

令和元年6月17日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15925

研究課題名(和文) 網羅的な遺伝子発現解析に基づく十二指腸上皮性腫瘍の発症機構の解明

研究課題名(英文) Identification of marker genes and pathways specific to precancerous duodenal adenomas and early stage adenocarcinomas.

研究代表者

坂口 賀基 (Sakaguchi, Yoshiki)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20791445

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：十二指腸上皮性腫瘍の網羅的遺伝子発現プロファイルに対するバイオインフォマティクス解析を施行した。主な実績として、Gene set enrichment analysisを通して十二指腸上皮性腫瘍における発現遺伝子が大腸腺腫と極めて類似している(p値<10⁻⁵)ことを初めて示した。またWnt/ catenin pathwayが十二指腸上皮性腫瘍の形成に強く関与していることも初めて示した。さらに免疫組織学的手法により、十二指腸腫瘍において cateninの過剰発現も確認し、本研究結果の結果を他手法においても確認し、十二指腸上皮性腫瘍の発生に関与する因子を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は十二指腸上皮性腫瘍の網羅的遺伝子発現解析、バイオインフォマティクス解析を通して、世界で初めて十二指腸上皮性腫瘍と大腸腺腫の類似性を示した。現在は十二指腸上皮性腫瘍に対する臨床上的治療ガイドラインも定まっておらず、今後十二指腸上皮性腫瘍に対する治療方針に寄与する結果であり、臨床的な意義が高い。また、Wnt/ catenin pathwayが十二指腸上皮性腫瘍の形成に強く関与していることも初めて示した。最後に、十二指腸癌の発現プロファイルを明らかにすることにより、今後drug repositioningによる化学療法レジメンの予測モデル樹立に向けて基盤を形成することに成功し、意義が高い。

研究成果の概要(英文)：Gene expression profiling was performed in 4 pairs of duodenal adenoma/adenocarcinomas and corresponding matched normal tissue. 626 probes consistently demonstrated over a 2-fold expression difference between tumor-normal pairs. GSEA demonstrated a strong association between duodenal adenoma/adenocarcinomas with colorectal adenomas (p<10⁻⁵) and gene expression patterns seen after APC gene knockout (p<10⁻⁵), suggesting that the Wnt/ -catenin pathway plays a crucial role in the carcinogenesis of these neoplasms. Immunohistochemical staining of an independent group of duodenal adenomas confirmed over-accumulation of -catenin. In conclusion, precancerous duodenal adenomas and early-stage adenocarcinomas demonstrate gene expression characteristics with a strong resemblance to colorectal adenomas. The results of this study strongly suggest that up-regulation of the Wnt/ -catenin pathway is the major factor involved in the initial stages of the carcinogenesis of duodenal adenocarcinomas.

研究分野：消化器内科

キーワード：十二指腸上皮性腫瘍 GSEA 網羅的遺伝子発現解析 Wnt/ catenin pathway

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

十二指腸腫瘍（癌、腺腫）は稀な疾患であり、自然経過及び発癌メカニズムについて未だ明らかになっていないところが多い。また十二指腸腫瘍（癌、腺腫）は、病理学的診断基準や治療指針が未だに確立されておらず、臨床上の大きな課題となっている。

