

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K09289

研究課題名(和文)胃癌におけるSox9の役割

研究課題名(英文)The role of Sox9 in the gastric carcinoma

研究代表者

武藤 弘行 (Mutoh, Hiroyuki)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：50322392

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)：胃癌は死因の第2位である。分化型胃癌はピロリ菌の感染による腸上皮化生を基盤に発生する。しかしピロリ菌除菌後も胃癌が発生する。腸上皮化生粘膜を発生するCdx2トランスジェニックマウスから分化型胃癌が発生することを報告してきた。Cdx2 Tgマウスの腸上皮化生粘膜ではWntシグナル下流に位置するSox9が発現していることも明らかにした。ヒトの腸上皮化生と分化型胃癌においてもSox9が発現していることを報告してきた。Sox9の胃癌発生における役割を明らかにするためSox9を胃粘膜に特異的発現するトランスジェニックマウスの作製に成功した。Sox9 Tgマウスの胃粘膜は著明に肥厚していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胃癌は死因の第2位である。分化型胃癌はピロリ菌の感染による腸上皮化生を基盤に発生する。しかしピロリ菌除菌後も胃癌が発生する。腸上皮化生粘膜を発生するCdx2トランスジェニックマウスから分化型胃癌が発生することを報告してきた。Cdx2 Tgマウスの腸上皮化生粘膜ではWntシグナル下流に位置するSox9が発現していることも明らかにした。ヒトの腸上皮化生と分化型胃癌においてもSox9が発現していることを報告してきた。Sox9の胃癌発生における役割を明らかにするためSox9を胃粘膜に特異的発現するトランスジェニックマウスの作製に成功した。Sox9 Tgマウスの胃粘膜は著明に肥厚していた。

研究成果の概要(英文)：The gastric carcinoma is the 2nd cause of the death. The well-differentiated gastric carcinoma occurs from intestinal metaplasia generated by infection of Helicobacter pylori. But the gastric carcinoma also occurs after the eradication of Helicobacter pylori. It has been reported that the well-differentiated gastric carcinoma occurs from Cdx2-transgenic mice which generate intestinal metaplasia. The Sox9 located in the lower stream of the Wnt signal was also recognized in the intestinal metaplasia of Cdx2-Tg mice. It has been reported that Sox9 was also recognized in the human intestinal metaplasia and gastric carcinoma. To clarify the role of Sox9 in the generation of gastric carcinoma, we generated the transgenic mice that express the Sox9 in the gastric mucosa. The gastric mucosa of Sox9-Tg mice was extremely thickened.

研究分野：消化器内科

キーワード：Sox9

## 1. 研究開始当初の背景

分化型胃癌の前癌病変であり、胃粘膜の分化異常である腸上皮化生は腸型の形質を表している。この腸上皮化生粘膜に Wnt シグナル下流の遺伝子の 1 つである Sox9 が発現していることを ESD で得られたヒトの標本において明らかにし、既に報告している。我々の作製した Cdx2 トランスジェニックマウスにおいても腸上皮化生粘膜とそこから発生した分化型胃癌において Sox9 が発現していることを明らかにした。他の研究施設においても胃癌における Sox9 の発現を報告しているが、Sox9 が胃癌の発癌に関与するとする報告と抑制に関与するとする報告があり一定の見解が得られていない。しかし、前癌病変である腸上皮化生粘膜においてはヒトでもトランスジェニックマウスにおいても Sox9 が高発現しており、しかもヒトでもトランスジェニックマウスでも分化型胃癌においても Sox9 が高発現していることは、胃癌の発癌において何らかの密接な関係があることを強く示唆している。しかし、臨床から得られた病理標本や遺伝子検索では Sox9 の分化型胃癌においてただ単に共発現しているだけなのか、発癌や前癌病変である腸上皮化生粘膜の原因となっているのかを明らかにすることは限界がある。そこで胃粘膜に Sox9 を発現させることが、これらの疑問を解決する優れた方法となることは明らかである。しかし、トランスジェニックマウスの作製はプロモーターの良し悪しを含め、必ずしも成功するわけではない。しかし、我々はこの申請時期に当たりちょうど Sox9 の胃粘膜特異的なマウスの作製に成功した。しかも胃粘膜の組織形に明らかな変化があることを確認している。しかも複数の系統において同様の組織形の変化を確認しえた。このモデルマウスの胃粘膜を解析することにより Sox9 の腸上皮化生や胃癌における関与を明らかにすることができ、この実験系は現時点では他の研究施設では国内・国外を問わず不可能である。さらに我々の研究室では分化型胃癌の前癌病変である腸上皮化生を引き起こす Cdx2 トランスジェニックマウスを保有しており、Sox9 トランスジェニックマウスと腸上皮化生を引き起こす Cdx2 トランスジェニックマウスとを交配することにより腸上皮化生と Sox9 との関係も明らかにすることができると確信している。

