
尿路上皮癌における新規癌抑制遺伝子 periostin の
転移・浸潤抑制機構の解析

(課題番号 : 17591675)

平成 17 年度～平成 18 年度科学研究費補助金

(基盤研究 (C)) 研究成果報告書

平成 19 年 6 月

滋賀医科大学附属図書館



2006014376

研究代表者 磯野高敬
(滋賀医科大学医学部准教授)

はしがき

研究代表者らは、尿路上皮癌を中心とした泌尿生殖器癌の癌化の機構の解析とその臨床応用の研究を行ってきた。そのなかで、我々は、Periostin の mRNA の発現がヒト膀胱癌細胞株及び悪性化組織で著しく低下していること、Periostin の C 末領域に癌細胞の転移・浸潤に対する抑制機能があることを明らかにしてきた。この C 末領域には、アルターネイティブスプライシングが知られており、トランスクリプトの違いにより転移・浸潤に果たす応答が異なる可能性が考えられる。そこで、ヒト膀胱癌細胞株にレトロウイルスベクターを用いて C 末領域を異にする Periostin を導入し、転移・浸潤に及ぼす影響の解析と、プロテオミクスの手法を用いて C 末領域を異にする periostin と結合する蛋白を同定し、periostin 結合蛋白と periostin との相互作用のによる機能発現の解析という二つの解析によって、尿路上皮癌悪性化に関わる転移・浸潤に対する periostin の抑制機構を明らかにし、新たな治療への道を開くことを目的として本研究を行った。

研究組織

研究代表者：磯野高敬（滋賀医科大学医学部准教授）
研究分担者：井上寛一（滋賀医科大学医学部准教授）
研究協力者：金哲將（滋賀医科大学医学部非常勤講師・甲賀病院）

交付決定額（配分額）			（金額単位：円）
	直接経費	間接経費	合計
平成 17 年度	2, 200, 000	0	2, 200, 000
平成 18 年度	1, 500, 000	0	1, 500, 000
総計	3, 700, 000	0	3, 700, 000

研究発表

(1) 学会誌等

Kim CJ, Yoshioka N, Tambe Y, Kushima R, Okada Y, Inoue H

Periostin is down-regulated in high grade human bladder cancers and suppresses in vitro cell invasiveness and in vivo metastasis of cancer cells.

Int J cancer 117(1):51-8, 2005

Watanabe R, Chano T, Inoue H, Isono T, Koiwai O, Okabe H.

Rb1cc1 is critical for myoblast differentiation through Rb1 regulation.

Virchows Arch 447(3):643-8, 2005

Ishida Y, Okabe T, Azukizawa Y, Isono T, Seto A

Pathogenic potentials of glycoprotein C-negative syncytial mutants from rabbit T cells infected persistently with herpes simplex virus type 1.

J Med Virol 76(1):89-97, 2005

Zankov DP, Omatsu-Kanbe M, Isono T, Toyoda F, Ding W-G, Matsuura H, Horie M

Angiotensin II potentiates the slow component of delayed rectifier K⁺ current via the AT1 receptor in guinea pig atrial myocytes.

Circulation 113:1278-1286, 2006

Dohke T, Wada A, Isono T, Fujii M, Yamamoto T, Tsutamoto T, Horie M.

Proteomic analysis reveals significant alternations of cardiac small heat shock protein expression in congestive heart failure.

J Cardiac Failure 12:77-84, 2006

Omatsu-Kanbe M, Inoue K, Fujii Y, Yamamoto T, Isono T, Fujita N, Matsuura H

Effect of ATP on preadipocyte migration and adipocyte differentiation by activating P2Y receptor in 3T3-L1 cells.

Biochem J 393:197-201, 2006

Shimakage, M, Inoue, N, Oshima, K, Kawahara, K, Oka, T, Yasui, K, Matsumoto, K, Inoue, H, Watari, A, Higashiyama, S and Yutsudo, M
Down-regulation of ASY/Nogo Transcription associated with progression of adult T-cell leukemia/lymphoma.
Int J Cancer 119: 1648-1653, 2006

Chano, T, Saji, M, Inoue, H, Minami, K, Kobayashi, T, Hino, O and Okabe, H
Neuromuscular abundance of RB1CC1 contributes to the non-proliferating enlarged cell phenotype through both RB1 maintenance and TSC1 degradation.
Int J Mol Med 18: 425-432, 2006

Watanabe R, Tambe Y, Inoue H, Isono T, Haneda M, Isobe K, Kobayashi T, Hino O, Okabe H. Chano T
GADD34 inhibits mammalian target of rapamycin signaling via tuberous sclerosis complex and controls cell survival under bioenergetic stress.
Int J Mol Med. 19(3):475-83, 2007

Tambe Y, Yoshioka-Yamashita A, Mukaisho K, Haraguch S, Chano T, Isono T, Kawai T, Suzuki Y, Kushima R, Hattori T, Goto M, Yamada S, Kiso M, Saga Y and Inoue H
Tumor prone phenotype of mice deficient in a novel apoptosis-inducing gene, drs.
Carcinogenesis 28(4):777-84, 2007