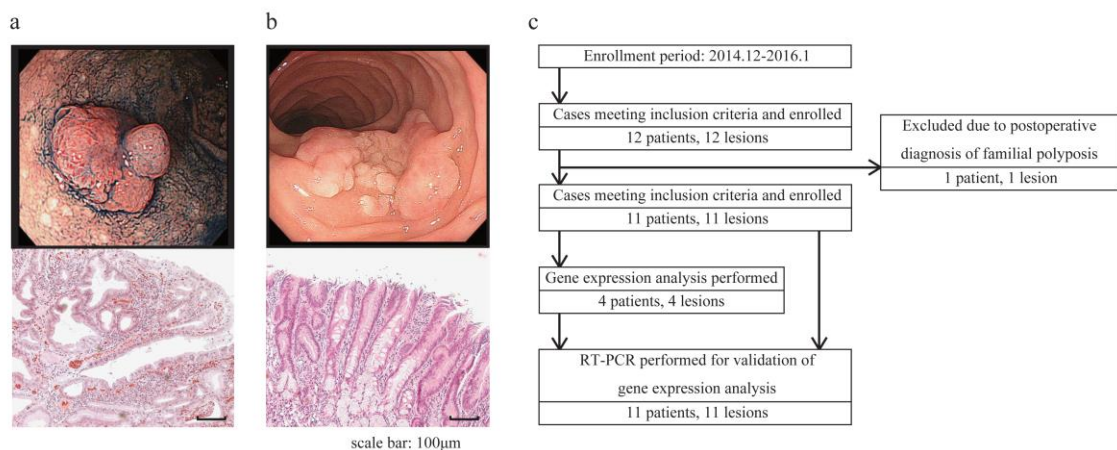
2. 研究の目的

(1) 今回の研究の第一の目的は、ハイボリューム施設として豊富な臨床検体が得られる利点を生かし、多数の十二指腸腫瘍に対する網羅的遺伝子発現（コード遺伝子、miRNAを含む非コード遺伝子）を行い、世界に先駆けて十二指腸上皮性腫瘍の性状を明らかにすることである。

(2) さらに第二の目的は、他臓器癌の遺伝子発現データと比較することによって、十二指腸腫瘍の発生機序の解明である。

3. 研究の方法

(1) 当院倫理委員会の承認を得て、臨床試験登録後（UMIN000015798）、十二指腸腺腫または早期十二指腸癌と内視鏡的・病理学的に診断された症例を前向きに登録した。この症例を対象に、内視鏡切除当日に腫瘍・周辺部から生検鉗子で組織を採取し、採取組織の全RNAを抽出し、mRNAマイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現解析（約30,000のコード遺伝子）を行った。十二指腸腫瘍において特異的な発現パターンを呈する遺伝子を特定した。さらに、mRNAマイクロアレイ群と独立した十二指腸腫瘍症例の全RNAを用い、上記遺伝子発現パターンの再現性を検証した。

