

令和元年6月20日現在

機関番号：82610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09299

研究課題名(和文)ピロリ菌感染に依存しない食道-胃接合部及び胃体部癌の分子病態解析

研究課題名(英文) Helicobacter pylori infection-independent adenocarcinomas of the gastroesophageal junction and gastric corpus

研究代表者

河村 由紀 (KAWAMURA, Yuki I.)

国立研究開発法人国立国際医療研究センター・その他部局等・消化器病態生理研究室長

研究者番号：10392391

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-胃接合部癌は、胃癌とも食道癌とも異なる特徴を有した癌である。接合部癌はヘリコバクター・ピロリ菌の除菌や、高脂肪高カロリーの西洋食摂取に伴う肥満の増加に並行して本邦でも増加しているが、その病態ならびに発生の分子メカニズムは明らかにされていない。本研究では、接合部癌においてDNAメチル化異常により発現が変化する分子の探索を行った。食道-胃接合部癌にはバレット腺癌と、非バレット腺癌が含まれているので両者を分類して検討を進めた結果、見出した分子の中でGSTO2はバレット腺癌においてのみDNAメチル化亢進によりその発現が抑制されることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、食道-胃接合部には食道重層扁平上皮細胞の供給源となる基底細胞や、胃腺底部に存在する幹細胞とは異なる形質を有した胚性上皮細胞が存在することが示され、更にマウスモデルを用いた研究よりこの胚性上皮細胞がバレット上皮の起源となることが報告されている。本研究で見出したGSTO2分子は、ヒトおよびマウスの正常食道-胃接合部に存在する胚性上皮細胞に局限して発現していたため、バレット食道の起源である胚性上皮細胞の生理的・病理的な動態解明に有用なマーカーとなる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Gastroesophageal junction cancer is apparently different from both gastric and esophageal cancers. Recently, prevalence of gastroesophageal junction cancer and gastric corpus cancer has been increasing in Japan. The recent striking increases in those types of cancer parallel the promotion of Helicobacter pylori eradication and increase in obesity. Adenocarcinomas arose in the gastroesophageal junction were classified into Barrett's adenocarcinoma and non-Barrett's adenocarcinoma. The aim of this study to identify epigenetically regulated molecular players in adenocarcinomas of the gastroesophageal junction and gastric corpus. Among candidate genes whose expression were perturbed in those types of cancer, we found that the expression of glutathione S-transferase omega 2 (GSTO2) was suppressed by aberrant DNA methylation in Barrett's adenocarcinoma but not in non-Barrett's adenocarcinoma.

研究分野：消化器病学

キーワード：食道-胃接合部癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

- (1) 胃癌は日本人に多い癌であり、かつては部位別死因の第一位であったが、死亡者数は年々減少している。その原因としては、胃癌発症の最たる危険因子としてヘリコバクター・ピロリ感染の関与が示され、ピロリ菌感染の検査ならびに除菌が積極的に進められたことが挙げられる。ピロリ菌感染に起因する胃癌は主として前庭部に生じるが、近年では除菌に伴い前庭部での胃癌発症数は減少している。一方で、ピロリ菌感染率の低い西欧ではピロリ菌陰性の胃体部癌や、食道-胃接合部癌および食道腺癌の罹患率が高く、肥満や腹囲との正の相関が明らかにされている。従って、これらの癌はピロリ菌の除菌と、高脂肪食摂取にともなう肥満の増加に並行して我が国でも今後著しく増加する可能性が高い。噴門部や食道-胃接合部では解剖学的に逆流の因子が加わり、逆流に起因する粘膜傷害・慢性炎症により発癌に至ると考えられる。肥満による腹圧の上昇や下部食道括約筋の機能低下はこれを促進するが、発癌の詳細な分子メカニズムが解明されていない。
- (2) 逆流に伴い噴門部や食道-胃接合部に惹起される粘膜傷害・慢性炎症は DNA メチル化異常をはじめとするエピジェネティック異常を誘発・蓄積すると考えられる。慢性炎症から発癌に至る過程には、更に様々な環境因子(喫煙・多飲等)が加わっており、加齢性変化を含めたこれらの因子は遺伝子変異の誘導に加え、エピジェネティック修飾を惹起することでも遺伝子発現の変化をもたらす。

2. 研究の目的

本研究では、食道-胃接合部の背景粘膜や支持組織が発癌過程でどのようなエピジェネティック修飾を受けているか調べることで、発癌の分子メカニズムの詳細を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

