

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861200

研究課題名(和文) 転写因子AP-1阻害剤による胃癌微小環境を標的とした新しい腹膜播種治療法の確立

研究課題名(英文) FOSB and c-Fos which constitute AP-1 expressed in the bone marrow at the advanced gastric cancer patients

研究代表者

藏重 淳二(kurashige, junji)

熊本大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：90594474

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：癌微小環境を構成する細胞の多くが骨髄由来の細胞であることが報告されている。われわれは胃癌の肝転移巣においてはVEGR-1を発現する骨髄前駆細胞と癌細胞とが共存することが重要であることを明らかにした(Mimori K. Clin Cancer Res 2008)。今回われわれは胃癌患者約200例の骨髄中のc-FosのmRNAの発現を測定したところ、Stage毎に有意に発現が増加していた。また、末梢血中のc-Fos mRNA発現もStage毎に有意に増加していた。このことは進行胃癌患者の骨髄または末梢血液中では、何らかの宿主側細胞由来のAP-1が高発現を来していることを示唆していた。

研究成果の概要(英文)：The expression levels of c-FOS and the FOSB in bone marrow and peripheral blood in was examined using 200 resected specimens to determine the clinicopathological significance. The expression levels of c-FOS and the FOSB were determined by qRT-PCR. The immunohistochemical studies for c-FOS were performed on formalin-fixed paraffin-embedded surgical sections obtained from 150 patients with gastric cancer. We also investigated the role of c-Fos and FOSB in the regulation of in vivo analysis.

研究分野：消化器外科学

キーワード：AP-1 c-FOS FOSB gastric cancer

### 1. 研究開始当初の背景

近年癌の浸潤・転移には癌細胞のみならず、癌組織の維持・増殖にかかわる腫瘍微小環境（癌間質）の関わりが重要であると考えられている。癌微小環境の構造は癌組織によって積極的に構築され、様々の面で癌細胞の維持・浸潤・転移に有利な環境を作り出す。この癌微小環境の重要性が明らかとなるにつれ、癌微小環境を標的とした治療法が開発されるようになった。

### 2. 研究の目的

われわれは、癌間質細胞が産生するといわれているインターロイキンなどの炎症性サイトカイン、ケモカイン、血管内非細胞増殖因子やインスリン様成長因子、血小板由来成長因子などの増殖因子や細胞外基質分解酵素（MMP）などの転移促進因子の転写を司る activator protein-1 (AP-1) (図1) に注目し、c-Fos/AP-1 阻害薬の投与による癌微小環境を標的とした新しい癌の治療法を確立する。

図1 . AP-1 はさまざまな癌遺伝子の転写を司る。

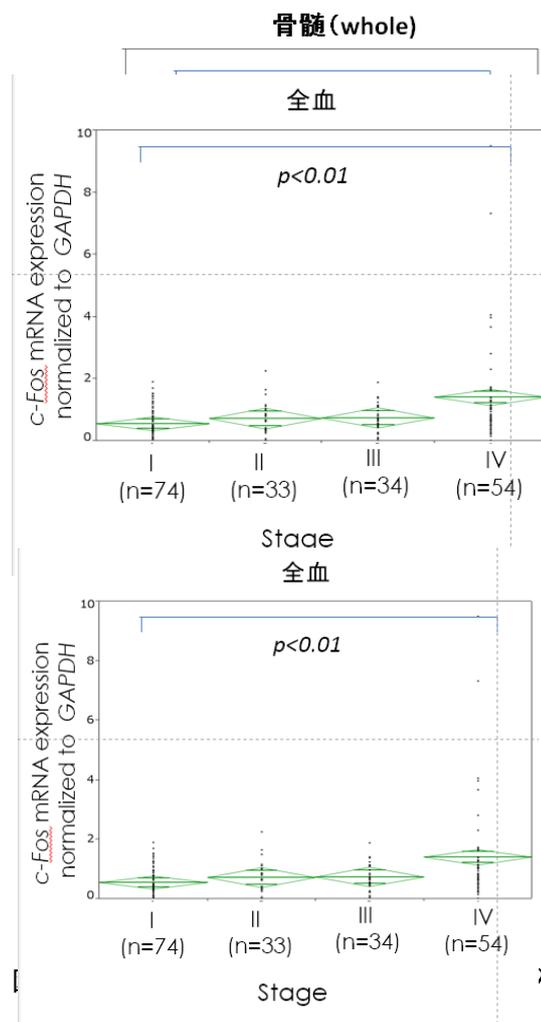
### 3. 研究の方法

国立がんセンター外科にて採取した胃癌患者の骨髓、および末梢血より RNA を抽出し、qRT-PCR 法にて *FOSB*、*c-Fos*、*c-Jun* についてその発現を検証した。また胃癌患者の癌組織の免疫染色により胃癌における c-FOS の発現を確認した。c-Fos/AP-1 阻害薬 (T-5224) には、AP-1 と DNA 結合部位を

