

平成 21 年 4 月 30 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19790490
 研究課題名 (和文) 大腸および小腸を規定する転写因子群の同定と消化器癌での発現解析
 研究課題名 (英文) The analyses of colon and small intestine specific transcription factors, and their expression in the cancers of the digestive tract.
 研究代表者
 溝下 勤 (MIZOSHITA TSUTOMU)
 名古屋市立大学・大学院医学研究科・臨床研究医
 研究者番号：40347414

研究成果の概要：Bone morphogenetic protein (BMP) -2 と BMP-4 は、管腔形成を伴わない未分化型胃癌症例の大部分 (90%) で発現しており、未分化型胃癌の進展・浸潤に重要であると考えられた。また、BMP-2 と BMP-4 は胃型形質を有する分化型胃癌で高発現しており、胃型形質発現との関連性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,600,000	0	1,600,000
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	450,000	3,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：消化器学 (食道, 胃, 小腸, 大腸)

1. 研究開始当初の背景

Helicobacter pylori (以下Hp) 持続感染が慢性萎縮性胃炎、胃癌、腸上皮化生 (以下IM) の誘因となることは周知の事実である。しかし、萎縮性胃炎から胃癌に至るメカニズムに関してはまだまだ不明な点が多い。また、IMは胃癌の前癌病変として種々の検索がなされているが直接の因果関係は証明されていない。一方、胃癌は従来、その組織構築から管腔形成を伴う分化型癌、管腔形成を伴わない未分化型癌 (印環細胞癌を含む) に分類され

てきたが、形質発現の観点から胃型 (MUC5AC、MUC6など) あるいは腸型 (MUC2、villinなど) マーカーを用いて、病理組織型とは独立して胃型、胃腸混合型、腸型に分類可能である (Tatematsu, M., Mizoshita, T., et al. *Helicobacter*, 10, 97-106, 2005.)。つまり、分化型胃癌あるいは未分化型胃癌それぞれに胃型、胃腸混合型、腸型が存在することが確認される。仮に、IMから分化型胃癌が発生するのであれば、早期分化型胃癌は腸型がほとんどを占めるはずであるが、事実は

逆で、研究代表者らは胃型の形質を有する癌がほとんどであることを報告した (Mizoshita, T., et al. *Pathol. Int.*, 54, 392-400, 2004.)。また、研究代表者らはスナネズミモデルを用いてHp感染が癌部・非癌部の腸型化を引き起こすことも報告した (Mizoshita, T., et al. *Cancer Sci.*, 97, 38-44, 2006.)。以上の結果より、慢性萎縮性胃炎から胃癌とIMはそれぞれ独立して発生し、おのおの腸型化することが示唆されるが、胃癌の組織発生を形質発現の観点から検索することは大変重要であると考えられる。

研究代表者らは、特に腸型形質発現について、ホメオボックス遺伝子 *Caudal*-related homeobox gene (Cdx) 1とCdx2の発現の重要性を報告した。Cdx1とCdx2は、正常消化管上皮では十二指腸から肛門側の腸管上皮で発現が認められるが、Hp陰性の正常胃粘膜上皮では発現していない。ところが、Cdx1とCdx2は、IMを伴うHp感染胃炎粘膜で発現が認められ、IM腺管では粘膜上皮細胞の核にCdx2の発現が確認される (Mizoshita, T., et al. *Gastric Cancer*, 4, 185-91, 2001.)。一方、ヒト胃癌組織では、病理組織型に関係なく腸型形質発現を有する胃癌組織でCdx1・Cdx2の発現が認められた (Mizoshita, T., et al. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 130, 29-36, 2004.)。また、形質発現の臨床病理学的な解析も行い、腸型形質を有するCdx2陽性進行胃癌の方がCdx2陰性進行胃癌より予後が良好であることも報告した (Mizoshita, T., et al. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 129, 727-734, 2003.)。以上より、胃癌部・非癌部での腸特異的遺伝子Cdx1・Cdx2の発現が腸型形質発現に重要であり、加えて

このCdx2を含めた腸型形質発現が胃癌の予後因子としても重要であることが示された。

ヒト胃癌以外の消化器癌の研究では、研究代表者らは浸潤性膵管癌でも胃癌と同様に、Cdx2陽性例がCdx2陰性例に比較して予後が良好であることを報告した (Matsumoto, K. *, Mizoshita, T. *, et al. *Oncol. Rep.*, 12, 1239-1243, 2004.

