

平成21年 5月21日現在

研究種目：若手研究 (B)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19790261  
 研究課題名 (和文) SAGEデータを基盤にした胃型腸型形質を有する胃癌に関連する遺伝子の網羅的解析  
 研究課題名 (英文) Gene expression profile of gastric cancer with gastric and intestinal phenotype  
 研究代表者  
 大上 直秀 (OUE NAOHIDE)  
 広島大学・大学院医歯薬総合研究科・講師  
 研究者番号：60346484

研究成果の概要：本研究では、胃型・腸型形質を有する胃癌に関連している遺伝子を同定することを目的とした。腸型形質の胃癌で発現している遺伝子として、HOXA10とGJP6を同定した。免疫染色を行った結果、HOXA10は52%、GJP6は22%の胃癌で発現しており、腸型形質の胃癌で染色された。特にGJP6は、ギャップ結合を構成する膜貫通蛋白質であるコネクシン30をコードする遺伝子であり、治療標的として有用である。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,000,000	0	2,000,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	390,000	3,690,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：腫瘍、胃癌、形質発現、HOXA10、GJP6

## 1. 研究開始当初の背景

申請者らは、SAGE法を用いた胃癌の網羅的遺伝子発現解析から、胃癌では癌遺伝子・癌抑制遺伝子ではなく、胃や腸の分化に関連している遺伝子に発現の異常がおきていることを明らかにした。胃癌はその粘液形質から、胃型・腸型に分類され、臨床動態が異なることが知られている。しかしながら、胃型・腸型胃癌に関連している遺伝子を体系的、網羅的に解析した報告は国内、国外を通じ、全く認められない。胃型・腸型胃癌に関連している遺伝子を同定すれば、胃型・腸型胃癌の生物学的特徴を分子レベルで理解でき、胃癌に

おいてどのような分化の異常がおきているのかを明確にすることができる。さらに胃型・腸型形質を有する胃癌は通常のHE染色においてもある程度推定できるため、日常の病理診断業務において、胃型胃癌・腸型胃癌に分類することの重要性、臨床病理学的意義を明らかにすることが可能となる。

## 2. 研究の目的

胃癌において、胃型・腸型形質に関連している遺伝子を体系的・網羅的に同定することを目的とした。

### 3. 研究の方法

胃型形質を有する胃癌 2 例と腸型形質を有する胃癌 2 例を材料にアフィメトリス社の GeneChip を用いて網羅的遺伝子発現解析を行い、胃型・腸型形質に関連している遺伝子の抽出を行った。抽出された遺伝子について、利用可能な抗体を購入し、外科的に切除された胃癌組織を材料に免疫染色を行った。胃型・腸型の判定は、胃型のマーカーとして MUC5AC、MUC6、腸型のマーカーとして MUC2、CD10 の免疫染色を行った。腸の転写因子 CDX2 導入細胞を用いて、発現が誘導されるか否かについても検討した。

### 4. 研究成果

胃型形質を有する胃癌 2 例と腸型形質を有する胃癌 2 例を材料にアフィメトリス社の GeneChip を用いて網羅的遺伝子発現解析を行い、胃型・腸型形質に関連している遺伝子の抽出を行った。その結果、腸型形質の胃癌において、HOXA10、GJP6 が高発現していた。免疫染色を行ったところ、胃癌においては癌細胞の核に HOXA10 の染色が認められ、60 例 (52%) の症例が HOXA10 陽性であった。腸型のマーカーである MUC2 の免疫染色も合わせて行ったところ、MUC2 は 48 例 (41%) で陽性であった。MUC2 陽性胃癌 48 例のうち、HOXA10 陽性例は 32 例 (67%) であったのに対し、MUC2 陰性胃癌 68 例では、HOXA10 陽性例は 28 例 (41%) であり、統計学的に有意に高頻度に MUC2 陽性例で HOXA10 も陽性であった ( $P=0.0084$ )。胃癌細胞株 HSC-39、HSC-57 を材料に HOXA10 をノックダウンし、MUC2、CD10 の発現を検討したが、大きな変化はなかった。HOXA10 は腸の転写因子 CDX2 の標的遺伝子であること報告されており、大腸癌細胞株 HT29 を材料に CDX2 の発現ベクターを導入し、HOXA10 の発現を Western blot で検討したが、HOXA10 の発現は誘導されなかった。胃癌 157 例を材料に、GJP6 遺伝子がコードするコネキシン 30 の免疫染色を施行した結果、34 例 (22%) に染色された。コネキシン 30 陽性例では腸型形質を有する胃癌は 71% に検出されたのに対し、コネキシン 30 陰性例では 32% のみに腸型形質を有する胃癌が認められ、コネキシン 30 陽性例は有意に高頻度に腸型形質を有していた ( $P=0.0003$ )。CDX2 を導入した HT29 を材料にコネキシン 30 の発現を Western blot で検討したが、発現は誘導されなかった。HOXA10 はホメオボックス遺伝子であることから、何らかの腸型形質を誘導する転写因子である可能性があり、標的遺伝子の同定を進めれば、腸型形質の胃癌の病態解明につながることを期待される。GJP6 がコードするコネキシン 30 は、ギャップ結合を構成する蛋白質の一つであり、腸型形質を有する胃癌では、細胞間情報伝達が異なっている可

