

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10127

研究課題名(和文) 消化管癌の発癌・進展における染色体不安定性の意義と発育制御への臨床応用

研究課題名(英文) Clinical application to significance and growth control of the chromosome instability in carcinogenesis, the progress of gastrointestinal cancer

研究代表者

河野 浩幸 (KAWANO, Hiroyuki)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：70596668

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)：食道癌多発症例やまだら食道において、食道非癌部でのLINE-1メチル化は有意に低下しており、ゲノムワイドな低メチル化が多発癌の発生に関与している可能性が示唆された。また、食道癌において各種ケモカインのメチル化異常を認めており、ゲノムワイドな低メチル化と炎症性メディエーターとの関連が支持された。

FANCJ低発現の食道癌において、術後に5FU+CDDPを施行した群は手術単独群と比して有意に予後良好であった。更に、術後化学療法を行った食道癌において、FANCJ低発現群は高発現群よりも有意に予後良好であった。FANCJの発現は化学療法の効果判定として有用なマーカーとなり得ると考える。

研究成果の概要(英文)：In multiple esophageal cancer and multiple Lugol-voiding lesion of esophagus, the LINE-1 methylation in the esophageal normal mucosa significantly decreased. We suggest that the genome-wide hypomethylation was widely participated in outbreak of many carcinogenesis. In addition, methylation abnormality of various chemokines and in cancer of the esophagus was associated with genome-wide hypomethylation.

An effect of the preoperation chemotherapy (5FU+CDDP) was high in esophageal cancer that had a low FANCJ expression, and the group that enforced 5FU+CDDP after surgery in a low FANCJ expression had a better prognosis than surgery alone group. Furthermore, in the patients of esophageal cancer that gave chemotherapy after surgery, the low FANCJ expression group significantly had a better prognosis than overexpression group. The expression of FANCJ can become a useful marker as effect measurement of the chemotherapy.

研究分野：総合生物

キーワード：食道癌 メチル化 FANCJ

1. 研究開始当初の背景

(1) 喫煙と飲酒などによる慢性炎症は、消化管、特に食道の発癌に強く関与している (Morita et al, Int J Clin Oncol 2010)。慢性炎症による IL-6 の上昇がゲノムワイドな低メチル化を惹起するとの報告があり、我々は喫煙と飲酒が食道の正常細胞においてゲノムワイドな低メチル化と関連することを明らかにし、喫煙とアルコールによる慢性炎症がゲノムワイドな低メチル化を引き起こすことを支持した。更に食道癌においてゲノムワイドな低メチル化は予後不良因子であることも明らかにしてきた (Kawano et al, Ann Surg Oncol 2014)。癌抑制遺伝子 p53 の異常は消化管の発癌に重要な役割を果たしているが、我々は遺伝子変異スペクトラムを解析し、特に食道癌では transversion 変異の頻度が高く、食道の発癌に喫煙が関わっていることを支持した (Morita et al, Cancer Sci 2007)。染色体不安定性は発癌を引き起こすと考えるが、SNP-CGH 解析により DNA コピー数の異常などゲノム全体の評価が可能である。我々はこの方法を用い、p53 遺伝子変異を伴う食道癌においては染色体不安定性に伴って起こる p53 遺伝子座のコピーニュートラル LOH が癌発生の重要なメカニズムであることを報告した (Saeki et al, Clin Cancer Res 2011)。

(2) 我々は、ゲノムワイドなメチル化レベルは染色体不安定性と逆相関することを明らかにした。更に、ゲノムワイドな低メチル化と p53 遺伝子異常との間には相関があり、また各種癌関連遺伝子のコピー数異常の頻度とも関連していることから、ゲノムワイドな低メチル化によって惹起された染色体不安定性が、各種の癌関連遺伝子異常を生じさせ、消化管癌の発癌及び進展に関与している可能性を報告した (Kawano, Morita et al, Ann Surg Oncol 2014)。

我々は**ファンコニ貧血経路**のタンパクの一

つである FANCD1 が大腸癌に置いて発現が亢進し、さらに過剰発現している症例は予後不良であることを報告した。最近、ファンコニ貧血経路は DNA 修復だけでなく、細胞分裂期の制御にも関与していることが明らかとなっており、ファンコニ貧血経路の異常が染色体不安定性を惹起することが支持される。また、**p21 活性化キナーゼ (PAK)** の過剰発現が発癌及び癌の進展に関与することが報告されているが、食道癌における発現程度は明らかではない。

