮間葉移行(EMT)に伴う p120 カテニンの発現変化”

第71回日本癌学会学術総会 2012年09月19日～2012年09月21日 札幌

(4) 辻本雄太、国田朱子、西岡安彦、加藤幸成

“ヒトキメラ型抗ポドプラニン抗体による転移抑制効果の検討” 第21回日本がん転移学会学術集会総会 2012年07月12日～2012年07月13日 広島

(5) 国田朱子、深山正久

“骨肉腫において podoplanin は AP-1 による発現制御を受け血小板凝集能および細胞遊走能を亢進させる”

第70回日本癌学会学術総会 2011年10月3日～2011年10月5日 名古屋

(6) 加藤幸成、国田朱子、西岡安彦
抗ポドプラニン抗体による転移抑制効果の検討

[その他]

ホームページ等

<http://pathol.umin.ac.jp/index.shtml>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

国田 朱子 (KUNITA AKIKO)

東京大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：50608768

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：