

平成 30 年 9 月 12 日現在

機関番号：87502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10126

研究課題名(和文) 非癌遺伝子依存を標的とした消化器癌治療を目標とした分子機序の解明

研究課題名(英文) Strategy of anti-cancer therapy for gastrointestinal cancers targeting non-oncogenic addiction

研究代表者

江頭 明典 (Egashira, Akinori)

独立行政法人国立病院機構別府医療センター(臨床研究部)・臨床研究部・その他

研究者番号：00419524

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：消化器癌発生におけるDNA修復機構の関与は、ミスマッチ修復異常に起因する遺伝性非腺腫性大腸癌、酸化損傷修復を担うMUTYH異常に起因するMUTYH関連ポリポーシス症(MAP)の報告などより明らかである。消化管の中でも食道は環境要因の暴露を受けやすく、その影響が強いことより、DNA修復機構の関与が重要であると考えられる。

食道原発神経内分泌癌における解析にて、DNA修復機構の要であるp53タンパク質異常とシグナル伝達経路異常の関連が示唆された。発癌機構を考える上で非常に興味深く、治療標的の解明へと繋がる知見であると考えられた。

研究成果の概要(英文)： Since the DNA mismatch repair could be associated with the hereditary non-polyposis colorectal, an inherited disorder of MUTYH DNA glycosylase, which removes mutagenic oxidized base from DNA, has been reported in MUTYH-associated polyposis, the connection between impairment of DNA repair function and gastrointestinal cancer is apparent. Esophagus always suffer from exposure to endogenous and exogenous mutagens, such as alcohol and cigarette smoking, the role of DNA repair pathway in preventing carcinogenesis might be quite important.

From the analysis of neuroendocrine carcinoma of the esophagus, the relationship between abnormality of p53, which is the key molecular of DNA repair, and the disruption of c-kit protein-related signal transmission pathway is presented. These results provide new insight into the understanding of the mechanism of carcinogenesis, and which in turn might be connecting the innovative treatment.

研究分野：消化器癌発生

キーワード：DNA修復機構 p53 食道癌 神経内分泌癌 c-kit

1. 研究開始当初の背景

消化器癌発生における DNA 修復機構の関与について、これまで遺伝子工学的手法により、*Mth1* 遺伝子欠損マウスでは酸化損傷に対する修復機構の異常が消化器発癌に結びつくこと (Tsunami T, Egashira A et al. : *PNAS* 98, 11456-61, 2001) *Mutyh* 遺伝子欠損マウスにおいては酸化剤投与により小腸発癌の著明な増加をみとめること (Sakamoto K, Egashira A et al. : *Cancer Res* 67, 6599-604, 2007) を報告してきた。また、種々の消化器癌について、ミスマッチ修復異常 (MMR) の指標となるマイクロサテライト不安定性解析 (MSI) を行い、それぞれの癌における MMR の関与を明らかにしてきた (Oda S, Egashira A et al. : *Nucleic Acids Res*, 33, 2005)。

食道癌臨床検体を用いた *p53* 遺伝子変異スペクトラム解析より、トランスバージョン型変異の誘因となる酸化的 DNA 損傷およびその修復機構が、食道発癌に関与していることを示唆するデータを得ている (Egashira A et al. : *Cancer Sci*, 98, 1152-1156, 2007)。酵素活性が低下する *MTH1* 遺伝子多型 (M83/M83) を、健常人コントロールと比較し胃癌患者に多く認めること (Kimura Y, Egashira A et al. : *J Med Genet*, 41, 57e, 2004) からは、*MTH1* 遺伝子多型 (M83/M83) を有する癌患者では *MTH1* 酵素活性が癌抑制に関与する可能性が示唆される。酸化的 DNA 修復酵素であり *MTH1* のバックアップを行っている *OGG1* 及び *MUTYH* の発現低下により、顕著な *MTH1* 抑制効果が得られる可能性がある。実際に、酸化的 DNA 損傷塩基である 8-OHdG が重喫煙者の正常食道に蓄積し、正常組織よりも癌組織に多くみられること、修復酵素である *OGG1* は逆に癌組織で発現が低下していることを見出した (Kubo N, Egashira A et al. : *Dis Esophagus*, 27, 285-293, 2014)。また、共同研究者らにより食道癌において、