2. 研究の目的

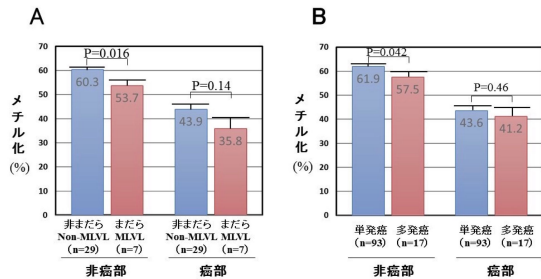
消化管癌の発生及び進展における分子生物学的メカニズムは多岐に及ぶと考えられるが、その詳細は明確でない。ゲノムワイドなメチル化レベルと p53 遺伝子変異パターン、ファンコニ貧血経路の各種タンパク発現を解析することで、**ゲノムワイドな低メチル化による染色体不安定性に対しての p53 遺伝子およびファンコニ貧血経路との関連を検証**できる。また、消化管癌における **PAK1 及び PAK4 の発現と、PAKs とゲノムワイドな低メチル化との関連**についても解析する。

3. 研究の方法

消化管癌 (食道癌、胃癌、大腸癌) に対し、**LINE-1 メチル化解析 (パイロシーケンス法)**、**p53 遺伝子変異スペクトラムの解析**、**染色体ダイナミック解析 (SNP-CGH 解析)**を行う。**ファンコニ貧血経路の各種因子**および **PAK1、PAK4** において、細胞株レベルでは PCR 及び Western blotting、臨床検体では免疫組織染色を行う。LINE-1 メチル化レベルと染色体不安定性、ファンコニ貧血経路、PAK との関係を統計学的に解析する。

4. 研究成果

(1) 食道癌の多発症例や、まだら食道といったヨード不染帯の食道癌好発母地が問題となっているが(喫煙、飲酒と関連あり)、これらの食道非癌部でのメチル化は有意に低下しており、ゲノムワイドな低メチル化が多発癌の発生に關与している可能性が示唆



された(図1)。

図1 多発食道癌およびまだら食道における癌部、非癌部のメチル化

(2) p21 活性化キナーゼ (PAK) の過剰発現が発癌及び癌の進展に關与することが報告されている。我々は食道癌において、ゲノムワイドな定メチル化により染色体不安定性である症例ではPAK1及びPAK4のコピー数異常があることを明らかにした(図2)。またケモカインについても、CXCL12発現症例ではリンパ節転移が有意に多いと報告されているが、我々の研究でもゲノムワイドな低メチル化を伴う食道癌において各種ケモカインのメチル化異常を認めており、ゲノムワイドな低メチル化と炎症性メディエーターとの關連が支持される(図3)。

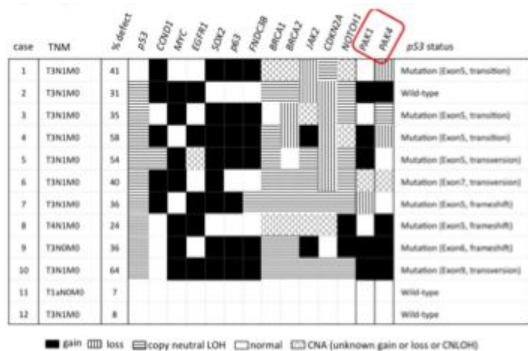


図2 種々の癌關連遺伝子のコピー数異常

chemokine	癌部	非癌部	差	癌部でのメチル化
CXCL1	0.6144717	0.9003423	-0.2858706	Down
CXCL5	0.7025571	0.02924153	0.67331557	Up
CXCL12	0.4634477	0.7801812	-0.3167335	Down
CCL5	0.09188338	0.5464994	-0.45461602	Down
CCL11	0.2789671	0.7649425	-0.4859754	Down
CCL25	0.184783	0.8783844	-0.6936014	Down
CCL26	0.1173694	0.6371402	-0.5197708	Down
CCL28	0.5974487	0.04533289	0.55211581	Up

図3 低メチル化を伴う食道癌におけるケモカイン因子のメチル化

(3) FANCI は、DNA の double strand break 修復と interstrand crosslinks 修復の両方に關与しており、5-FU は前者を、シスプラチン (CDDP) は後者を引き起こすことが分かっている。我々の研究で FANCI 発現が低い食道癌は術前化学療法 (5FU+CDDP) の効果が高く、また FANCI 低発現の食道癌において術後に 5FU+CDDP を施行した群は手術単独群と比して有意に予後良好であった。また、術後化学療法を行った食道癌に置いて、FANCI 低発現群は高発現群よりも有意に予後良好であった。FANCI の発現は化学療法の効果判定として有用なマーカーであることが支持された(図4)。