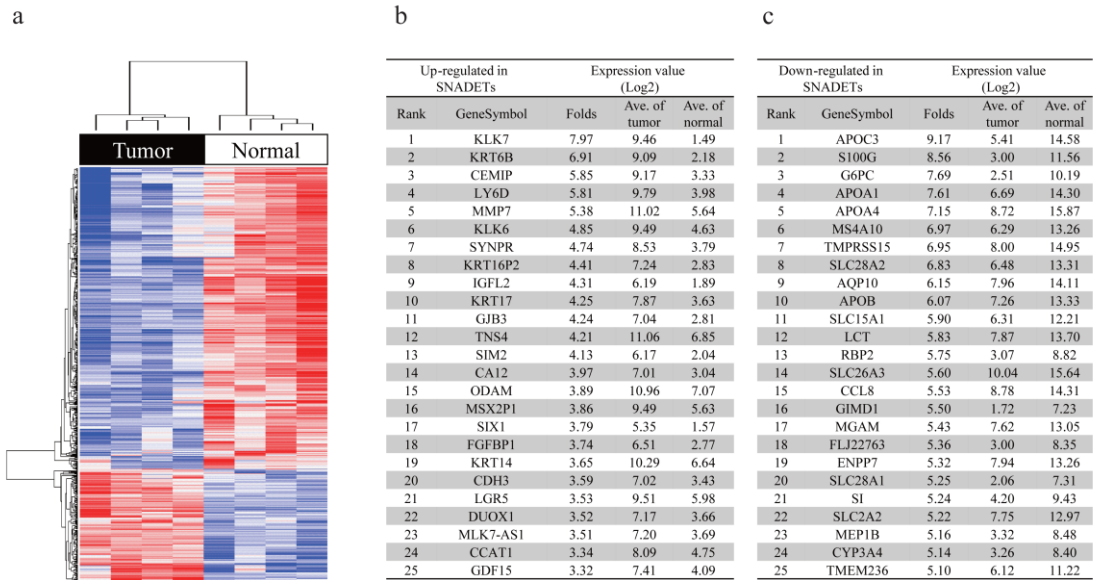


(2) 得られた遺伝子発現解析結果を元に、Gene Set Enrichment Analysisによるゲノムインフォマティクス解析を施行し、十二指腸上皮性腫瘍において発現上昇・発現低下している遺伝子を、既に解明している他腫瘍の遺伝子発現セットと比較した。