- (1) 食道-胃接合部の遺伝子発現解析: 手術切除検体を対象として網羅的遺伝子発現解析を行い、接合部癌に特徴的な遺伝子発現変化を見出す。
- (2) 食道-胃接合部のエピゲノム解析: (1)と同一症例の組織を対象として、DNA メチル化解析を行い、(1)の結果と統合することで遺伝子発現に影響を及ぼすエピゲノム変化を見出す。
- (3) 食道-胃接合部癌に特徴的な遺伝子およびエピゲノム機構の解析: ヒト接合部癌細胞株を DNA メチル化阻害剤 5-aza-2'-deoxycytidine 処理し、(2)で見出した遺伝子の発現に及ぼす影響を検討する。
- (4) 食道-胃接合部癌の診断マーカーの探索: 見出した分子の発現が食道-胃接合部癌の診断・予知マーカーに成り得るかを後ろ向きに検討する。
- (5) 食道-胃接合部癌に特徴的な変化の誘因子探索: 高脂肪食摂取による肥満マウスモデル等を用いて、見出した分子の発現異常が誘導されるか評価する。

4. 研究成果

- (1) 網羅的遺伝子発現解析、エピゲノム解析 (DNA メチル化解析) 結果より、非癌部粘膜と比較して癌部で有意な発現変化が認められた分子について、リアルタイム定量 PCR 法および抗体を用いた免疫染色法により、多検体の接合部癌切除標本を対象として検証した結果、非癌部粘膜と比較して癌部で有意な発現低下が認められた分子として、デスモソーム関連分子 periplakin (PPL) および glutathione S-transferase omega 2 (GSTO2) を見出した。食道-胃接合部癌にはバレット腺癌と非バレット腺癌が含まれているので、両者を分類して検討を進めた結果、PPL および GSTO2 発現頻度はバレット腺癌と比べて非バレット接合部癌で低いことが明らかとなった。
- (2) 食道-胃接合部癌にはバレット腺癌と非バレット腺癌が含まれているので、ヒトバレット腺癌 OE33 細胞および非バレット接合部癌 OE19 細胞を DNA メチル化阻害剤 5-aza-2'-deoxycytidine 処理した結果、PPL 遺伝子発現は OE33 細胞および OE19 細胞の両者において有意な亢進を認めた。パイロシークエンサーを用いたバイサルファイトシークエンス法により、PPL 遺伝子プロモーター領域の DNA メチル化頻度は、非癌部粘膜と比較して食道-胃接合部癌部において有意に高いことが明らかとなった。以上より、食道-胃接合部癌においては、プロモーター領域の DNA メチル化亢進により PPL 遺伝子の発現が抑制されている可能性が示唆された。
- (3) 一方で GSTO2 の mRNA 発現回復は、バレット腺癌 OE33 細胞を 5-aza-2'-deoxycytidine 処理した場合のみ認められた。近年、食道-胃接合部には食道重層扁平上皮細胞の供給源となる基底細胞や、胃腺底部に存在する幹細胞とは異なる形質を有した胚性上皮細胞が存在することが示され、更にマウスモデルを用いた研究よりこの胚性上皮細胞がバレット上皮の起源となることが報告されている。抗体を用いた免疫組織染色により、ヒトおよびマウスの正常食道-胃接合部において GSTO2 は胚性上皮細胞に局限して発現することが明

らかとなった。更に 60%高脂肪食を摂餌させた肥満モデルにおいて、GSTO2 陽性細胞数が増加することを見出した。以上より、GSTO2 はバレット食道の起源である胚性上皮細胞の生理的・病理的な動態解明に有用なマーカーとなる可能性が示された。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

Shiba D, Terayama M, Yamada K, Hagiwara T, Oyama C, Tamura-Nakano M, Yokoi C, Soma D, Nohara K, Yamashita S, Dohi T, Kawamura YI. Clinicopathological significance of cystatin A expression in progression of esophageal squamous cell carcinoma. *Medicine*, 97(15): e0357, 2018, doi: 10.1097/MD.000000000010357, 査読有

Nohara K, Yamada K, Yamada L, Hagiwara T, Igari T, Yokoi C, Soma D, Yamashita S, Dohi T, Kawamura YI. Expression of kallikrein-related peptidase 13 is associated with poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*, 66(6): 351-357, 2018, doi: 10.1007/s11748-018-0910-5, 査読有