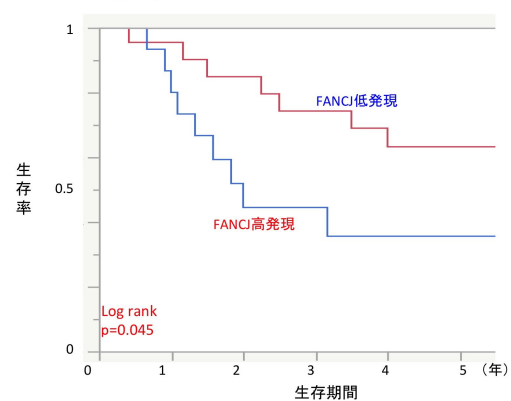


図4 術後化学療法を施行した食道癌 (stage II+III) の予後と FANCI 発現との關連

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7件)

野野浩幸、山本学、森田勝、藤也寸志、
穿孔性腹膜炎による Aeromonas

hydrophila 敗血症の1例、日本救急医学会雑誌、査読有、28巻11号、2017、857-862
Yamamoto, M., H. Kawano, M. Morita, Y. Toh . "Technical and Survival Risks Associated With Esophagojejunostomy by Laparoscopic Total Gastrectomy for Gastric Carcinoma." Surg Laparosc Endosc Percutan Tech 2016, **27**(3): 197-202. (査読有)

Yamamoto, M., H. Kawano, M. Morita, Y. Toh. "Comparison of Neoadjuvant Chemotherapy to Surgery Followed by Adjuvant Chemotherapy in Japanese Patients with Peritoneal Lavage Cytology Positive for Gastric Carcinoma." Anticancer Res **35**(9): 4859-4863. (査読あり)

E. Oki, H. Kawano, H. Saeki, M. Morita
(1. "Correlation of HER2 expression with clinicopathological characteristics and prognosis in resectable gastric cancer." Anticancer Res, 2016, **35**(4): 2441-2446. (査読有)
E. Oki, H. Saeki, H. Kawano, M. Morita. "Discrimination of p53 immunohistochemistry-positive tumors by its staining pattern in gastric cancer." Cancer Med **4**(1): 75-83. (査読有)

河野浩幸、藤也寸志、【生活習慣病-新しい展開】見直された生活習慣病と疾患 癌、臨床と研究

2016、93巻、1号、53-58. (査読有)

森田勝、河野浩幸、山本学【高齢者における外科治療の低侵襲化と至適管理】消化管外科、日本外科学会雑誌、2016年、117巻3号、166-173

〔学会発表〕(計8件)

大腸粘液癌に対する臨床病理学的因子と

治療との関連、第118回日本外科学会定期学術集会、2018年

Two cases of AFP and PIVKA-II producing gastric cancer with hepatic metastasis、第90回日本胃癌学会総会、2018年

まだら食道と食道多発癌におけるLINE-1メチル化の検討、第117回日本外科学会学術集会、2017年

胃神経内分泌細胞癌切除症例に対する検討、第72回日本消化器外科学会総会、2017年

横行結腸癌に対する腹腔鏡手術手技の検討、日本内視鏡外科学会総会、2016年
stage II-III 右または左結腸癌における術後補助化学療法の意義、第71回日本消化器外科学会総会、2016年

進行胃癌に対する腹腔鏡下胃切除術の有用性の検討、第116回日本外科学会学術集会、2016年

早期胃癌における幽門側胃切除術の腹腔鏡手術と開腹手術での長期成績、日本語内視鏡外科学会総会、2015年

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

河野 浩幸 (KAWANO, Hiroyuki)
九州大学・医学研究院・共同研究員
研究者番号：70596668

(2) 研究分担者

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

藤 也寸志 (TOH, Yasusi)
独立行政法人国立病院機構 (九州がんセンター臨床研究センター)・その他部局等・院長
研究者番号：20217459

森田 勝 (MORITA, Masaru)
独立行政法人国立病院機構 (九州がんセンター臨床研究センター)・その他部局等・消化器外科部長
研究者番号：30294937

沖 英次 (OKI, Eiji)
九州大学・大学病院・講師
研究者番号：70380392

佐伯 浩司 (SAEKI, Hiroshi)
九州大学・医学研究院・准教授
研究者番号：80325448

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者