(3) 当院で内視鏡的切除を施行された十二指腸腫瘍症例に対する免疫組織学的評価を行い、上記で得られた解析結果を検証した。

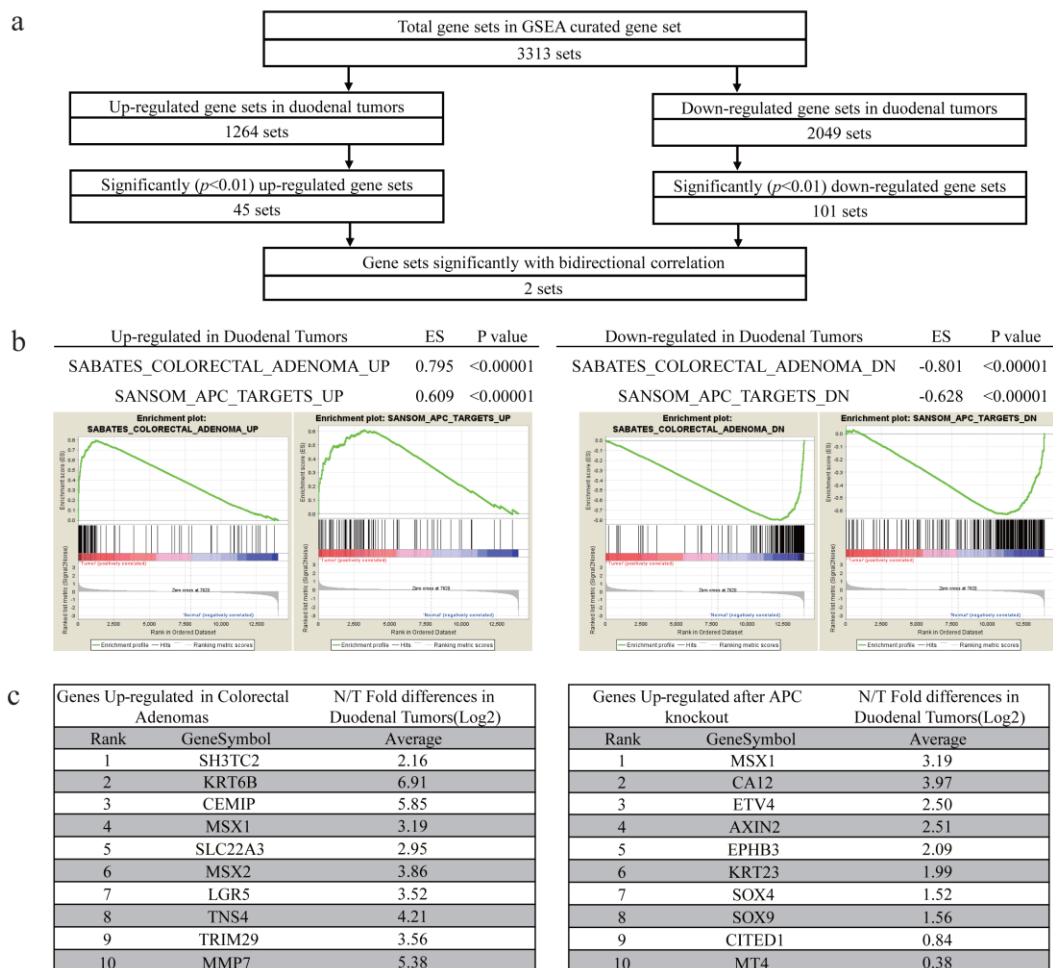
4. 研究成果

(1) 全ての十二指腸腫瘍において、腫瘍組織で正常組織と比較して常に2倍以上の発現差を呈する626プローブを特定した（うち発現上昇168プローブ、発現低下458プローブ）。著明な発現差を呈する遺伝子群として、Wnt/ β catenin pathwayと関連する遺伝子が特に目立つことを世界で初めて示した。またこれらWnt/ β catenin pathwayと関連する遺伝子の発現値を、独立した十二指腸腫瘍のRNAを用いたRT-PCRにより検証し、同様の発現パターンが再現されることを示した。

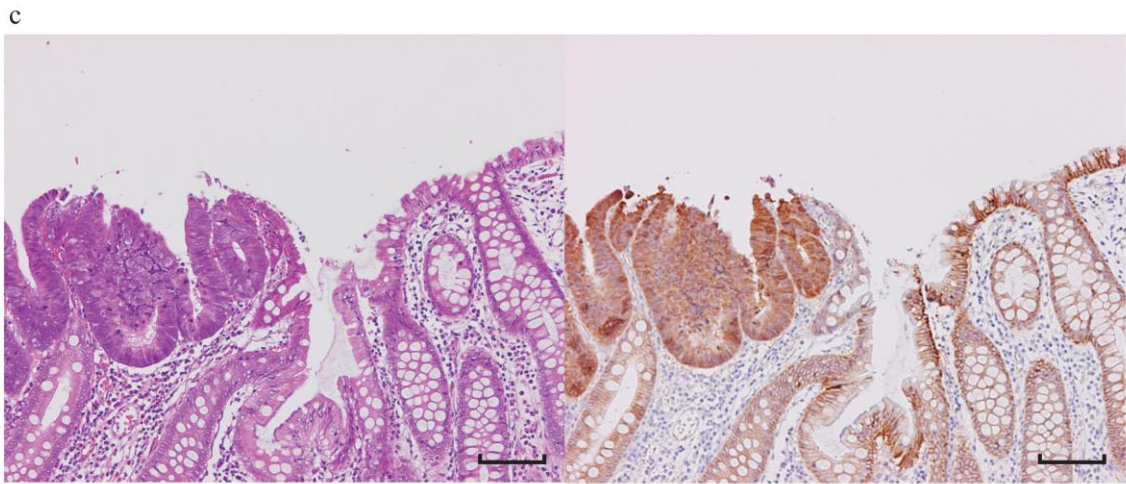
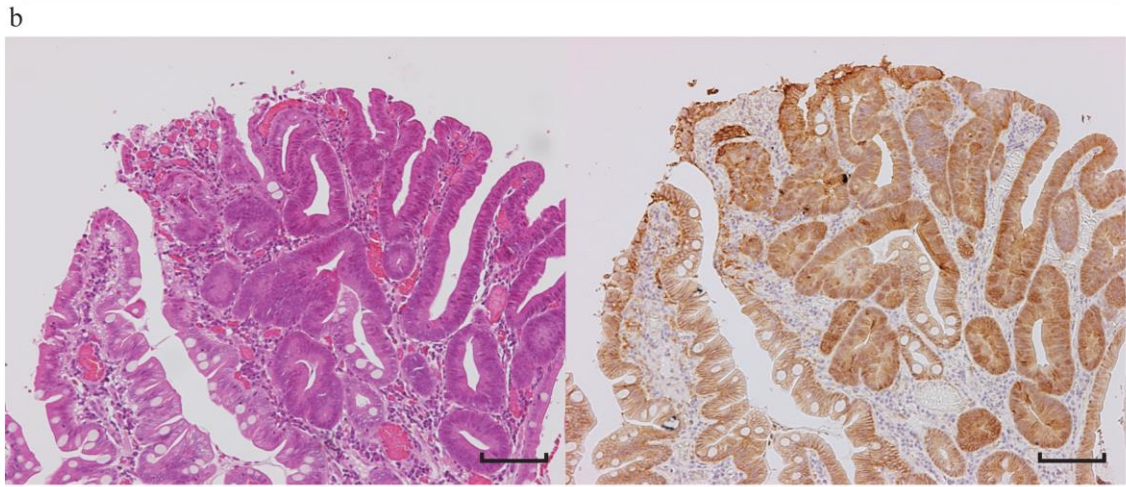
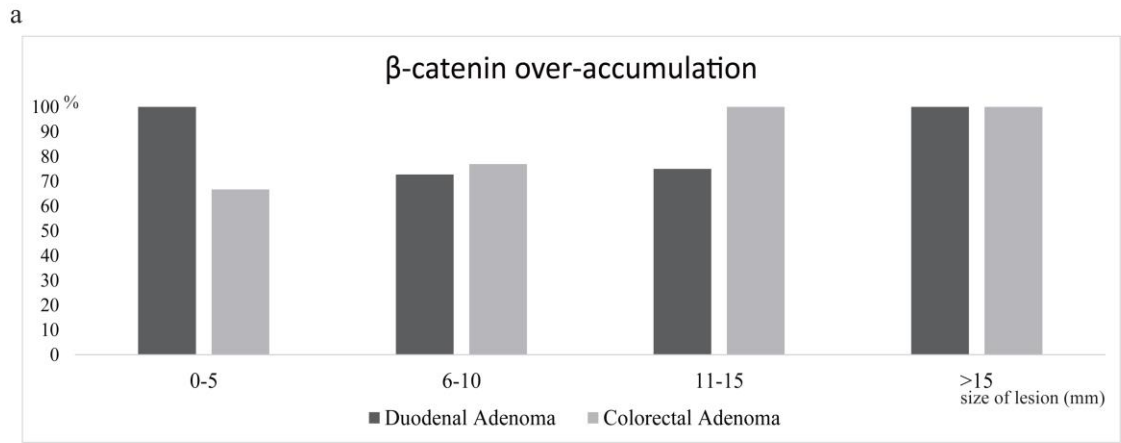