## 2. 研究の目的

胃癌の大きな原因として *H. pylori* 感染がある。*H. pylori* の長期感染による慢性胃炎によって萎縮性胃炎がおこり、正常の胃粘膜の分化から変化し腸型の粘膜になる腸上皮化生が発生する。腸上皮化生粘膜においては転写因子 Cdx2 が発現しており、Cdx2 を胃粘膜に特異的に発現させることにより腸上皮化生を引き起こし、そこから分化型胃癌が発生することを我々は明らかにしてきた。胃癌発生における遺伝子異常として Wnt シグナルの下流の遺伝子が過剰発現していることが報告されている。そこで、我々もヒトの腸上皮化生粘膜において、Wnt シグナルの下流に位置する Sox9 が高発現していることを報告してきた。我々の作製した腸上皮化生粘膜でも Sox9 が高発現しており分化型胃癌の発生における Sox9 の関与が示唆された。そこでわれわれは胃粘膜に特異的 Sox9 を発現するトランスジェニックマウスを作製した。胃粘膜に特異的に Sox9 を発現させるために壁細胞に存在する H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase の β サブユニットのプロモーターを使用した。そこで我々がすでに作製に成功した Sox9 を胃粘膜に特異的に発現するトランスジェニックマウスを用いることにより Sox9 の胃癌発癌における役割を明確にすることとした。

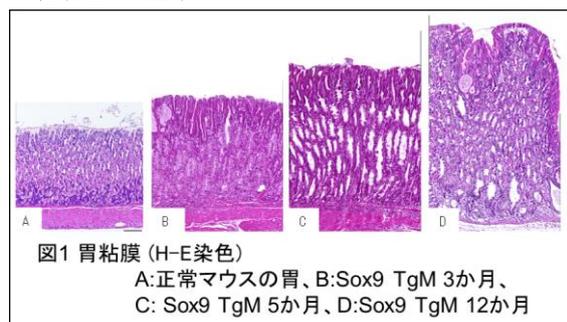
## 3. 研究の方法

胃癌の前癌病変である腸上皮化生粘膜に Sox9 が発現しており、この Sox9 を胃粘膜に特異的に発現させたトランスジェニックマウスを作製した。この Sox9-Tg マウスの胃粘膜を用いて、①胃癌との関係を明らかにする、②既に作製した腸上皮化生から胃癌の発生する Cdx2-Tg マウスとの交配により胃癌発生における Sox9 の役割を解明する、③Cdx2-Tg マウスの腸上皮化生粘膜の腺管を取り囲む線維芽細胞では発癌に関与する cyclooxygenase-2 (Cox-2) が発現していたことから、Cdx2 と Sox9 のダブルトランスジェニックマウスにおける Cox2 の発現・microRNA と発癌との関係を解明する。

## 4. 研究成果

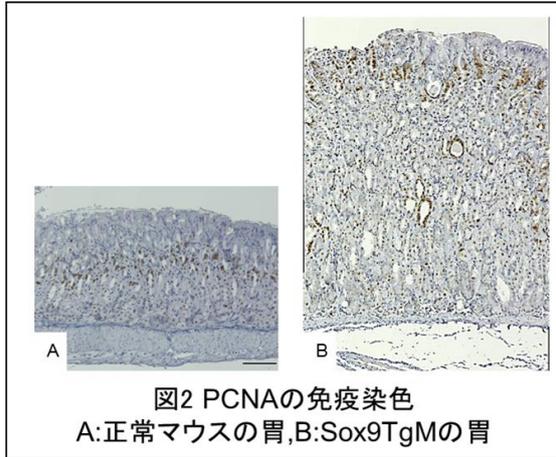
### (1) Sox9 トランスジェニックマウス (Sox9-TgM) の胃粘膜の肥厚

胃粘膜に特異的に Sox9 を発現させるために壁細胞に存在する H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase の β サブユニットのプロモーターを使用した。作製した Sox9 のトランスジェニックマウスの胃粘膜のヘマトキシリンエオジン染色標本を示す (図 1)。3 か月ごろから明らかな肥厚が始まり、時間経過とともに肥厚が促進する。正常の胃粘膜に比較して Sox9 トランスジェニックマウスの胃粘膜が著しく肥厚していることがわかる。