選択的に阻害する低分子化合物であり、関節リウマチにおいて in vitro, in vivo にて AP-1 関連遺伝子である IL-1 $\beta$ 、IL-6 や MMP2、3、9、13 の発現を低下させ、関節・骨破壊を改善した (Aikawa Y et al. Nature Biotech. 2008)。我々は、胃癌腹膜播種モデルマウスにおいて、この c-Fos/AP-1 阻害薬 T-5224 投を行い、抗腫瘍効果について検討した。

### 4. 研究成果

胃癌患者骨髓 210 例 (Stage I 59 例, II 50 例, III 48 例, IV 53 例) において *FOSB*、*c-Fos*、*c-Jun* の発現を測定したところ、Stage が進行するごとにその発現が上昇していた ( $p < 0.01$ ) (図2)。また *c-Fos* については末梢血でも同様に Stage が進行するごとに発現が上昇していた ( $p < 0.05$ ) (図3)。免疫組織組織診にて c-FOS の発現は、予後には起因しなかった (図4)。



が進むほど発現が上昇していた。

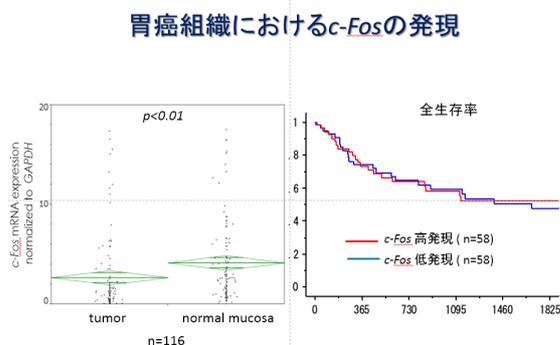


図4 . 胃癌組織における c-FOS の発現は予後には起因しなかった。

我々はさらに研究を行いc-Fos/AP-1阻害薬の投与が担癌状態患者の宿主細胞中c-Fosを標的とした新しい癌の治療法となることの証明を試みた。高腹膜播種モデルマウスに、c-Fos/AP-1阻害薬を投与し、コントロール群と腫瘍の増大、予後の比較を行った。しかし、c-Fos/AP-1阻害薬投与群では、腫瘍の進展が有意に増強し、予後が不良となった。これは、c-Fos/AP-1阻害薬が、癌のみならず宿主側の免疫機構に働き、c-Fos/AP-1を阻害してしまうことにより、宿主の癌に対する免疫が抑制されてしまうためと考えられた。担癌患者で高値を示していたFOXB1,c-Fosの発現も癌に対する宿主側の何らかの免疫機構のためと推測できた。これらの結果より宿主細胞中c-Fosを標的とした新しい癌の治療法としてのc-Fos/AP-1阻害薬は、治療効果として当初期待されたものではなかった。

#### 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 15 件)

1. Nagai Y, Watanabe M, Baba Y, Iwatsuki M, Hirashima K, Karashima R, Kurashige J, Kinoshita K, Baba H: Preventive effect of sivelestat on postoperative respiratory disorders after thoracic esophagectomy. *Surg Today* 43(4): 361-6, 2013. 査読有り
2. Saito S, Okabe H, Watanabe M, Ishimoto T, Iwatsuki M, Baba Y, Tanaka Y, Kurashige J, Miyamoto Y,

Baba H: CD44v6 expression is related to mesenchymal phenotype and poor prognosis in patients with colorectal cancer. *Oncol Rep* 29(4):1570-8, 2013. 査読有り

3. Takahashi Y, Sawada G, Kurashige J, Matsumura T, Uchi R, Ueo H, Ishibashi M, Takano Y, Akiyoshi S, Iwaya T, Eguchi H, Sudo T, Sugimachi K, Yamamoto H, Doki Y, Mori M, Mimori K: Tumor-derived tenascin-C promotes the epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer cells. *Anticancer Res* 33(5):1927-34, 2013. 査読有り
4. Takahashi Y, Sawada G, Kurashige J, Uchi R, Matsumura T, Ueo H, Takano Y, Akiyoshi S, Eguchi H, Sudo T, Sugimachi K, Doki Y, Mori M, Mimori K: Paired related homoeobox 1, a new EMT inducer, is involved in metastasis and poor prognosis in colorectal cancer. *Br J Cancer* 109(2):307-11, 2013. 査読有り
5. Mima K, Fukagawa T, Kurashige J, Takano Y, Uchi R, Ueo H, Matsumura T, Ishibashi M, Sawada G, Takahashi Y, Akiyoshi S, Eguchi H, Sudo T, Sugimachi K, Watanabe M, Ishii H, Mori M, Baba H, Sasako M, Mimori K: Gene expression of bone morphogenic protein 8B in the primary site, peripheral blood and bone marrow of patients with gastric cancer. *Oncol Lett* 6(2):387-92, 2013. 査読有り
6. Sawada G, Ueo H, Matsumura T, Uchi R, Ishibashi M, Mima K, Kurashige J, Takahashi Y, Akiyoshi S, Sudo T, Sugimachi K, Doki Y, Mori M, Mimori K: CHD8 is an independent prognostic indicator that regulates Wnt/beta-catenin signaling and the cell cycle in gastric cancer. *Oncol Rep* 30(3): 1137-42, 2013. 査読有り
7. Takahashi Y, Sawada G, Sato T, Kurashige J, Mima K, Matsumura T, Uchi R, Ueo H, Ishibashi M, Takano Y, Akiyoshi S, Eguchi H, Sudo T, Sugimachi K, Tanaka J, Kudo SE, Doki Y, Mori M, Mimori K: Microarray analysis reveals that high mobility group A1 is involved in colorectal cancer metastasis. *Oncol Rep* 30(3):1488-96, 2013. 査読有り