* These two authors contributed equally.)。加えて、大腸癌のadenoma carcinoma sequenceに関連して、腺腫→早期癌にかけてのCdx2を含めた形質発現の解析も行った (Mizoshita, T., et al. *Histol. Histopathol.*, 22, 251-260, 2007.)。これらの結果より、胃癌だけでなく他の消化器癌（大腸癌、膵癌）でのCdx2を含めた腸型形質発現の重要性が明らかにされた。

しかし、腸型形質を考える上で大腸型・小腸型の違いに関しては、これまでのところあまり検索がなされていない。臨床的にヒトでは大腸の方が小腸より癌の発生頻度が多いことを考慮に入れても、大腸型と小腸型を区別して考える事は重要である。加えて、大腸型のIM腺管の胃癌の前癌病変としての可能性も示唆されている (Pagnini, CA., et al. *Tumori*, 52: 113-116, 1981.)。また、形質発現を考える上で上皮・間葉相互作用の検索も重要である (Narita, T., et al. *Development*, 127, 981-8, 2000.; Sakamoto, N., et al. *Dev. Biol.*, 223, 103-13, 2000.)。つまり、大腸と小腸の形質発現を規定する因子を上皮・間葉相互作用を含めて検索することは、消化器癌の発生・進展を解明する上で大変意義深いと考えられる。

2. 研究の目的

近年、粘膜上皮の分化あるいは癌の発生・進展における上皮・間葉相互作用の重要性が指摘されている。我々は、消化器癌（胃癌・大腸癌・膵癌など）を主に胃型・腸型形質発現の観点から検索してきた (Mizoshita, T., et al. Histol Histopathol., 22, 251-60, 2007.)。しかし、腸型形質発現に関して大腸型・小腸型の違いあるいは上皮・間葉相互作用の役割についてはまだまだ不明な点が多い。このため、消化器癌の発生・進展における大腸型・小腸型形質発現を規定する因子を上皮・間葉相互作用を含めて明らかにすることは大変意義深いと考えられる。本研究では、消化器の器官形成に多彩な役割を果している bone morphogenetic protein (BMP) -2 と BMP-4 に注目し主に胃癌組織での解析を行った。

3. 研究の方法

正常消化管（胃、小腸、大腸）および胃癌 37 例（分化型 27 例、未分化型 10 例）にて BMP-2 と BMP-4 の発現を免疫組織化学的に検討した。胃癌については、胃型（MUC5AC、MUC6）および腸型（MUC2、villin）マーカー、腸特異的ホメオボックス遺伝子 Cdx2 の発現も免疫組織化学的に検討した。胃型・腸型マーカーの発現により、胃癌症例を胃型（G type）、胃腸混合型（GI type）、腸型（I type）、ヌル型（N type）に分類した。

4. 研究成果

(1) 胃癌 37 例（分化型 27 例、未分化型 10 例）は、G type が 10 例、GI type が 14 例、I type が 10 例、N type が 3 例に分類された（下記の表を参照）。

(2) 正常消化管（胃、小腸、大腸）では、BMP-2 と BMP-4 発現は myofibroblast などの間葉系細胞で確認された。また、BMP-2 と

BMP-4 は腫瘍組織（胃癌など）の間葉系細胞でも発現が確認された。

(3) 胃癌 37 例（分化型 27 例、未分化型 10 例）の検討では、BMP-2 の癌細胞での発現が分化型 10 例（37.0%）、未分化型 9 例（90%）で確認された（ $P < 0.01$ ）。BMP-4 の癌細胞での発現は分化型 5 例（18.5%）、未分化型 9 例（90%）で確認された（ $P < 0.001$ ）（下記の表を参照）。