能性がある。さらにコネキシン 30 は細胞表面蛋白質であり、治療標的としても理想的である。今後は、HOXA10 の標的遺伝子の同定、コネキシン 30 の機能解析が重要である。

### 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 24 件)

すべて査読有

1. Que N, Sentani K, Noguchi T, Ohara S, Sakamoto N, Hayashi T, Anami K, Motoshita J, Ito M, Tanaka S, Yoshida K, Yasui W. Serum olfactomedin 4 (GW112, hGC-1) in combination with Reg IV is a highly sensitive biomarker for gastric cancer. **Int J Cancer**, in press.
2. Yamamoto H, Kitadai Y, Yamamoto H, Que N, Ohdan H, Yasui W, Kikuchi A. Laminin g2 mediates Wnt5a-induced invasion of gastric cancer cells. **Gastroenterology**, in press.
3. Yasui W, Que N, Sentani K, Sakamoto N, Motoshita J. Transcriptome dissection of gastric cancer: identification of novel diagnostic and therapeutic targets from pathology specimens. **Pathol Int**, 59:121-136, 2009.
4. Kuniyasu H, Que N, Sasahira T, Yi L, Moriwaka Y, Shimomoto T, Fujii K, Ohmori H, Yasui W. Reg IV enhances peritoneal metastasis in gastric carcinomas. **Cell Prolif**, 42:110-121, 2009.
5. Hayashi T, Matsubara A, Ohara S, Mita K, Hasegawa Y, Usui T, Arihiro K, Norimura S, Sentani K, Que N, Yasui W. Immunohistochemical analysis of Reg IV in urogenital organs: Frequent expression of Reg IV in prostate cancer and potential utility as serum tumor marker. **Oncol Rep**, 21:95-100, 2009.
6. Que N, Sentani K, Sakamoto N, Motoshita J, Nishisaka T, Fukuhara T, Matsuura H, Sasaki H, Nakachi K, Yasui W. Characteristic gene expression in stromal cells of gastric cancers among atomic-bomb survivors. **Int J Cancer**, 124:1112-1121, 2009.
7. Noguchi T, Que N, Wada S, Sentani K, Sakamoto N, Kikuchi A, Yasui W. h-prune Is an Independent Prognostic Marker for Survival in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. **Ann Surg Oncol**, 16:1390-1396, 2009.
8. Sasahira T, Que N, Kirita T, Luo Y, Bhawal UK, Fujii K, Yasui W, Kuniyasu H.

Reg IV expression is associated with cell growth and prognosis of adenoid cystic carcinoma in the salivary gland. **Histopathology**, 53:667-675, 2008.

9. Kodama M, Kitadai Y, Tanaka M, Kuwai T, Tanaka S, Que N, Yasui W, Chayama K. Vascular endothelial growth factor C stimulates progression of human gastric cancer via both autocrine and paracrine mechanisms. **Clin Cancer Res**, 14:7205-7214, 2008.

10. Sentani K, Que N, Sakamoto N, Nishisaka T, Fukuhara T, Matsuura H, Yasui W. Positive immunohistochemical staining of gammaH2AX is associated with tumor progression in gastric cancers from radiation-exposed patients. **Oncol Rep**, 20:1131-1136, 2008.

11. Ohara S, Que N, Matsubara A, Mita K, Hasegawa Y, Hayashi T, Usui T, Amatya VJ, Takeshima Y, Kuniyasu H, Yasui W. Reg IV is an independent prognostic factor for relapse in patients with clinically localized prostate cancer. **Cancer Sci**, 99:1570-1577, 2008.

12. Sasahira T, Kirita T, Que N, Bhawal UK, Yamamoto K, Fujii K, Ohmori H, Luo Y, Yasui W, Bosserhoff AK, Kuniyasu H. High mobility group box-1-inducible melanoma inhibitory activity is associated with nodal metastasis and lymphangiogenesis in oral squamous cell carcinoma. **Cancer Sci**, 99:1806-1812, 2008.

