

平成29年3月

神田裕介 学位論文審査要旨

主査 久郷裕之
副主査 林 一彦
同 岡田 太

主論文

Amigo2-upregulation in tumour cells facilitates their attachment to liver endothelial cells resulting in liver metastases

(腫瘍細胞における*Amigo2*の発現増加は肝内皮細胞への接着を促進して肝転移をもたらす)

(著者: 神田裕介、尾崎充彦、小沼邦重、園田彩奈、小林正伸、浜田淳一、Garth L. Nicolson、落谷孝広、岡田太)

平成29年 Scientific Reports DOI:10.1038/srep43567

参考論文

1. Fascin regulates chronic inflammation-related human colon carcinogenesis by inhibiting cell anoikis

(Fascinは細胞アノイクスを阻害することで慢性炎症関連ヒト結腸発癌を制御する)

(著者: 神田裕介、河口徳一、藏満保宏、北川孝雄、小林徳栄、高橋典彦、田澤大、Hasem Habelhah、浜田淳一、小林正伸、平畑美緒、小沼邦重、尾崎充彦、中村和行、北川知行、細川眞澄男、岡田太)

平成26年 Proteomics 14巻 1031頁～1041頁

2. Fermented brown rice and rice bran with *Aspergillus oryzae* (FBRA) prevents inflammation-related carcinogenesis in mice, through inhibition of inflammatory cell infiltration

(アスペルギルス オリザエによって発酵させた玄米と米糠 (FBRA) は炎症細胞の滲出阻害を介してマウスの炎症関連発癌を予防する)

(著者: 小沼邦重、神田裕介、鈴木 (池田) 紗織、坂木隆太、野々村拓也、小林正伸、尾崎充彦、鹿内正孝、小林博、岡田太)

平成27年 Nutrients 7巻 10237頁～10250頁

3. PAI-1, a target gene of miR-143, regulates invasion and metastasis by upregulating MMP-13 expression of human osteosarcoma

(miR-143の標的遺伝子であるPAI-1はヒト骨肉腫のMMP-13発現を増加させることによって浸潤と転移を制御する)

(著者：平畑美緒、尾崎充彦、神田裕介、杉本結衣、吉岡祐亮、小坂展慶、竹下文隆、藤原智洋、川井章、井藤久雄、落谷孝広、岡田太)

平成28年 Cancer Medicine 5巻 892頁～902頁

学 位 論 文 要 旨

Amigo2-upregulation in tumour cells facilitates their attachment to liver endothelial cells resulting in liver metastases

(腫瘍細胞における*Amigo2*の発現増加は肝内皮細胞への接着を促進して肝転移をもたらす)

転移研究は約150年以上前から行われてきたにも関わらず、未だにがんによる死亡原因の90%は転移で占められている。転移機構を明らかにすることは、がん死を制する上で極めて重要である。特に、がん患者の約60%の転移標的臓器は肝臓であり、所属リンパ節を除く全臓器の中で最多の頻度である。従って、肝転移の責任分子の同定は、その転移機構を解明するだけでなく、がん死に直結する肝転移の予防手段開発の上で喫緊の課題となる。本研究は、QRsP-11細胞株と、これの同系マウスへの脾内移植と細胞樹立を12回繰り返すことで得られたLV12細胞株との遺伝子発現プロファイルを比較し、肝転移の責任分子の同定を行った。

方 法

QRsP-11細胞の脾内移植後に生じる肝転移結節からの細胞株樹立と、これを新たなマウス脾臓内へ移植する操作を12回繰り返すことでLV12細胞株を得た。LV12細胞の肝転移能は、尾静脈内移植7日目における肝転移頻度により検討した。蛍光標識した腫瘍細胞を肝組織および肺組織由来の血管内皮細胞上に重層し、一定時間後に非接着細胞を除去し、蛍光プレートリーダーを用いて内皮細胞への腫瘍細胞の接着性を検討した。QRsP-11細胞とLV12細胞のDNAアレイ解析を行い、*Amigo2*等の発現をリアルタイムPCR法によって検討した。*Amigo2*をsiRNAによりノックダウンさせたLV12細胞の肝および肺由来の内皮細胞への接着性と肝転移能を評価した。QRsP-11細胞に*Amigo2*を強制発現させて内皮細胞に対する接着性と脾内移植による肝転移能を検討した。胃がんあるいは大腸がんの原発巣とその同一患者の肝転移組織を用いて*Amigo2*の免疫組織化学染色を行った。また、予後予測データベースのPrognoscan databaseあるいはKaplan-Meier Plotterを用いて胃がん、大腸がんの*Amigo2*発現と患者予後との相関について検討した。

結 果

LV12細胞とQRsP-11細胞をそれぞれ尾静脈内移植した結果、LV12細胞は有意に肝臓に転移したが、肺転移頻度は両細胞株間で同等であった。LV12細胞は肝内皮細胞に対して高い接着性を有していたが、肺内皮細胞への接着性は両細胞株間で同程度であった。LV12細胞において発現量の異なる遺伝子を包括的にアレイ解析して*Amigo2*を見出した。LV12細胞はQRsP-11細胞に比べ*Amigo2*発現が増加していることをリアルタイムPCR法により検証した。siRNA導入により*Amigo2*をノックダウンさせたLV12細胞では、肝内皮細胞への接着性が低下した一方で、肺内皮細胞への接着性には影響しなかった。また、脾内移植したLV12細胞の肝転移能は*Amigo2*発現をノックダウンさせることによりQRsP-11細胞と同程度に低下した。QRsP-11細胞の*Amigo2*発現を増加させると、肝内皮細胞への接着性と肝転移能が亢進した。さらに、胃がんおよび大腸がんにおける*Amigo2*は、原発巣に比べて肝転移巣において高発現していた。加えて、*Amigo2*を高発現する胃がんおよび大腸がん患者は低発現の患者に比べて予後不良であった。

考 察

LV12細胞はQRsP-11細胞と比較して肝臓への転移能の高い細胞株であった。その機構として、LV12細胞が肝内皮細胞へ選択的に接着するためであることが示唆された。腫瘍細胞に発現する*Amigo2*は、肝転移の最初のステップである肝内皮細胞への接着に必要な十分な分子であるが、肺内皮細胞への接着には関与しないことが示された。これまで報告のある腫瘍細胞の肝内皮細胞への接着に必要なとされた候補分子は、*in vivo*の肝転移実験等による検証や、ヒト臨床検体を用いた外挿がなされてこなかった。*Amigo2*分子は、実験動物腫瘍ならびにヒト腫瘍に共通する肝転移のドライバー遺伝子となることを初めて見出した。

結 論

腫瘍細胞における*Amigo2*は、肝内皮細胞への選択的な接着とその後の肝転移を規定する責任分子であることが示された。