

山梨県若手研究者奨励事業 研究成果概要書

所属機関名

北里大学大学院

職名・氏名

博士課程 伊東 由夏 ㊞

1 研究テーマ

胃癌における Fibrinogen gamma chain 発現検索と機能解析およびその臨床的意義の検証

2 研究の目的

胃癌は、本邦における罹患率第一位かつ好発年齢が 60 歳代である点から、超高齢化が進む日本においては今後も罹患者数が増加を辿ることが想定されている。近年、分子標的薬の進化に伴い、胃癌患者の死亡率は減少傾向にあるが、病理組織型の多様性や多発癌の存在など、高悪性度化傾向を示す症例が一定数存在するため、依然として予後不良な癌種として位置づけられている。そのため、胃癌の分子生物学的特性の理解は病態解明と予後改善の観点からも喫緊の課題である。先行研究過程において、胃癌細胞内では FIB サブユニットである Fibrinogen gamma chain (FGG) のみが高発現であることを見出した。近年、*in vitro* 実験系では FGG の発現解析およびその機能が着目され始めており、腫瘍細胞の遊走能および予後と相関性があると報告された (Am J Cancer Res, 2020)。胃癌における発現解析については未だ手付かずの状態である。そこで我々は、FGG に着目し発現検索と機能解析およびその臨床的意義について検討した。

3 研究の方法

本研究は 4 段階に分けて検討を行った。

① 胃癌における FGG 発現検索と臨床病理学的因子との相関性について

胃癌患者検体を用いた免疫組織化学染色 (IHC) を行い評価した結果から、臨床病理学因子、予後との関連性について解析した。

② FGG 発現制御機構の解析

FGG 発現制御機構に関与していると考えられる炎症反応について検討した。炎症細胞浸潤数の定量化、炎症性サイトカイン *IL-6* mRNA、炎症シグナル因子 p-Stat3 タンパクの検出を行い、FGG 高発現群/低発現群にて比較した。

③ 炎症シグナル誘導型 FGG 高発現細胞を用いた解析

FGG を発現している胃癌細胞株 (GCIY) を用いて、炎症シグナル試薬 *IL-6* 及びその阻

留意事項

① 3 枚程度で作成してください。

② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

害試薬 Sttatic を添加した際の FGG 及び pStat3 発現を Western blot 法や RT-PCR 法により解析した。

④ FGG 発現と各種マーカー発現の相関性について

胃癌組織を用いて、上皮間葉転換 (EMT) マーカーと癌幹細胞 (CSC) マーカーの免疫組織化学染色を行い、FGG 発現との相関を確認した。

4 研究の成果

① 胃癌における FGG 発現検索と臨床病理学的因子との相関性について

胃癌組織において FGG は腫瘍細胞の細胞質特異的に発現を示し、FGG mRNA 高発現群は全生存期間において有意に予後不良であった。

② FGG 発現制御機構の解析

FGG 誘導シグナルの検証をするために、FGG と炎症反応との関連性の解析を行った。その結果、FGG 高発現群は高度な炎症細胞浸潤を認め、炎症シグナル因子 p-Stat3 高発現、*IL-6* mRNA

A も強い染色性を認め、FGG と炎症反応の関連性を示した。

③ 炎症シグナル因子誘導型 FGG 高発現細胞を用いた解析

FGG 発現制御機構の解析のため、JASPAR にて FGG promoter 領域を解析したところ、5 つの Stat3 結合領域が存在することが明らかとなった。胃癌細胞株 GCIY に IL-6 による刺激を行ったところ、IL-6 濃度依存的に FGG、p-Stat3 の発現量が増加するという結果を得た。一方で、pStat3 阻害剤を添加したところ、FGG 発現が顕著に低下した。

④ FGG 発現と各種マーカー発現の相関性について

胃癌における FGG の機能解析を行うために、胃癌組織を用いて EMT マーカーと CSC マーカーの免疫組織化学染色を行った。FGG 発現は ALDH1 と Sox2 と発現が相関しており、FGG と CSC が関連している可能性が示された。

【まとめ】

本研究では、胃癌において FGG が腫瘍部特異的に発現し、胃癌細胞の CSC 化と患者予後に寄与している可能性が示された。研究結果より FGG が IL-6/Stat3 シグナルにより発現誘導されていることが示唆された。pStat3 は Jak/Stat シグナル伝達経路において重要な因子であり、炎症反応が活性化状態であることを示している。つまり、炎症シグナルが亢進することにより FGG が腫瘍細胞内に発現する可能性が考えられた。

5 今後の展望

今後はより詳細なメカニズムの検討を行い、in vitro 解析を中心にその発現意義を検

留意事項

① 3 枚程度で作成してください。

② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

証する必要がある。そのために FGG の機能解析を行う予定である。胃癌細胞株を用いて FGG 恒常発現系及びノックダウン系細胞の作製し、i) 細胞周期関連因子や細胞生存関連因子の解析、ii) 細胞増殖能への影響の解析、iii) 細胞運動能の解析、v) 抗癌剤処理 (5-FU やシスプラチンなど) 後、アポトーシス誘導率の評価、これらの実施を考えている。

6 研究成果の発信方法 (予定を含む)

本研究助成によって得られた研究成果は、第 113 回日本病理学会総会にてポスター発表を行った。今後も国内外での学会発表、論文発表などに加え、プレスリリースを行い広く国民に情報発信をする予定である。

留意事項

- ① 3 枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。