Kageyama S, Iwaki H, Inoue H, Isono T, Yuasa T, Nogawa M, Maekawa T, Ueda M, Kajita Y, Ogawa O, Toguchida J, Yoshiki T
A novel tumor-related protein, C7orf24, identified by proteome differential display of bladder urothelial carcinoma.
Proteomics Clin Appl 1(2):192-199, 2007

Shimakage, M, Inoue, N, Oshima, K, Kawahara, K, Yamamoto, N, Oka, T, Tambe, Y, Yasui, K, Matsumoto, K, Yutsudo, M, and Inoue, H
Down-regulation of drs mRNA is associated with the progression of adult T-cell leukemia/lymphoma.
Int J Oncol 30: 1343-1348, 2007

Minami, K, Inoue, H, Terashita, T, Kawakami, T, Watanabe, R, Haneda, M, Isobe, K, Okabe, H and Chano, T
GADD34 induces p21 expression and cellular senescence.
Oncol Rep 7: 1481-1485, 2007

2. 口頭発表等

礒野高敬

泌尿器癌診断マーカータンパク質の探索

日本プロテオーム機構第3回大会 2005年8月

茶野徳宏、礒野高敬、井上寛一、岡部英俊

RB1CC1 と hSNF5 の介在がもたらす RB1 経路への影響と抗腫瘍効果

第64回日本癌学会総会 2005年9月

旦部幸博、向所賢一、茶野徳宏、礒野高敬、九嶋亮治、服部隆則、井上寛一

アポトーシス誘導能を持つ癌抑制遺伝子 Drs による腫瘍抑制効果の解析

第64回日本癌学会総会 2005年9月

礒野高敬、旦部幸博、井上寛一

v-src によるトランスフォーメーションにおける mTOR 経路の関与の解析

第64回日本癌学会総会 2005年9月

金哲將、礒野高敬、旦部幸博、岡田裕作、井上寛一

Periostin C 末端領域の alternative splicing と悪性化および浸潤・転移との関連

第64回日本癌学会総会 2005年9月

礒野高敬、金哲將、旦部幸博、井上寛一

Periostin 遺伝子による癌の浸潤・転移抑制機構の解析

第28回日本分子生物学会年会 2005年12月

旦部幸博、向所賢一、茶野徳宏、礒野高敬、九嶋亮治、服部隆則、井上寛一

Drs によるアポトーシス誘導と腫瘍抑制

第28回日本分子生物学会年会 2005年12月

南佳ほり、川上亨弘、茶野徳宏、井上寛一、寺下隆夫、岡部英俊、岡田裕作、岡本圭生

第14番染色体長腕上の刷り込み遺伝子 DLK1 はヒト腎細胞癌の癌抑制遺伝子である

第28回日本分子生物学会年会 2005年12月

茶野徳宏、佐治雅史、南佳ほり、井上寛一、岡部英俊

RB1CC1:RB1, mTOR 両経路への貢献と細胞増殖、サイズの調整、そして、その生理的意義

第 28 回日本分子生物学会年会 2005 年 12 月

Zankov D P, Toyoda F, Ding W-G, Omatsu-Kanbe M, Isono T, Matsuura H, Horie M

Characterization of sodium-potassium pump in the mouse cardiomyocyte cell line, HL-1

50th Biophysical Society Annual Meeting 2006 Feb

松浦博、Zankov D P、尾松万里子、豊田太、丁維光、堀江稔、磯野高敬

「イオンチャネル異常による致死性不整脈」

心房細胞における AT_1 受容体を介した緩徐活性型清流性 K^+ 電流 (I_{ks}) の増大と活動電位の短縮 —心房細動治療における AT_1 受容体遮断薬の有効性との関連—

第 23 回日本心電学会学術集会 2006 年 4 月

金 哲将、磯野高敬、旦部幸博、岡田裕作、井上寛一

Periostin の alternative splicing と膀胱癌の悪性化および浸潤・転移との関連性の解析

第 94 回日本泌尿器科学会総会 2006 年 4 月

Tambe Y, Yamamoto A, Isono T, Chano T, Inoue H

An apoptosis-inducing tumor suppressor gene, drs, is involved in regulation of autophagy and defence for viral infection.