DNA 二本鎖切断修復を担う *RAD51* タンパク質発現がリンパ節転移および予後のみならず、術前治療の効果に関与することを示唆するデータを得られている (Nakanoko T, Morita, M et al. : *Ann Surg Oncol* 21, 597-604, 2014)。これらの結果から、DNA 複製エラー、酸化的 DNA 損傷および DNA 二本鎖切断といった複数の DNA 損傷と、それらに対する修復機構異常が癌組織に認められることは確かである。

DNA 修復機構の中心となっている *p53* タンパク質について解析し、食道癌においては 60.6%に *p53* 遺伝子変異、67.5%に *p53* 遺伝子座の LOH、また 56.4%に *p53* タンパク質発現異常を伴うことより (Egashira A et al. : *J Surg Oncol* 104, 169-175, 2011)、発癌に於ける重要分子であることを示してきた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、癌細胞の特性を利用する広範な癌細胞特異的治療、いわゆる非癌遺伝子依存 (non-oncogenic addiction) を標的とした消化器癌治療を行うための分子機序を解明すること。

3. 研究の方法

(1) 食道癌について臨床病理学的解析

2003~13年の間に術前無治療にて手術を施行し、病理学的深達度 T1a、T1bであった 107例について臨床病理学的解析を行った

(2) 神経内分泌癌に於ける解析

神経内分泌癌組織のパラフィン包埋切片を用いて、神経内分泌マーカーである synaptophysin、chromogranin A および CD56、細胞増殖の指標として Ki67、また *p53*、*c-kit*、*p63*、*CK20*、*CK5/6* 等の分子マーカーに対する免疫組織化学染色を行った。

4. 研究成果

(1) 食道癌についての臨床病理学的解析

DNA 修復機構が深く関与すると考えられる食道癌についての基礎的な解析を行った。食道癌は術前治療が行われる事が多く、修飾の可能性を除外するため術前未治療症例に絞って解析を行った。2003～13年の間に術前無治療にて手術を施行し、病理学的深達度 T1a、T1b であった 107 例について解析した。平均年齢 64.8 歳、男性 90 例、女性 17 例。深達度 pT1a 24 例、pT1b 83 例、リンパ節転移は 33 例、リンパ管侵襲陽性が 29 例、静脈侵襲陽性が 13 例であった。再発との相関については、深達度、リンパ節転移および静脈侵襲の有無との間に有意な相関を認めた。食道癌特異的生存率との関連を多変量解析したところ、相関を認めた因子は、リンパ節転移 ($p=0.0001$) であり、深達度 ($p=0.08$) および静脈侵襲 ($p=0.12$) について有意差はないものの若干の傾向を認めた (第 117 回 日本外科学会定期学術集会にて発表)。更なる分子異常についての解析は進行中である。

(2) 神経内分泌癌に於ける解析

発癌機構は複数の経路が関連し合っており、単一経路の以上のみでは説明困難であることが多い。消化管原発神経内分泌癌は、最近その概念が樹立された疾患であり、非常に予後が悪く発癌の分子機序および治療の開発が急務である。その特徴より、癌細胞に於ける分子異常の phenotype が非常に強力と思われる。

食道は消化管の中で環境要因の暴露を受けやすく、またその影響が強いことが知られており、前述の如くこれまでの解析においても DNA 修復機構の関与が改めて重要であることが示されている。そ

こで食道悪性疾患に於ける頻度は約 1% と非常に稀であるが、食道原発神経内分泌癌 14 例を集積し解析を行った。

14 例中 10 例は p53 タンパク質発現異常を有しており、DNA 修復機構異常を伴うことが示唆された。非常に興味深いことに、食道原発神経内分泌癌においては、これまで消化管間葉系腫瘍 (GIST) との関連が確認されている c-kit タンパク質発現も高頻度で認め (9 例、64%)、さらにそのうち 8 例は同時に p53 タンパク質発現異常を有していた (Egashira A. et al, PLOS ONE, 2017)。このことは c-kit 経路と共に p53 タンパク質の異常が、少なくとも一部の神経内分泌癌の発癌に関与していることを示唆する。