8. Kurashige J, Sawada G, Takahashi Y, Eguchi H, Sudo T, Ikegami T, Yoshizumi T, Soejima Y, Ikeda T, Kawanaka H, Uchiyama H, Yamashita Y, Morita M, Oki E, Saeki H, Sugimachi K, Watanabe M, Mori M, Baba H, Mimori K: Suppression of MAL gene expression in gastric cancer correlates with metastasis and mortality. *Fukuoka Igaku Zasshi*. 2013 Oct;104(10):344-9. 査読有り
9. Takahashi Y, Iwaya T, Sawada G, Kurashige J, Matsumura T, Uchi R, Ueo H, Takano Y, Eguchi H, Sudo T, Sugimachi K, Yamamoto H, Doki Y, Mori M, Mimori K: Up-regulation of NEK2 by microRNA-128 methylation is associated with poor prognosis in colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 21(1):205-12, 2014. 査読有り
10. Takahashi Y, Sawada G, Kurashige J, Uchi R, Matsumura T, Ueo H, Takano Y, Eguchi H, Sudo T, Sugimachi K, Yamamoto H, Doki Y, Mori M, Mimori K: Amplification of PVT-1 is involved in poor prognosis via apoptosis inhibition in colorectal cancers. *Br J Cancer* 110(1):164-71, 2014. 査読有り
11. Sawayama H, Ishimoto T, Watanabe M, Yoshida N, Sugihara H, Kurashige J, Hirashima K, Iwatsuki M, Baba Y, Oki E, Morita M, Shiose Y, Baba H: Small molecule agonists of PPAR- exert therapeutic effects in esophageal cancer. *Cancer Res* 74(2):575-85, 2014. 査読有り
12. Sawayama H, Ishimoto T, Watanabe M, Yoshida N, Baba Y, Sugihara H, Izumi D, Kurashige J, Baba H: High expression of glucose transporter 1 on primary lesions of esophageal squamous cell carcinoma is associated with hematogenous recurrence. *Ann Surg Oncol* 21(5):1756-62, 2014. 査読有り
13. Kurashige J, Baba H, Mimori K. et al. Epigenetic modulation and repression of miR-200b by cancer-associated fibroblasts contribute to cancer invasion and peritoneal dissemination in gastric cancer. *Carcinogenesis*. Jan;36(1):133-41,2015. 査読有り
14. Kurashige J, Mima K, Sawada G, Takahashi Y, Eguchi H, Sugimachi K, Mori M, Yanagihara K, Yashiro M, Hirakawa K, Baba H, Mimori K: Epigenetic modulation and repression of miR-200b by cancer-associated fibroblasts contribute to cancer invasion and peritoneal dissemination in gastric cancer. *Carcinogenesis* 36(1):133-41, 2015. 査読有り
15. Yoshida N, Baba Y, Watanabe M, Hiyoshi Y, Ishimoto T, Iwagami S, Kurashige J, Sakamoto Y, Miyamoto Y, Baba H: Triangulating Stapling Technique Covered with the Pedicled Omental Flap for Esophagogastric Anastomosis: A Safe Anastomosis with Fewer Complications. *J Am Coll Surg* 220(2):e13-6, 2015. 査読有り
- 〔学会発表〕(計 2 件)
1. 志垣博信、胃癌における Long interspersed nucleotide element-1 (LINE-1)のメチル化の臨床病理学的意義、第44回胃病態機能研究会、2012年9月28日、熊本、ホテル日航熊本
  2. 藏重淳二、胃癌骨髄中宿主細胞における転写因子 AP-1 (Fos/Jun) を標的とした新規治療法の確立、第68回日本消化器外科学会、2013年7月19日、宮崎、シーガイアコンベンションセンター
- 〔図書〕(計 0 件)
- 〔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：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：
- 〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

藏重 淳二 (KURASHIGE, junji)

熊本大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：90594474