Yamada K, Hagiwara T, Inazuka F, Sezki T, Igari T, Yokoi C, Nohara K, Yamashita S, Dohi T, Kawamura YI. Expression of the desmosome-related molecule periplakin is associated with advanced stage and poor prognosis of esophageal squamous cell carcinoma. *Translational Cancer Res*, 7(1): 79-87, 2018, doi: 10.21037/tcr.2018.01.03, 査読有

Otsubo T, Yamada K, Hagiwara T, Oshima K, Iida K, Nishikata K, Toyoda T, Igari T, Nohara K, Yamashita S, Hattori M, Dohi T, Kawamura YI. DNA hypermethylation and silencing of *PITX1* correlated with advanced stage and poor postoperative prognosis of esophageal squamous cell carcinoma. *Oncotarget*, 8(48): 84434-84448, 2017, doi: 10.18632/oncotarget.21375, 査読有

Hirata Y, Sezaki T, Tamura-Nakano M, Oyama C, Hagiwara T, Ishikawa T, Fukuda S, Yamada K, Higuchi K, Dohi T, Kawamura YI. Fatty acids in a high-fat diet potentially induce gastric parietal-cell damage and metaplasia in mice. *J Gastroenterology*, 52(8): 889-903, 2017, doi: 10.1007/s00535-016-1291-0, 査読有

[学会発表] (計 1 0 件)

Kawamura YI, Impact of dietary fat on cancer-predisposing luminal environment, The 37th Sapporo International Cancer Symposium, 2018 年、招待講演

Terayama M, Yamada K, Inazuka, Hagiwara T, Dohi T, Kokudo N, Kawamura YI, Glutathione S-transferase omega 2 (GSTO2) is a novel tumor suppressor gene in human esophageal squamous cell carcinoma, Digestive Disease Week Annual Meeting, 2018 年

寺山 仁祥、山田 和彦、野原 京子、相馬 大介、安田 秀光、橋本 政典、矢野 秀朗、萩原 輝記、土肥 多恵子、河村 由紀、DNA メチル化亢進により食道扁平上皮癌特異的に発現低下を認める GSTO2～組織型特異性の検討～、第 73 回日本消化器外科学会総会、2018 年

Yamada K, Otsubo T, Hagiwara T, Oshima K, Iida K, Nishikata K, Toyoda T, Igari T, Nohara K, Soma D, Kataoka A, Yamashita S, Hattori M, Dohi T, Kawamura YI, DNA hypermethylation of *PITX1* correlated with poor prognosis of esophageal squamous cell carcinoma, The 28th Annual Meeting of the European Society for Disease of the Esophagus (ESDE), 2017 年

Yamada K, Kawamura YI, Hagiwara T, Inazuka F, Sezaki T, Dohi T, Nohara K, Soma D, Yamashita S, Edamoto Y, Yano H, Hashimoto M, Kokudo N, Expression of the desmosome-related periplakin is associated with advanced stage of esophageal squamous cell carcinoma, The 15th World Congress of the OESO, 2017 年

Terayama M, Yamada K, Soma D, Kokudo N, Kawamura YI, Cystatin A (CSTA) expression relates to clinicopathological stages in esophageal squamous cell carcinoma, The 15th World Congress of the OESO, 2017 年

山田 和彦、河村 由紀、横溝 悠里子、中野 (田村) 美和、野原 京子、相馬 大介、山下 智、横井 千寿、猪狩 亨、土肥 多恵子、肥満と胃粘膜における壁細胞変化についての検討、第 72 回日本消化器外科学会総会、2017 年

平田 有基、瀬崎 拓人、樋口 和秀、河村 由紀、土肥 多恵子、高脂肪食が引き起こすマウス上部消化管病変、第 72 回日本消化器病学会大会、2016 年

山田 和彦、河村 由紀、山田 純、野原 京子、山下 智、萩原 輝記、大坪 武史、中野 (田村) 美和、瀬崎 拓人、土肥 多恵子、枝元 良広、徳原 真、橋本 政典、矢野 秀朗、食道癌における網羅的メチル化解析より見出されたデスモソーム関連分子 periplakin と臨床病理学的検討、第 72 回日本外科学会定期学術集会、2016 年

山田 和彦、河村 由紀、萩原 輝記、土肥 多恵子、山田 純、野原 京子、山下 智、橋本 政典、矢野 秀朗、デスモソーム関連分子である periplakin の発現は予後不良因子になる-DNA メチル化と免疫染色での検討-、第 72 回日本消化器外科学会総会、2016 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：
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：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者
なし

(2) 研究協力者
なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。