

# 食道癌と NOTCH1 シグナル伝達系の解析

## $\gamma$ セクレターゼ阻害薬の臨床応用

名古屋市立大学大学院医学研究科  
消化器外科学分野 病院助教 大久保友貴

### 1. 研究の背景・目的

食道癌は予後不良な疾患である。診断時には進行癌であることが多く、手術適応外である事も多い。手術適応を決定する際に、特に他臓器浸潤があるかどうかを基準とする。そのため、食道癌の癌浸潤メカニズムを解明することは、手術成績を向上させると同時に、浸潤のコントロールができれば、根治手術の適応を広げることができ、治癒率をより向上させることが可能になる。NOTCH1 シグナル経路は発癌に寄与するといった報告がみられる。膜貫通タンパク質である NOTCH1 は  $\gamma$  セクレターゼによって NECD1 (NOTCH1 Extra cellular domain) と NICD1 (NOTCH1 Intra cellular domain) に分割され、NOTCH1 経路が活性化される。NICD1 は核内に入り、NOTCH1 経路の下流遺伝子を活性化させて発癌が進むと考えられている。これまでに食道癌の切除標本において、NICD1 の mRNA 発現が予後と関連し、NICD1 が高発現の場合、予後が不良であることを報告した。詳細な症例の検討では、癌浸潤傾向の強い食道癌で、NOTCH1 の発現が高かった。予備実験では食道癌臨床検体の半数以上に NICD1 の核移行がみられた。つまり、食道癌においても NOTCH1 シグナルが活性化していることが示唆される。しかしながら、食道癌における  $\beta$ -catenin の核移行はごく少数であると報告されており、Wnt シグナルは活性化していないと考えられている。そこで我々は、 $\beta$ -catenin が核に蓄積しない食道癌においては、NOTCH1 シグナルが活性化され、浸潤を促進した結果、悪性度が上昇するという仮説を立てた。

本研究の目的は、 $\beta$ -catenin が核に蓄積しない食道癌において、NOTCH1 シグナル活性化が浸潤へ誘導する因子を同定することである。食道癌における臨床検体のデータから、浸潤能の高い癌において、NOTCH1 の発現が高かったため、NICD1 の核移行が食道癌の浸潤能に関与している可能性があると考えている。それらを明らかにすることによって、食道癌の浸潤をコントロールできれば手術不能食道癌を手術適応にできる可能性がある。

## 2. 研究の対象ならびに方法

### ①臨床検体と細胞株を用いた NOTCH1 シグナル亢進と食道癌浸潤能の相関

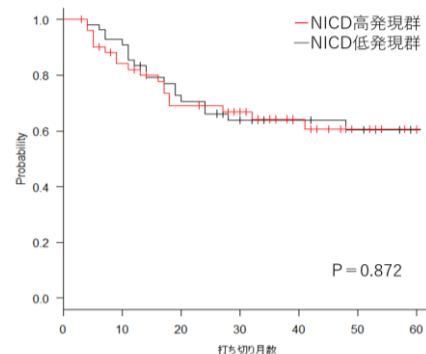
進行(浸潤性)食道癌と非浸潤性食道癌の臨床サンプルを用いて、進行度と NICD1 の発現の相関を確認する。

### ②NOTCH1 経路の抑制による抗癌作用の有効性の評価

大腸癌細胞株に siNOTCH1 もしくは  $\gamma$  セクレターゼ阻害薬を使用し、NOTCH1 経路を抑制した場合、増殖能の低下が認められている。食道癌細胞株の NOTCH1 シグナルを抑制することにより浸潤能および増殖能の評価を行う。また、NOTCH1 を強制発現させた食道癌細胞株と親株を比較して、浸潤能/増殖能を検索し、NOTCH1 発現との相関を検索する。

## 3. 研究成果

①2011年～2015年の食道癌の摘出標本(n=109)を用いて免疫染色を行い、NICD1の核での発現量を0:0～50%、1:50～100%として低発現群と高発現群の2群に分け、予後との比較を行った。低発現群は56例、高発現群は53例であった。今回の検討では明らかな有意差は認めなかった。



②食道癌細胞株 KYSE シリーズの NICD1 の発現量は KYSE70 で最も高値であり、KYSE30 で低値であった。KYSE70 に siNOTCH1 を導入し、KYSE30 に NICD1 を強制発現させるためにベクターを導入した。KYSE70 に siNOTCH1 を導入し、RT-PCR およびウエスタンブロッティングにて親株と比べ、NICD1 の発現を抑制できていることが確認できた。また、KYSE30 にベクターを導入し、親株と比べ、NICD1 の発現が増加していることが確認された。現在、浸潤能や増殖能を調べるために、WST-1 assay や invasion assay を施行し、Ki67 や PCNA および E-cadherin や Slug などの発現量を確認し、NICD1 の発現量と比較検討中である。

## 4. 考察

NOTCH1 の発現と予後に関しては、当教室より食道癌の切除標本において、NICD1 の mRNA 発現が予後と関連し、NICD1 が高発現の場合は予後が不良であることを報告済みである。タンパクレベルでの発現量については再度評価方法などを変更して、比較検討する必要があると考えられる。また、食道癌細胞株を使用した NOTCH1 の抑制および強発現した実験に関しては現在進行中である。

5. 文献

なし

6. 論文発表

今回の研究において、現段階では学会発表や論文発表には至っていない。