(4) BMP-2 発現陽性の分化型胃癌 10 例中、9 例（90%）が胃型形質発現（G type または GI type）を有していた。BMP-4 発現陽性の分化型胃癌 5 例は、すべて胃型形質発現（G type または GI type）を有していた（下記の表を参照）。

(5) 粘膜内癌では、BMP-2 と BMP-4 発現が確認されなかった。

(6) Cdx2 発現と BMP-2 および BMP-4 発現との間には、明らかな相関関係が認められなかった。

胃癌 37 例での BMP-2 の発現

	G type	GI type	I type	N type	計
分化型	9 (6)	9 (3)	6 (1)	3 (0)	27 (10)
未分化型	1 (1)	5 (4)	4 (4)	0 (0)	10 (9)
計	10 (7)	14 (7)	10 (5)	3 (0)	37 (19)

() の中には BMP-2 陽性例の数

BMP, Bone morphogenetic protein; G type, 胃型; GI type, 胃腸混合型; I type, 腸型; N type, ヌル型

胃癌 37 例での BMP-4 の発現

	G type	GI type	I type	N type	計
分化型	9 (2)	9 (3)	6 (0)	3 (0)	27 (5)
未分化型	1 (1)	5 (4)	4 (4)	0 (0)	10 (9)
計	10 (3)	14 (7)	10 (4)	3 (0)	37 (14)

() の中には BMP-4 陽性例の数

BMP, Bone morphogenetic protein; G type, 胃型; GI type, 胃腸混合型; I type, 腸型; N type, ヌル型

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)

- ① Mizoshita T. Kataoka H, Tanida S, Sasaki M, Ogasawara N, Kubota E, Wada T, Yamada T, Mori Y, Shimura T, Tsukamoto T, Tatematsu M, Joh T. Gastric phenotypic expression and histogenesis of metachronous gastric cancers endoscopically resected. *Hepatogastroenterology*, in press. 2009, 査読有.
- ② Mizoshita T. Kataoka H, Kubota E, Shimura T, Mori Y, Wada T, Ogasawara N, Sasaki M, Kamiya T, Sakamoto M, Akamo Y, Joh T. An endocrine cell carcinoma with gastric-and-intestinal mixed phenotype adenocarcinoma component in the stomach. *Digestive Endoscopy*, in press, 2009, 査読有.
- ③ Hirata Y, Mizoshita T*, Mizushima T, Shimura T, Mori Y, Kubota E, Wada T, Ogasawara N, Tanida S, Kataoka H, Sasaki M, Kamiya T, Tsukamoto T, Tatematsu M, Joh T. Gastric-and-intestinal mixed endocrine cell phenotypic expression of carcinoid tumors in the rectum. *Oncol Rep.*, 21: 107-12, 2009, 査読有.
*Correspondence
- ④ Cao L, Mizoshita T. Tsukamoto T, Takenaka Y, Toyoda T, Cao X, Ban H, Nozaki K, Tatematsu M. Development of carcinoid tumors of the glandular stomach and effects of eradication in *Helicobacter pylori*-infected Mongolian gerbils. *Asian Pac J*

Cancer Prev., 9: 25-30. 2008, 査読有.