更に胃原発神経内分泌癌 10 症例に対しても同様の解析を行ったが、p53 タンパク質発現異常は 5 症例 (50%)、c-kit タンパク質発現は 3 症例 (30%)、また同時に発現している症例は 2 例しか認めなかった (未発表データ)。臓器による発現の相違を認めており、今後更なる解析を行う予定である。

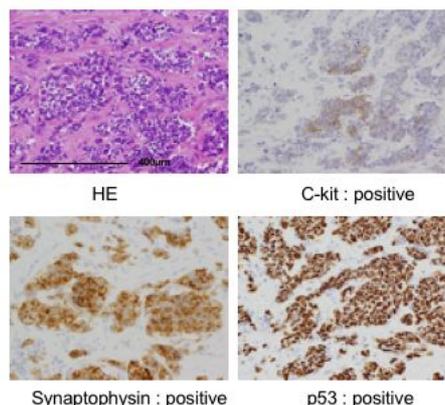


図 1 食道原発神経内分泌癌の分子異常

食道原発神経内分泌癌において、シグナル伝達を担う c-kit 経路の異常と DNA 修復機構の重要分子である p53 異常が相関することが示唆され、発癌機構を考える上で非常に興味深く、治療標的の解明へと繋がる知見であると

考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3 件)

(1) Egashira A, Morita M, Kumagai R, Taguchi KI, Ueda M, Yamaguchi S, Yamamoto M, Minami K, Ikeda, Y, Toh Y: Neuroendocrine carcinoma of the esophagus: Clinico-pathological and immune-histochemical features of 14 cases PLoS One 2017 12 e0173501 査読有

(2) Morita M, Egashira A, Nakaji YU, Kagawa M, Sugiyama M, Yoshida D, Ota M, Ikebe M, Masuda M, Inoue Y et al Treatment of Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus Synchronously Associated with Head and Neck Cancer In Vivo 2017 31 909-916 査読有

(3) Saeki H, Nakashima Y, Zaito Y, Tsuda Y, Kasagi Y, Ando K, Imamura Y, Ohgaki K, Ito S, Kimura Y, Egashira A, Oki E, Morita M, Maehara, Y: Current status of and perspectives regarding neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced esophageal squamous cell carcinoma. Surg Today 2016, 14(3): 261-267. 査読有

[学会発表](計 3 件)

(1) 江頭明典、上原英雄、新里千明、楠元英次、橋本健吉、園田英人、太田光彦、池部正彦、森田勝、坂口善久、楠本哲也、藤也寸志、池尻公二 病理学的深達度 T1 食道癌における手術治療成績の検討第 117 回日本外科学会定期学術集会、2017 年 4 月 27 日、横浜

(2) 江頭明典、上原英雄、新里千明、楠

元英次、橋本健吉、園田英人、坂口善久、楠本哲也、池尻公二 上部消化管原発神経内分泌癌に対する治療成績についての検討、第 72 回日本消化器外科学会総会、2017 年 7 月 20 日、石川

(3) 江頭明典、川中博文、田尻裕匡、皆尺寺悠史、増田崇、松本敏文、坂口善久、楠本哲也、池尻公二 手術を施行した上部消化管原発神経内分泌癌の治療成績、第 55 回日本癌治療学会学術集会、2017 年 10 月 20 日、横浜

[図書](計 0 件)

なし

[産業財産権]

なし

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

番号:

取得年:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

江頭 明典 (EGASHIRA AKINORI)

国立病院機構 別府医療センター 医長

研究者番号: 00419524

(2)研究分担者

藤 也寸志 (TOH YASUSHI)

国立病院機構 九州がんセンター 院長

研究者番号： 20217459

森田 勝 (MORITA MASARU)

国立病院機構 九州がんセンター 統括
診療部長

研究者番号： 30294937

山本 学 (YAMAMOTO MANABU)

国際医療福祉大学 福岡看護学部 教授

研究者番号： 30380405

南 一仁 (MINAMI KAZUHITO)

国立病院機構 九州がんセンター 医師

研究者番号： 50522851

沖 英次 (TOH YASUSHI)

九州大学病院 講師

研究者番号： 70380392

佐伯 浩司 (SAEKI HIROSHI)

九州大学病院 講師

研究者番号： 80325448