20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology
2006 Jun

Watanabe R, Tambe Y, Inoue H, Minami K, Haneda M, Isobe K, Kobayashi T, Hino O, Okabe H, Chano T

Inhibition of mTOR signaling by GADD34 via TSC1/TSC2 contributes to cell survival against bioenergetic stress

20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology
2006 Jun

Minami K, Tambe Y, Inoue H, Watanabe R, Isono T, Kawakami T, Terashita T, Chano T

GADD34 controls cell survival by regulating autophagy

20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology

2006 Jun

Chano T, Saji M, Inoue H, Isono T, Okabe H

Neuromuscular abundance of RB1CC1 contributes the non-proliferating enlarged cell phenotype through both RB1 and TSC-mTOR pathways

20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology

2006 Jun

茶野徳宏、磯野高敬、井上寛一、岡部英俊

RB1CC1はhSNF5/INI1と介在し、p53を安定化させることによって抗腫瘍効果を発揮する

第65回日本癌学会総会 2006年9月

旦部幸博、磯野高敬、茶野徳宏、井上寛一

癌抑制遺伝子drsによるオートファジー制御

第65回日本癌学会総会 2006年9月

金哲将、磯野高敬、茶野徳宏、旦部幸博、岡田裕作、井上寛一

Periostinのalternative splicing variantsと悪性化および浸潤・転移との関連

第65回日本癌学会総会 2006年9月

南佳ほり、旦部幸博、渡部亮介、磯野高敬、磯辺健一、茶野徳宏、井上寛一

ストレス応答遺伝子GADD34からmTOR経路を介したウイルス増殖抑制機構

日本分子生物学会 2006フォーラム 2006年12月

青木健、磯野高敬、旦部幸博、井上寛一

v-srcによるトランスフォーメーションにおけるmTOR経路の役割とmTOR経路とMAPK経路のクロストーク

日本分子生物学会 2006フォーラム 2006年12月

研究成果

我々は、Periostin の mRNA の発現がヒト膀胱癌細胞株及び悪性化組織で著しく低下していること、Periostin の C 末領域に癌細胞の転移・浸潤に対する抑制機能があることを明らかにしてきた。この C 末領域には、アルターネイティブスプライシングが知られており、トランスクリプトの違いにより転移・浸潤に果たす応答が異なる可能性が考えられる。本研究は、ヒト膀胱癌細胞株にレトロウイルスベクターを用いて C 末領域を異にする Periostin を導入し、転移・浸潤に及ぼす影響の解析と、プロテオミクスの手法を用いて C 末領域を異にする periostin と結合する蛋白の同定、解析によって、尿路上皮癌悪性化に関わる転移・浸潤に対する periostin の作用機構を明らかにすることを目的として行った。

本研究では、以下の知見が得られた。

1. ヒト膀胱癌細胞株とヒト尿路上皮癌組織における periostin transcript variants の発現を、RT-PCR 法により検討した結果、正常な splicing で生じる transcript (WT) は、正常膀胱組織では 100% 発現していたが、膀胱癌組織では発現していなかった。一方、alternative splicing により生じる transcript variants は、正常膀胱組織だけでなく、膀胱癌組織 (45%) でも高頻度に発現していた。

これらの結果から、WT periostin transcript の発現が癌の浸潤・転移抑制と密接に関連していると考えられた。

2. ヒト膀胱癌組織から、periostin transcript のクローニングを試みたところ、C 末領域でアルターネイティブスプライシングにより 3 つのエクソンを欠失した periostin transcript varian A とその 3 つのうち 2 つのエクソンを欠失した periostin transcript varian B をクローニングすることが出来た。

この結果は、ヒト膀胱癌細胞株では、主に C 末領域でエクソンを欠失した transcript が主要な periostin transcript として存在することを示した。

3. ヒト膀胱癌細胞株に periostin transcript variants をレトロウイルスベク

ターにより導入した細胞株を作製し、細胞の浸潤能を検討した結果、WT と varian Bは浸潤能を抑制したが、varian Aでは抑制効果が減少していた。periostin トランスクリプトバリエーションを導入した癌細胞の肺への転移を検討した結果も、WT と varian Bは転移能を抑制したが、varian A では抑制効果が減少していた。

これらの結果は、ヒト膀胱癌組織で発現している periostin transcript variants は、必ずしも癌の浸潤・転移に抑制的に働くものではないことが解った。なお、ヒト膀胱癌組織では、varian A が主要な periostin の transcript であった。

4. Flag tag を導入したWTのperiostinを高発現する系から、このタンパク質に結合するタンパク質としてTAB1を同定し、TAB1と結合してMAPK経路を活性化するTAK1が、periostinを高発現する系でリン酸化し活性化することを見いだした。

periostinの癌の浸潤・転移の抑制作用の機構として、MAPK pathwayの関与が示唆された。

5. 免疫組織化学的解析から、periostinは、膀胱正常組織の間質に層状に分布したが、癌組織では層状構造ならびに発現が消失していた。

periostinは、膀胱組織においては、尿による物理的に受ける圧力を受けるというストレスに応答した構造維持に作用しており、その構造自体が、転移抑制的に働き、その消失により癌細胞の転移を可能ならしめていることが示唆された。

これらの結果から、膀胱組織においては、WT periostin の発現が尿路上皮癌悪性化に関わる転移・浸潤に対して抑制能を持ち、その作用機構として TAK1 を介した MAPK 経路の関与が示唆された。

今後、periostin が、TAK1 を介した MAPK 経路を介して、どのように尿路上皮癌の浸潤・転移の抑制作用を発揮するかを明らかにしていきたい