- ⑤ Mizoshita T. Kataoka H, Kubota E, Okamoto Y, Shimura T, Mori Y, Wada T, Ogasawara N, Sasaki M, Kamiya T, Joh T. Gastric phenotype signet-ring cell carcinoma of the stomach with multiple bone metastases effectively treated with sequential methotrexate and 5-fluorouracil. *Int. J Clin. Oncol.*, 13, 373-6, 2008, 査読有.
- ⑥ Sasaki M, Mizoshita T. Mizushima T, Inoue H, Kamiya T, Kataoka H, Ogasawara N, Wada T, Kubota E, Mori Y, Shimura T, Hirata H, Ando K, Okamoto Y, Ohara H, Nakao H, Joh T. Effect of plaunotol in combination with clarithromycin against *Helicobacter pylori* in vitro and in vivo. *J Antimicrob Chemother.* 60: 1060-3, 2007, 査読有.
- ⑦ Mizoshita T. Tsukamoto T, Toyoda T, Ban H, Nozaki K, Tatematsu M. Intestinal phenotypes of stomach cancers arising after *Helicobacter pylori* eradication in carcinogen-treated Mongolian gerbils. *Asian Pac J Cancer Prev.* 8: 267-71, 2007, 査読有.

[学会発表] (計14件)

- ① 溝下 勤, 佐々木誠人, 水島隆史, 神谷武, 片岡洋望, 谷田諭史, 小笠原尚高, 和田恒哉, 久保田英嗣, 志村貴也, 平田慶和, 城卓志, 6か月間のランソプラゾール持続投与が *Helicobacter pylori* 感染スナネズミ腺胃粘膜および血清ガストリン値に与える影響, (口演), 第5回日本消化管学会総会学術集会, 2009年2月13日、東京(京王プラザホテル).
- ② 溝下 勤, 片岡洋望, 谷田諭史, 志村貴也, 城卓志多発骨転移を伴う胃癌 - 胃型・腸型形質発現を検索した2症例で