(2) Gene Set Enrichment Analysis によるゲノムインフォマティクス解析を施行し、約 3000 パターンの遺伝子発現セットと比較した。十二指腸上皮性腫瘍において

- 発現上昇遺伝子 (Enrichment score 0.795, p 値 $<10^{-5}$)、発現低下遺伝子 (Enrichment score 0.801, p 値 $<10^{-5}$) とともに大腸腺腫と極めて類似
- 発現上昇遺伝子 (Enrichment score 0.609, p 値 $<10^{-5}$)、発現低下遺伝子 (Enrichment score 0.628, p 値 $<10^{-5}$) とともに Wnt/ β catenin pathway の促進により誘発される遺伝子発現パターンと極めて類似していることをゲノムインフォマティクス解析という手法で初めて示した。



(3) 大腸腺腫と十二指腸腺腫に対する β catenin 免疫組織学評価により、同様の発現パターンを呈することを確認し、上記解析結果を別手法によっても確認することに成功した。



scale bar: 100 μ m

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 1 件）

Sakaguchi Y, et al. Identification of marker genes and pathways specific to precancerous duodenal adenomas and early stage adenocarcinomas, J Gastroenterol. 2019; 54(2). 131-140, DOI: 10.1007/s00535-018-1489-4

〔学会発表〕（計 1 件）

坂口賀基, 網羅的遺伝子発現解析による十二指腸上皮性腫瘍における腫瘍化メカニズムの解明, 第 104 回日本消化器病学会総会, 2018 年

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.todai-shoukakan.com/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8 桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：山道 信毅

ローマ字氏名：Nobutake Yamamichi

研究協力者氏名：富田 秀太

ローマ字氏名：Shuta Tomida

※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。