13. Sentani K, Que N, Tashiro T, Sakamoto N, Nishisaka T, Fukuhara T, Taniyama K, Matsuura H, Arihiro K, Ochiai A, Yasui W. Immunohistochemical staining of Reg IV and claudin-18 is useful in the diagnosis of gastrointestinal signet ring cell carcinoma. **Am J Surg Pathol**, 32:1182-1189, 2008.

14. Miyagawa K, Sakakura C, Nakashima S, Yoshikawa T, Fukuda K, Kin S, Nakase Y, Shimomura K, Que N, Yasui W, Hayasizaki H, Okazaki Y, Yamagishi H, Hagiwara A, Otsuji E. Overexpression of RegIV in peritoneal dissemination of gastric cancer and its potential as a novel marker for the detection of peritoneal micrometastasis. **Anticancer Res**, 28:1169-1179, 2008.

15. Fujii K, Sasahira T, Moriwaka Y, Que N, Yasui W, Kuniyasu H. Protection of telomeres 1 protein levels are associated with telomere length in gastric cancer. **Int J Mol Med**, 21:599-604, 2008.

16. Ossandon FJ, Villarroel C, Aguayo F, Santibanez E, Que N, Yasui W, Corvalan AH.

In silico analysis of gastric carcinoma Serial Analysis of Gene Expression libraries reveals different profiles associated with ethnicity. **Mol Cancer**, 27:7-22, 2008.

17. Sentani K, Que N, Sakamoto N, Arihiro K, Aoyagi K, Sasaki H, Yasui W. Gene expression profiling with microarray and SAGE identifies PLUNC as a marker for hepatoid adenocarcinoma of the stomach. **Mod Pathol**, 21:464-475, 2008.

18. Que N, Kuniyasu H, Noguchi T, Sentani K, Ito M, Tanaka S, Setoyama T, Sakakura C, Natsugoe S, Yasui W. Serum concentration of Reg IV in patients with colorectal cancer: overexpression and high serum levels of Reg IV are associated with liver metastasis. **Oncology**, 72:371-380, 2007.

19. Sentani K, Tashiro T, Que N, Yasui W. Synchronous squamous cell carcinoma of the breast and invasive lobular carcinoma. **APMIS**, 115:1422-1425, 2007.

20. Suzuki T, Yoshida K, Wada Y, Hamai Y, Sentani K, Que N, Yasui W. Melanoma-associated antigen-A1 expression predicts resistance to docetaxel and paclitaxel in advanced and recurrent gastric cancer. **Oncol Rep**, 18:329-336, 2007.

21. Que N, Yoshida K, Noguchi T, Sentani K, Kikuchi A, Yasui W. Increased expression of h-prune is associated with tumor progression and poor survival in gastric cancer. **Cancer Sci**, 98:1198-1205, 2007.

22. Mitani Y, Que N, Matsumura S, Yoshida K, Noguchi T, Ito M, Tanaka S, Kuniyasu H, Kamata N, Yasui W. Reg IV is a serum biomarker for gastric cancer patients and predicts response to 5-fluorouracil-based chemotherapy. **Oncogene**, 26:4383-4393, 2007.

23. Matsumura S, Que N, Mitani Y, Kitadai Y, Yasui W. DNA demethylation of vascular endothelial growth factor-C is associated with gene expression and its possible involvement of lymphangiogenesis in gastric cancer. **Int J Cancer**, 120:1689-1695, 2007.

24. Hasegawa Y, Matsubara A, Teishima J, Seki M, Mita K, Usui T, Que N, Yasui W. DNA methylation of the RIZ1 gene is associated with nuclear accumulation of p53 in prostate cancer. **Cancer Sci**, 98:32-36, 2007.

〔学会発表〕(計 16 件)