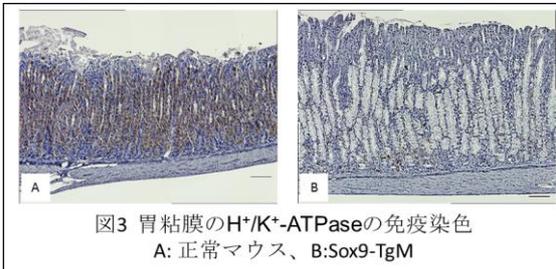
## (2)PCNA 陽性細胞の散在

Sox9-TgM の胃では正常の胃と比較して、増殖帯以外にも PCNA 陽性細胞が散在していた。



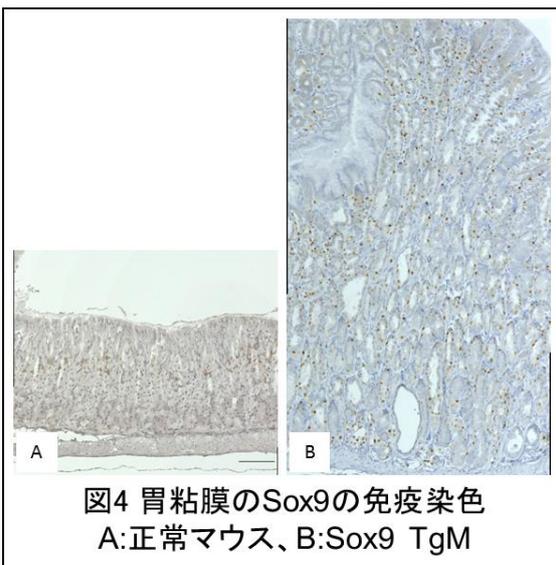
## (3)H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 陽性細胞の消失

Sox9 TgM の胃では H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 陽性細胞である壁細胞が完全に消失していた。



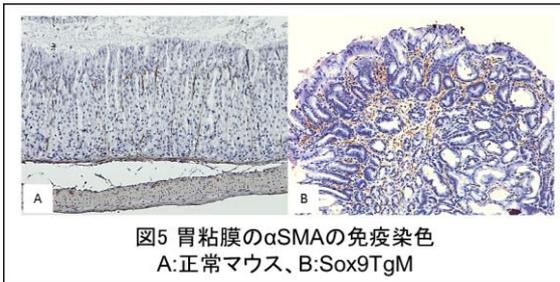
## (4)Sox9 陽性細胞

Sox9-TgM の胃では壁細胞が消失し、Sox9 が胃体部全体で散在的に発現していた(図 4)。PCNA 陽性の増殖帯と Sox9 の高発現部位が一致しており腸上皮化生粘膜からの分化型胃癌の発生と発癌との関係に Sox9 が関与している可能性が示唆される。そこで Sox9 の分化型胃癌の発生における役割を明らかにすることは萎縮した胃粘膜からの発癌のメカニズムを明らかにすることにつながり、発癌予防の解明につながる。



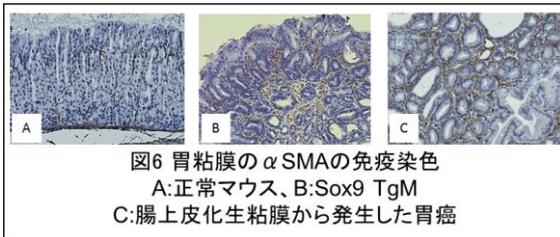
### (5) $\alpha$ SMA 陽性の線維芽細胞の増加

Sox9-TgM の胃では  $\alpha$  SMA 陽性の線維芽細胞が顕著に増加していた。



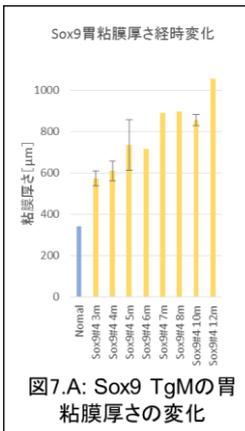
### (6) 腫瘍での $\alpha$ SMA 陽性の線維芽細胞発現

Sox9-TgM では腫瘍同様、線維芽細胞が増加していた。



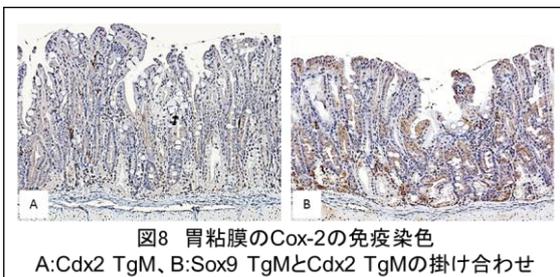
### (7) Sox9 TgM の粘膜肥厚

正常胃粘膜と比較すると 3 か月ごろから明らかな肥厚が始まった。肥厚は 1 年以上進行し続けた。



### (8) Sox9 TgM の Cox2 の発現

掛け合わせマウスでは間質が増え発癌に関係している Cox2 も増加していた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----