

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2007～2008

課題番号：19890118

研究課題名（和文） 重層上皮研究に基づいた上皮形成・維持機構と癌化の分子機構

研究課題名（英文） Stratified epithelial development and cancer progression

研究代表者

松井 毅（MATSUI TAKESHI）

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・特任講師

研究者番号：10452442

研究成果の概要：

大腸癌細胞株・大腸癌組織における Dermokine の発現解析を行い、分泌型が、発現している事を明らかにした。そこで、血清腫瘍マーカーとしての応用性へ向けて、分泌型に対する抗体を作成し、血清検査系を構築した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,320,000	0	1,320,000
2008年度	1,350,000	405,000	1,755,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,670,000	405,000	3,075,000

研究分野：医歯薬学

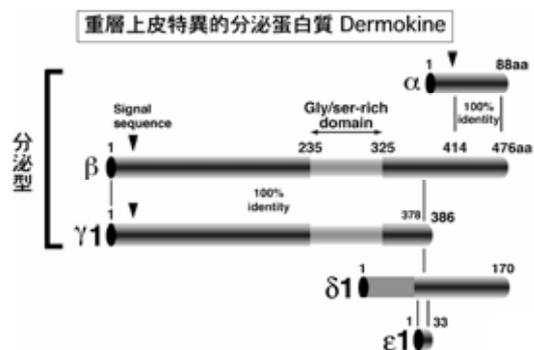
科研費の分科・細目：医科学一般

キーワード：

1. 研究開始当初の背景

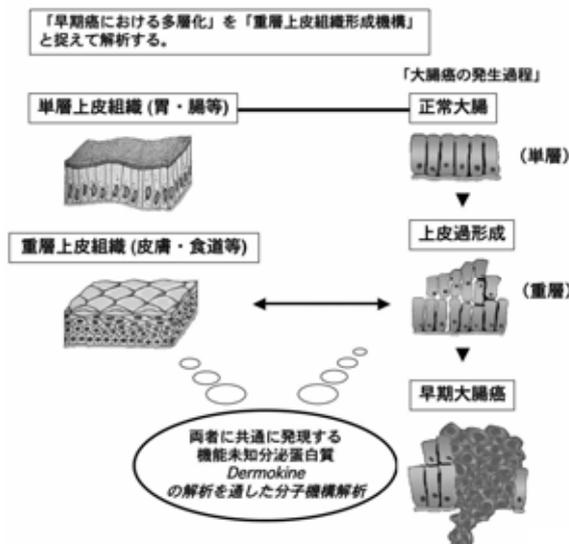
人体を構成する各器官はその表層を上皮組織と呼ばれる細胞シートにより区画化する事によりそれぞれの生理機能の遂行を可能にしている。上皮組織には、一層からなる単層上皮組織と、多層からなる重層上皮組織が存在している。単層上皮組織は、消化器系（胃や腸等）・泌尿器系（腎臓）・呼吸器系（気管や肺等）のような吸収や分泌を行う器官に認められる。重層上皮組織（皮膚や食道、子宮頸部等）は、機械的刺激により細胞の損傷が起こる部位に認められる。このように生物学的に重要な働きを担っている上皮組織であるが、その形成・維持機構の分子メカニズムは明らかになってい

ない部分が多い。一方で、悪性腫瘍の90%が上皮組織由来（胃癌・大腸癌・膵臓癌・肺癌・子宮頸癌等）である事も知られている。従って上皮形成機構の解明は、癌化の分子機構の理解へと繋がり、新たな診断薬や治療薬の開発に結びつく事が予測される。



2. 研究の目的

機能未知重層上皮特異的分泌蛋白質 Dermokine は EST 情報から、様々な癌細胞に高発現する事も明らかとなっている。しかし、その高発現がどのような影響を癌細胞に及ぼすのかは明らかになってはいない。そこで、この重層上皮組織と癌組織の両者に発現する新規分子である Dermokine の解析を足がかりに、重層上皮の形成・維持機構から上皮全般の形成・維持機構を、更には、癌化の分子機構を理解する事を試みる。



3. 研究の方法

(1) 癌細胞株における Dermokine の発現状況の解析

消化器癌細胞株(大腸癌、胃癌、肝臓癌、食道癌)に発現する Dermokine の種類を、定量的 RT-PCR 法を用いて調べる。

(2) 癌組織における Dermokine の発現状況の解析

消化器癌組織(大腸癌、胃癌、肝臓癌、食道癌)臨床サンプルにおける Dermokine の種類を、定量的 RT-PCR 法による局在解析を行う。

(3) 診断マーカーとしての応用性の検討

癌に発現する Dermokine 遺伝子から大腸菌において蛋白質を発現するベクターを構築する。大腸菌において大量精製した蛋白質をウサギに免疫する事により、抗 Dermokine 抗体を作成する。作成した抗体を用いて及び免疫組織化学染色や ELISA 系を構築する。

