

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 4 日現在

機関番号：24303

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2010～2011

課題番号：22890158

研究課題名（和文） 消化器癌における新規癌遺伝子 SMYD2 の癌化機構の解明と臨床応用

研究課題名（英文）Molecular analyses and clinical application of a novel oncogene, SMYD2 in gastrointestinal cancers.

研究代表者

小松 周平 (Komatsu Shuhei)

京都府立医科大学・医学研究科・助教

研究者番号：40578978

研究成果の概要(和文)：

食道扁平上皮癌の増幅領域のうち 1q32-41 増幅領域の再評価により同定した新規の癌関連遺伝子 SMYD2 (Komatsu S. et al. Carcinogenesis 2009) の詳細な機能解析、他癌種における発現意義を解析した。特に、胃癌細胞株、臨床検体において SMYD2 が腫瘍の増殖と悪性度に関連する分子であることを明らかにした。更に SMYD2 制御する癌関連遺伝子、癌関連 microRNA の存在を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：

Previously, we detected the novel cancer-related gene, SMYD2 (SET and MYND domain-containing protein 2) as a novel amplification target of 1q32-41 in esophageal squamous cell carcinoma (Komatsu S et al. Carcinogenesis 2009). In this study, we demonstrated the molecular mechanisms and clinical significance of SMYD2 in gastrointestinal cancers, especially in gastric carcinoma.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,230,000	369,000	1,599,000
2011 年度	1,130,000	339,000	1,469,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,360,000	708,000	3,068,000

研究分野: 消化器外科学

科研費の分科・細目: 外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード: 分子生化学、分子標的、癌遺伝子

## 1. 研究開始当初の背景

食道癌は、極めて悪性度の高い難治性の癌であるが、未だ実地臨床の現場で有望な診断及び治療標的分子は少ないのが現状である。申請者は、既知の食道扁平上皮癌の増幅領域のうち 1q32-41 増幅領域の再評価により、細胞増殖と腫瘍の悪性度に関わる新しい癌関連遺伝子 SMYD2 を同定した (Komatsu S. et al. *Carcinogenesis* 2009)。しかし、他の消化器癌における SMYD2 発現の意義は明らかにされていない。

## 2. 研究の目的

本研究は、消化器癌、特に胃癌においての SMYD2 発現の意義を明らかにすることを目的として研究を行った。

## 3. 研究の方法

SMYD2 の消化器癌に対する基礎的・臨床的意義を明らかにするために計画した研究課題・方法を以下に示す。

①発癌、悪性度に関する SMYD2 の分子機構の更なる解明(下流分子、標的分子の同定)、②化学放射線療法感受性予測や耐性作用の解明、③同じ 1q32-41 増幅領域内の他の増殖・浸潤・悪性度に関する分子の解析、④血中遊離 DNA の SMYD2 遺伝子コピー数の定量による血液・体腔液診断、早期診断への応用、⑤SMYD2 が制御する癌関連 microRNA の解析、を行った。

## 4. 研究成果

以下の研究は、東京医科歯科大学難治研究所・稲澤讓治教授、国立がん研究センター病理・津田 均博士の指導のもと施行した。

研究課題①に関しては、胃癌根治切除連続症例 142 例の臨床検体を用いた免疫組織学的解析を施行したところ、SMYD2 高発現群が 56 例 (39%)、低発現群が 86 例 (61%) で、高発現群が有意に予後不良である ( $p < 0.05$ ) ことから、先ず SMYD2 が胃癌の悪性度に関わる分子であることを明らかにした (国立がん研究センター・病理・津田 均博士監修)。次に、7 種類の胃癌細胞株パネルを用いて SMYD2 蛋白発現を施行したところ、5 株 (71%) に過剰発現を認めた。p53 変異株の HGC27 株、p53 正常株の NUGC4 株で SMYD2 特異的 siRNA を導入しノックダウンしたところ、コントロール siRNA 導入と比較して、共に p21 発現誘導を伴う著しい細胞増殖抑制を認め、食道癌と同様 p53 independent に細胞増殖に関わることが明らかとなった。また、FACS 解析で G1-S arrest を認めた。さらに、invasion assay を施行したところ著しい SMYD2 ノックダウンにより著しい浸潤抑制が認められた。癌抑制遺伝子 RB を SMYD2 が制御するという報告が認められた (Saddic LA et al. *J Biol Chem.* 2010) が、胃癌においては関連性を示すことができなかった。胃癌 SMYD2 発現株 (コントロール) と遺伝子抑制株の cDNA アレイ (発現アレイ) 解析により関連遺伝子の網羅的解析中である。その他詳細を含めて現在、投稿準備中である。