1. 大上直秀、柳原五吉、仙谷和弘、坂本直也、安井 弥：SAGE-based array を用いた胃癌関連遺伝子の探索：SEC11A は胃癌の進行に関与している。第 67 回 日本癌学会学術総会、ワークショップ、10 月 28-30 日、名古屋、2008
2. 大上直秀、野口 剛、仙谷和弘、坂本直也、伊藤公訓、田中信治、安井 弥：Olfactomedin 4 は胃癌の新規血清腫瘍マーカーであり、血清 Olfactomedin 4 と Reg IV の組み合わせは感度の高い胃癌検出法である。第 28 回日本分子腫瘍マーカー研究会、10 月 27 日、名古屋、2008
3. Que N, Sentani K, Sakamoto N, Noguchi T and Yasui W：Olfactomedin 4 and Reg IV：Novel serum biomarkers for gastric cancer patients、36<sup>th</sup> Congress of the International Society of Oncology and Biomarkers, Tokyo (Japan), October 5-9, 2008
4. 大上直秀、仙谷和弘、柳原五吉、坂本直也、安井 弥：遺伝子発現の意義：SEC11A(SPC18)の胃癌における発現の意義と EGF/TGF $\alpha$  の分泌促進。第 19 回日本消化器癌発生学会、ミニシンポジウム 3、8 月 28-29 日、別府、2008
5. 大上直秀、仙谷和弘、坂本直也、柳原五吉、安井 弥：SAGE-based microarray で同定した SEC11A (SPC18)による EGF、TGF- $\alpha$  の分泌促進と胃癌進行との相関。第 17 回日本がん転移学会、7 月 24 日-25 日、鹿児島、2008
6. 大上直秀、仙谷和弘、柳原五吉、坂本直也、安井 弥：SAGE-based microarray により同定した SEC11A (SPC18)は胃癌の進行と関連している。第 97 回日本病理学会総会、5 月 15 日-17 日、金沢、2008
7. 大上直秀、仙谷和弘、阿南勝宏、安井 弥：遺伝子発現プロファイルで同定された connexin30 は腸型形質を有する胃癌のマーカーである。第 97 回日本病理学会総会、5 月 15 日-17 日、金沢、2008
8. 大上直秀、國安弘基、仙谷和弘、坂本直也、安井 弥：Reg IV は大腸癌の血清腫瘍マーカーであり予後予測に有用である。第 97 回日本病理学会総会、5 月 15 日-17 日、金沢、2008
9. 大上直秀、安井 弥：胃がんの新規血清診断マーカー-Reg IV。第 80 回日本胃癌学会総会、シンポジウム「個別化医療に向けた胃がん診断の最前線」、2 月 27-29 日、横浜、2008
10. 大上直秀、仙谷和弘、坂本直也、檜井孝夫、安井 弥：消化器癌発生の基礎と臨床：SAGE 法で同定した Reg IV 遺伝子の上流/下流の解析と診断への応用。第 18 回日本消化器癌発生学会、シンポジウム 1、11 月 8 日-9 日、札幌、2007

11. 大上直秀、仙谷和弘、坂本直也、吉田和弘、安井 弥：SAGE-based microarray for gastric cancer identifies SEC11A as a marker for tumor progression。ワークショップ 14「Human cancer Research: Gastric cancer」、第 66 回日本癌学会総会、10 月 3 日-5 日、横浜、2007
12. 大上直秀、國安弘基、野口 剛、仙谷和弘、伊藤公訓、田中信治、瀬戸山徹郎、阪倉長平、夏越祥次、安井 弥：血清腫瘍マーカーとしての Reg IV の有用性：大腸癌において Reg IV 高値は肝転移と関連している。第 27 回日本分子腫瘍マーカー研究会、ワークショップ 1「分子腫瘍マーカー認識抗体の作成と応用」、10 月 2 日、東京、2007
13. 大上直秀、菊池 章、安井 弥：転移遺伝子：胃癌において Wnt-5a は b-catenin 異常蓄積のない症例で高発現しており予後不良と相関している。第 16 回日本がん転移学会総会、ワークショップ 1、7 月 9 日-10 日、富山、2007
14. Que N, Sentani K, Sakamoto N and Yasui W：Serum Concentration of Reg IV in patients with colorectal cancers. The 98th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, Los Angeles, California (USA), April 14-18, 2007
15. 大上直秀、國安弘基、安井 弥：SAGE 法により同定した Reg IV は EGFR をリン酸化し 5-FU 誘導性のアポトーシスを制御する。第 96 回日本病理学会総会、3 月 13 日-15 日、大阪、2007
16. 大上直秀、安井 弥：胃癌における h-prune、nm23-H1 の発現と臨床病理学的因子との関連。第 96 回日本病理学会総会、3 月 13 日-15 日、大阪、2007

〔図書〕(計 1 件)

1. 大上直秀、安井 弥：胃癌に関連する遺伝子。幕内雅敏、荒井邦佳・編、Knack & Pitfalls「胃外科の要点と盲点」第 2 版、文光堂、東京、2008 (印刷中)

〔その他〕

<http://home.hiroshima-u.ac.jp/byoril/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大上 直秀 (OUE NAOHIDE)

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・講師  
研究者番号：6 0 3 4 6 4 8 4

### (2) 研究分担者

### (3) 連携研究者