- の検討-, (示説), 第 46 回日本癌治療学会総会, 2008 年 11 月 1 日, 名古屋 (名古屋国際会議場).
- ③ **溝下 勤**, 佐々木誠人, 水島隆史, 神谷武, 片岡洋望, 谷田諭史, 小笠原尚高, 和田恒哉, 久保田英嗣, 志村貴也, 平田慶和, 城 卓志, プロトンポンプインヒビター持続投与による胃粘膜および血清ガストリン値の変化 - スナネズミモデルでの検討 -, (示説), 第 50 回日本消化器病学会大会 (第 16 回 日本消化器関連学会週間), 2008 年 10 月 1 日, 東京 (グランドプリンスホテル新高輪).
- ④ **溝下 勤**, 片岡洋望, 谷田諭史, 久保田英嗣, 志村貴也, 塚本徹哉, 立松正衛, 城 卓志, 胃癌の胃型・腸型形質発現から見た組織発生 - 除菌後発生例および異時性多発例 -, (ミニシンポジウム 2 発癌機構 (食道・胃)), 第 19 回日本消化器癌発生学会総会, 2008 年 8 月 28 日, 大分 (別府 亀の井ホテル).
- ⑤ **溝下 勤**, 片岡洋望, 佐々木誠人, 神谷武, 谷田諭史, 小笠原尚高, 久保田英嗣, 和田恒哉, 志村貴也, 水島隆史, 平田慶和, 城 卓志, 胃腸混合型の腺癌成分を伴った胃内分泌細胞癌の 1 例, (口演), 日本消化器病学会東海支部第 108 回例会, 2008 年 6 月 28 日, 岐阜 (長良川国際会議場).
- ⑥ **溝下 勤**, 片岡洋望, 城 卓志, 胃型・腸型形質発現およびマイクロサテライト不安定性から見た胃癌の自然史, (ワークショップ 5 消化管癌の自然史を見直す), 第 94 回日本消化器病学会総会, 2008 年 5 月 10 日, 福岡 (福岡国際会議場).
- ⑦ **Tsutomu Mizoshita**, Hiromi Kataoka, Makoto Sasaki, Takaya Shimura, Yoshinori Mori, Eiji Kubota, Tsuneya Wada, Naotaka Ogasawara, Takeshi Kamiya, Takashi Joh, The gastric and intestinal mucinous phenotypes of gastric cancers in human and *Helicobacter pylori*-infected and -eradicated Mongolian gerbils, (Oral), Annual Meeting of the American Gastrointestinal Association, Digestive Disease Week, 2008 年 5 月 18 日, San Diego (San Diego Convention Center), U. S. A.
- ⑧ **溝下 勤**, 佐々木誠人, 片岡洋望, 神谷武, 小笠原尚高, 久保田英嗣, 和田恒哉, 志村貴也, 岡本泰幸, 城 卓志, 骨髄癌症を合併した胃印環細胞癌の 1 例, (口演), 第 204 回日本内科学会東海地方会, 2008 年 2 月 16 日, 名古屋 (名古屋国際会議場).
- ⑨ **溝下 勤**, 片岡洋望, 佐々木誠人, 神谷武, 小笠原尚高, 久保田英嗣, 和田恒哉, 森 義徳, 志村貴也, 塚本徹哉, 立松正衛, 城 卓志, スナネズミモデルで発生した *Helicobacter pylori* 除菌後発生胃癌の胃型・腸型形質発現, (口演), 第 4 回日本消化管学会総会学術集会, 2008 年 2 月 7 日, 大阪 (グランキューブ大阪).
- ⑩ **溝下 勤**, 片岡洋望, 佐々木誠人, 志村貴也, 岡本泰幸, 神谷 武, 小笠原尚高, 久保田英嗣, 和田恒哉, 森 義徳, 水島隆史, 平田慶和, 城 卓志, 多発骨転移で発見された胃型胃癌の 1 例, (口演), 日本消化器病学会東海支部第 107 回例会, 2007 年 11 月 17 日, 名古屋 (名古屋市中小企業振興会館).
- ⑪ **溝下 勤**, 片岡洋望, 佐々木誠人, 神谷武, 小笠原尚高, 久保田英嗣, 和田恒哉, 森 義徳, 志村貴也, 水島隆史, 岡本泰幸, 塚本徹哉, 立松正衛, 城 卓志, 大腸腺腫・早期大腸癌でのムチン関連蛋白 (MUC2, MUC5AC) と Cdx2 の発現, (示説), 第 49 回日本消化器病学会大会 (第 15 回日本消化器関連学会週間), 2007 年 10 月 19 日, 神戸 (神戸国際展示場).
- ⑫ **Tsutomu Mizoshita**, Tetsuya Tsukamoto, Takeshi Toyoda, Hiromi Kataoka, Makoto Sasaki, Eiji Kubota, Yoshinori Mori, Takaya Shimura, Takashi Joh, Masae Tatsumatsu, The phenotypes of stomach cancers arising after *Helicobacter pylori* eradication in carcinogen-treated Mongolian gerbils, (Workshops 2 Experimental animal models and genetically-engineered animals, 2-2 Animal model for carcinogenesis), 第 66 回日本癌学会学術総会, 2007 年 10 月 3 日, 横浜 (パシフィコ横浜).
- ⑬ **溝下 勤**, 塚本徹哉, 佐々木誠人, 城 卓志, 立松正衛, *Helicobacter pylori* 除菌後発生胃癌の形質発現 - スナネズミモデルおよびヒトでの検討-, (シンポジウム 2 除菌後胃癌の特徴), 第 13 回日本ヘリコバクター学会学術集会, 2007 年 6 月 21 日, 大津 (琵琶湖ホテル).
- ⑭ **溝下 勤**, 片岡洋望, 城 卓志, *Helicobacter pylori* 感染と胃癌の形質発現 - ヒトおよびスナネズミモデルでの検討 -, (シンポジウム 1 胃癌における *Helicobacter pylori* 感染 - 基礎的・臨床的研究のその後 -), 第 93 回日本消化器病学会総会, 2007 年 4 月 19 日, 青森 (青森市文化会館).

〔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〕

ホームページ等
特になし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

溝下 勤 (MIZOSHITA TSUTOMU)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・臨床
研究医
研究者番号：40347414

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：