②に関しては、SMYD2 はアドリアマイシンや放射線の感受性遺伝子である可能性が報告されている (Huang J et al. *Nature.* 2006) が、胃癌細胞株数種類で 5-FU、CDDP に対する抗癌剤感受性分子としての SMYD2 機能解析を進めたが、現在のところ感受性遺伝子としての意義を見出すことは出来ていない。タキサン系抗癌剤等の他の消化器癌の key drug について解析を進めている。

③に関しては、同じ1q32-41増幅領域内の癌遺伝子候補TMEM206、DTLはSMYD2と同様に食道扁平上皮癌細胞株で高頻度に高発現を認めた。これらの分子についても詳細な解析を開始している。

④に関しては、我々は以前に固形癌で高頻度にみられるゲノム1次構造変化、特に遺伝子増幅に注目し、癌細胞由来の血中の遊離DNAの増幅遺伝子のコピー数を解析して血中の新しいバイオマーカーを同定するシステムを開発した。一例として、CCND1増幅遺伝子を用いて、食道癌の存在診断(早期診断、再発診断)、治療経過のモニタリング、悪性度評価が可能であることを明らかにした(Takeshita H. Komatsu S. Br J Cancer 2010)。SMYD2は、食道癌臨床検体の15%以上に増幅がみられ遺伝子であるため食道癌患者血漿と健常人患者血漿を用いて解析を行った。結果、癌存在診断バイオマーカーとしては感度が低い、SMYD2高コピー数患者の治療のモニタリング分子として有用であることや、予後予測分子として有用である可能性が示された。詳細な解析は現在施行中であり近日報告予定である。

⑤に関しては、microRNAが遺伝子の発現を制御することは近年明らかにされてきたが、microRNAを制御する癌関連分子の報告は少ない。SMYD2が制御するmicroRNAの網羅的解析を行っており、SMYD2が制御する癌関連microRNAの存在が明らかになりつつある。近日報告予定である。

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4件)

- 1: Komatsu S, Ichikawa D, Otsuji E et al. (1番目) Prognostic impact of circulating miR-21 and miR-375 in plasma of patients with esophageal squamous cell carcinoma. Expert Opin Biol Ther. 2012; 12:S53-9. doi:10.1517/14712598.2012.681373
- 2: Ichikawa D, Komatsu S, Otsuji E et al. (2番目) Circulating microRNA in digestive tract cancers. Gastroenterology. 2012; 142:1074-1078. doi:10.1053/j.gastro.2012.03.008
- 3: Morimura R, Komatsu S, Ichikawa D, Otsuji E et al. (2番目) Novel diagnostic value of circulating miR-18a in plasma of patients with pancreatic cancer. Br J Cancer. 2011; 105:1733-40. doi: 10.1038/bjc.2011.453.
- 4: Komatsu S, Ichikawa D, Otsuji E et al. (1番目) Circulating microRNAs in plasma of patients with oesophageal squamous cell carcinoma. Br J Cancer. 2011; 105:104-11. doi: 10.1038/bjc.2011.198.

[学会発表](計1件)

食道癌扁平上皮癌の増幅領域の再評価により同定した新しい癌関連遺伝子SMYD2の癌化機構の解明と臨床応用(2010年4月8日日本外科学会定期学術集会 名古屋国際会議場)

[図書](計0件)

[産業財産権]

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

[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

小松 周平 (Shuhei Komatsu)

京都府立医科大学・医学研究科・助教

研究者番号:40578978

(2)研究分担者

該当なし ( )

研究者番号:

(3)連携研究者

該当なし ( )

研究者番号: