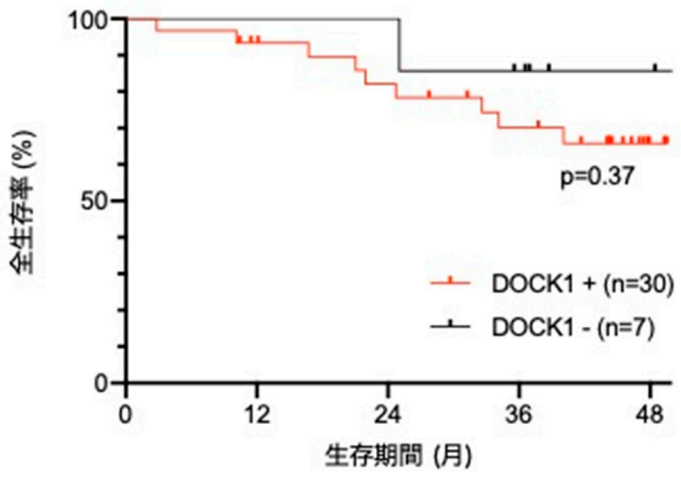
178　大腸癌における*DOCK1*の発現と臨床学的意義の検討	田尻　裕匡

【目的】がん遺伝子 RAS はヒトのがんで最も多く変異が見つかっており、大腸癌をはじめとする多くのがんで RAS に変異が認められている。Ras は、細胞外のシグナルを細胞内に伝える分子スイッチとして働く。正常な Ras は、細胞外の刺激を受けた場合にのみ活性型となり、増殖や分化、生存、細胞運動といった細胞活動を支える。一方で、変異によってがん化した Ras は、常にスイッチが入ったままの状態になるため、増殖や生存、細胞運動が異常に亢進して、がん化をもたらすことが知られている。変異型 Ras は、栄養源となる細胞外タンパク質の取り込みを促進し、細胞増殖に必要なグルタミンの供給源としている。この細胞外からのタンパク質を取り込む現象は、マクロピノサイトーシスと呼ばれ、Rac の作用によることが知られている。この Rac 活性化は DOCK1 に制御されており、最近の研究で変異 Ras の下流で DOCK1 が、がん細胞の生存、浸潤に重要な役割を果たしていることが報告されている。本研究では臨床検体を用いて大腸癌における DOCK1 の発現を確認し、さらに臨床学的意義を明らかにすることが目的である。
【方法】2016 年 1 月 1 日から 2016 年 12 月 31 日までに別府医療センターで大腸癌の治療を受けた 61 名の患者を対象とし、免疫染色を行った。DOCK1 の発現の有無を調べ、臨床学的因子について検討を行った。
【結果】標本が使用可能であった 37 例の検討を行った。37 例のうち、30 例（81.1%）で DOCK 1 の発現が認められた。DOCK1 発現群 30 例（81.1%）と非発現群 7 例（18.9%）の 2 群に分類して以下の検討を行った。背景因子として、年齢、性別、化学療法の有無、腫瘍径、T 因子、N 因子において両群間に差は認められなかった。予後との関連は、全生存率は DOCK1 発現群で低い傾向（P＝0.37）であった。DOCK1 が大腸癌における新たなバイオマーカーや、新たな治療標的因子となり得る可能性が示唆された。

大腸癌における DOCK1 発現と予後の関連



178. 大腸癌における *DOCK1* の発現と臨床学的意義の検討

田尻　裕匡

国立病院機構 別府医療センター 外科

Key words：大腸癌，DOCK1，RAS，Rac，免疫組織化学染色

緒　言

がん遺伝子 RAS はヒトのがんで最も多く変異が見つかっており、大腸癌をはじめとする多くのがんで RAS に変異が認められている［1］。Ras は、細胞外のシグナルを細胞内に伝える分子スイッチとして働く［2］。正常な Ras は、細胞外の刺激を受けた場合にのみ活性型となり、増殖や分化、生存、細胞運動といった細胞活動を支える。一方で、変異によってがん化した Ras は、常にスイッチが入ったままの状態になるため、増殖や生存、細胞運動が異常に亢進して、がん化をもたらすことが知られている。変異型 Ras は、栄養源となる細胞外タンパク質の取り込みを促進し、細胞増殖に必要なグルタミンの供給源としている。この細胞外からのタンパク質を取り込む現象は、マクロピノサイトーシスと呼ばれ、Rac の作用によることが知られている［3，4］。この Rac 活性化は DOCK1 に制御されており、最近の研究で変異 Ras の下流で DOCK1 が、がん細胞の生存、浸潤に重要な役割を果たしており、DOCK1 を遺伝的に欠損させると、マクロピノサイトーシスに依存した栄養源の取り込みや浸潤応答が抑制され、DOCK1 選択的阻害剤ががん細胞の浸潤応答やマクロピノサイトーシス、グルタミン欠乏条件下での生存を抑制し、マウス個体におけるがんの生着や転移が顕著に抑制されることが報告されている［5］。DOCK1 選択的阻害剤が、がんの生存や浸潤を標的とした新たな治療薬になりうることが期待されており、本研究では臨床検体を用いて大腸癌における DOCK1 の発現を確認し、さらに臨床学的意義を明らかにすることが目的とした。

方　法

1.　症例と検体

2016 年 1 月 1 日から 2016 年 12 月 31 日までに別府医療センターで大腸癌の治療を受けた 61 例を対象とした。そのうち、標本が使用可能であった 37 例の検討を行った。尚、研究は当施設倫理委員会にて承認されている。

2.　免疫組織化学染色

37 例症例の病理標本、臨床病理学的所見、予後等の情報を集積した。抗 DOCK1 抗体（Santa Cruz）にて免疫組織学的染色を行った。DOCK1 発現と臨床学的意義を検討した。

本研究では、いずれも生存については Kaplan-Meier 法にて解析し、検定は Log-rank を用いた。また、Cox ハザードモデルを用いて予後検定を行った。$P<0.05$ にて有意差ありとした。

3.　統計解析

統計解析は、GraphPad Prism Version 8.4.2（Graph Pad Software、San Diego、CA、USA）を用いて行った。

結　果

1.　大腸癌における *DOCK1* の発現

大腸癌 37 例で DOCK1 の発現を評価した。DOCK1 発現は 30 例（81.1%）に認められた（図 1）。

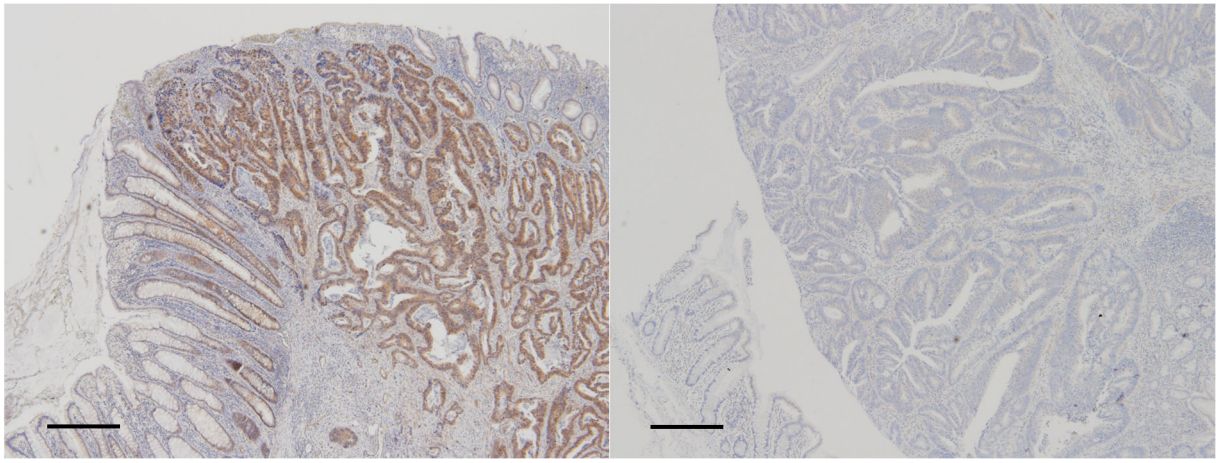


図 1. 大腸癌における DOCK1 発現
左側が陽性例、右側が陰性例。スケールバーは 500 μm。

2. DOCK 1 と予後との相関

DOCK1 発現群（n＝30、81.1%）と DOCK1 非発現群（n＝7、18.9%）に分け全生存率を比較した。統計学的有意差は認めなかったが（p＝0.37）、DOCK1 発現群で予後が不良である傾向を認めた（図 2）。また無再発生存率に関しても検討を行ったが、統計学的有意差は認めなかった（図 3）。