4. 研究成果

(1) 癌細胞株における Dermokine の発現状況の解析

大腸癌、胃癌、肝臓癌、食道癌細胞株において、Dermokine の発現状況を特異的に検出した。その結果、幾つかの細胞株において分泌型が、高発現している事を明らかにした。

(2) 癌組織における Dermokine の発現状況の解析

消化器癌組織(大腸癌、胃癌、肝臓癌、食道癌)臨床サンプルにおける Dermokine の種類を、定量的 RT-PCR 法を用いて特異的に検出した所、細胞株と同様に分泌型 Dermokine が高発現している事が明らかとなった。そこで、Dermokine に対する特異的抗体を作成し、免疫組織化学染色による局在解析を行った所、早期癌の多層化状態において発現している事が明らかとなった。

(3) 診断マーカーとしての応用性の検討

癌に発現していた Dermokine 遺伝子を用いて大腸菌において蛋白質を発現するベクターを構築した。大腸菌において大量精製した蛋白質をウサギに免疫し、抗 Dermokine 抗体を作成した。その抗体を用いた免疫染色によると、早期癌の多層化状態において Dermokine が発現している事が明らかとなった。また ELISA 系を構築して早期大腸癌の血清検査系が可能になった。

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2件)

Nojima H, Adachi M, Matsui T, Okawa K, Tsukita S, Tsukita S: IQGAP3 regulates cell proliferation through the Ras/ERK signalling cascade. *Nature Cell Biol.* 10:971-978, 2008. 査読有

Katsuno T, Umeda K, Matsui T, Hata M., Tamura A., Itoh M, Takeuchi K, Fujimori T, Nabeshima YI, Noda T, Tsukita S, Tsukita S: Deficiency of zonula occludens-1 causes embryonic lethal phenotype associated with defected yolk sac angiogenesis and

apoptosis of embryonic cells. *Mol. Biol. Cell* 19:2465-2475, 2008. 査読有

〔学会発表〕(計6件)

田儀知之、菊池正二郎、松井毅、大辻英吾

新規分泌型サイトカイン Dermokine を用いた新しい大腸癌血清診断法の開発と臨床応用

第63回日本消化器外科学会
平成20年7月16-18日

熊野達也、菊池正二郎、松井毅、大辻英吾

新規分泌型サイトカイン Dermokine を用いた早期胃癌血清診断法の開発と臨床応用

第63回日本消化器外科学会
平成20年7月16-18日

渡邊健次、菊池正二郎、松井毅、大辻英吾

新規分泌型サイトカイン Dermokine の癌組織における発現解析

第63回日本消化器外科学会
平成20年7月16-18日

小松周平、井本逸勢、津田均、小崎健一、松井毅、嶋田裕、市川大輔、大辻英吾、稲澤讓治食道扁平上皮癌における新規診断治療標的遺伝子 OES1 の同定

第67回日本癌学会学術総会
平成20年10月28-30日

菊池正二郎、田儀知之、松井毅、喜住文枝、井田曜子、今井俊夫、星佐知、片山政彦、中西芳正、岡本和真、落合登志哉、國場幸均、大辻英吾

新規分泌型サイトカイン Dermokine を用いた新しい早期大腸癌血清診断法の開発と臨床応用

第67回日本癌学会学術総会
平成20年10月28-30日

田儀知之、菊池正二郎、松井毅、喜住文枝、井田曜子、今井俊夫、星佐知、片山政彦、中西芳正、岡本和真、落合登志哉、國場幸均、大辻英吾

新規分泌型サイトカイン Dermokine の腺癌における発現解析

第67回日本癌学会学術総会
平成20年10月28-30日

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称: 消化器癌の診断方法

発明者: 松井毅、菊池正二郎、田儀知之、落合登志哉、井田曜子、喜住文枝、鈴木佐知

権利者: 内藤晴夫

種類: 特許

番号: 特願 2007-294243

出願年月日: 2007年11月13日

国内外の別: 国内

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ

<http://www.tmd.ac.jp/mri/mtt/mtt.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松井 毅 (MATSUI TAKESHI)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・メディカル・トップ・トラック(MTT)プログラム・特任講師

研究者番号: 10452442

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

菊池 正二郎 (KIKUCHI SHOJIRO)

京都府立医科大学・消化器腫瘍制御外科学部門・助教

研究者番号: 70381960