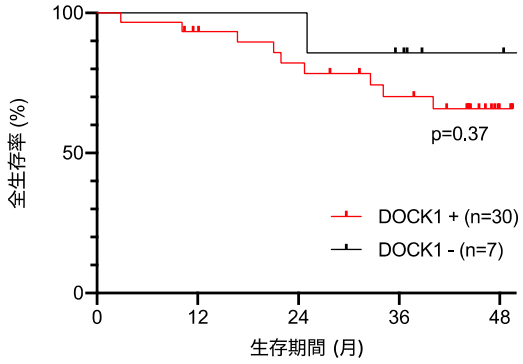


図 2. 大腸癌における DOCK1 発現と全生存率の相関
統計的有意差は認めなかったが（Log-rank (Mantel-Cox) test）、
DOCK1 発現例で予後不良である傾向を認めた。

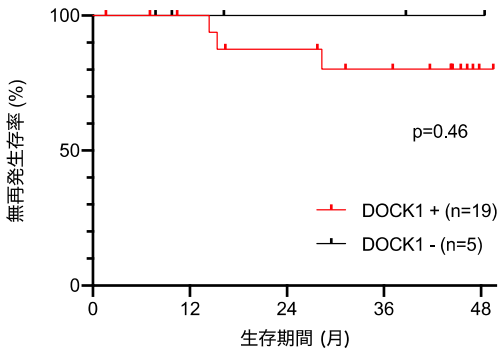


図 3. 大腸癌における DOCK1 発現と無再発生存率の相関
全生存率と同様に統計的有意差は認めなかったが（Log-rank (Mantel-Cox) test）、
DOCK1 発現例で予後不良である傾向を認めた。

考　察

切除不能進行再発大腸癌に対して使用される抗がん剤治療には、現在様々な機序の抗がん剤が存在する。この中に分子標的薬が含まれるが、EGFR を標的とした抗 EGFR 抗体薬は、RAS 変異型に適応がないなどの問題がある。また切除不能進行再発大腸癌における化学療法においては、どの薬剤も一定の効果をもたらすものの、いずれは必ず耐性が獲得され効果を失ってしまう。このため新たな機序の薬物療法の開発は急務である。すでに我々は、DOCK1 の機能を阻害して、変異 Ras によるがんの生存と転移を抑える新しい治療薬の開発に成功し、細胞内およびマウス個体での効果を証明している［5］。このことは DOCK1 に対する分子標的薬が、がんに対する有効な治療薬になるということを意味している。本研究では、大腸癌検体にも DOCK1 発現を認めた。症例数が少なく、統計学的有意差は示せなかったが、DOCK1 発現群で予後が不良である傾向が示された。DOCK1 阻害剤が、大腸癌治療の新たな治療薬につながる可能性があると考えられた。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、国立病院機構別府医療センター臨床研究部長の川中博文、病理部の吉河康二先生、中園裕一先生である。

文　献

1） Cox, A.D., Fesik, S.W., Kimmelman, A.C., Luo, J., and Der, C.J. (2014). Drugging the undruggable RAS: Mission possible? Nat. Rev. Drug Discov. 13, 828-851. doi: 10.1038/nrd4389. PMID:25323927

2） Colicelli, J. (2004). Human RAS superfamily proteins and related GTPases. Sci. STKE *2004*, re13.doi: 10.1126/stke.2502004re13. PMID:PMC2828947

3） Commisso, C., Davidson, S.M., Soydaner-Azeloglu, R.G., Parker, S.J., Kamphorst, J.J., Hackett, S., Grabocka, E., Nofal, M., Drebin, J.A., Thompson, C.B. (2013). Macropinocytosis of protein is an amino acid supply route in Ras-transformed cells. Nature 497, 633-637. doi: 10.1038/nature12138. PMID:23665962

4） Sanematsu, F., Nishikimi, A., Watanabe, M., Hongu, T., Tanaka, Y., Kanaho, Y., Côté, J.F., and Fukui, Y. (2013). Phosphatidic acid-dependent recruitment and function of the Rac activator DOCK1 during dorsal ruffle formation. J. Biol. Chem. *288*, 8092-8100. doi: 10.1074/jbc.M112.410423. PMID:23362269

5） Tajiri H, Uruno T, Shirai T, Takaya D, Matsunaga S, Setoyama D, Watanabe M, Kukimoto-Niino M, Oisaki K, Ushijima M, Sanematsu F, Honma T, Terada T, Oki E, Shirasawa S, Maehara Y, Kang D, Côté JF, Yokoyama S, Kanai M, Fukui Y. Targeting Ras-Driven Cancer Cell Survival and Invasion through Selective Inhibition of DOCK1. Cell Rep. 2017 May 2;19(5):969-980. doi: 10.1016 PMID:28467910