

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 20 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591945

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

研究課題名(英文) Identification of novel cancer-related gene, DTL in digestive tract cancer

研究代表者

當麻 敦史 (Toma, Atsushi)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：30516191

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000 円、(間接経費) 1,170,000 円

研究成果の概要(和文)：食道癌は極めて悪性度の高い難治性の癌であり、集学的な治療が望まれる。しかし、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。申請者らは43種類の食道扁平上皮癌細胞株に対してアジレント244KオリゴアレイCGH解析を行い、既知の増幅・欠失領域の再評価を行った。(Komatsu S. et al. Carcinogenesis 2009)。本研究は、食道扁平上皮癌株の1q32-41増幅領域に坐位し、高発現するDTL遺伝子について、食道癌臨床検体を用いたDTLの蛋白発現解析による予後、悪性度に対する評価、発癌、悪性度に関するDTL分子機構の解明、臨床応用への解析を行った。

研究成果の概要(英文)：Although previous studies have identified various amplifications and their targets in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC), recent progress in the human genome project prompted us to identify additional targets. In this study, we tested whether DTL, located at previously reported 1q32-q41 amplicon, acts as a cancer-promoting gene in ESCC. Overexpression of DTL protein was frequently detected in primary ESCCs, and significantly correlated with pN category, and status of recurrence. Patients with DTL-overexpressing tumors had a worse overall survival than those with non-expressing tumors, and DTL was independent prognosticator in the multivariate analysis. Knockdown of DTL inhibited and ectopic overexpression of DTL promoted the growth of ESCC cells. These findings suggest that DTL plays an important role in tumor cell growth, and highlight its usefulness as a prognosticator and potential therapeutic target in ESCC.

研究分野：食道外科学

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：分子生物学 増幅遺伝子 癌遺伝子

## 1. 研究開始当初の背景

癌の発生と進展の過程には、多くの遺伝子異常が認められ、これらが悪性形質の獲得に深く関わっているものと理解されている。こうしたゲノム異常の検出にはアレイ Comparative genomic hybridization (CGH) 法等のゲノムワイドな解析手法が大きな力を振るってきた。食道扁平上皮癌 (以下 ESCC) においても様々な増幅領域から EGFR (7p12)、MYC(8q24)、CCND1(11q13)等の標的遺伝子が同定されてきた。1q32-41領域の増幅も、これまでのCGH解析によって見出されていたもののひとつである。また、近年、ヒトゲノムプロジェクトによりゲノム配列情報の整備と解析システムが飛躍的に進歩した。これらの既知の増幅領域に対して、その再評価を行い、より詳細なゲノム・エピゲノム解析を行うことで新規の治療標的遺伝子の同定が可能と考えて、今回の解析を開始した。今回注目した 1q32-41 領域の増幅領域には ATF3 や CENPF といった遺伝子が座位することが報告 (Pimkhaokham A et. al. Jpn J Cancer Res. 2000) され、当初標的遺伝子の候補と目されていた。しかし、同領域内で、当時データベースに収載されていなかった遺伝子は現在まで未解析であった。申請者らは、ESCC 細胞株を用いて同領域の詳細なゲノム・エピゲノム解析を行い、さらに最新のゲノムデータベースを用いた再評価によって、新しい癌関連遺伝子候補を同定した。

具体的には、ESCCの1q増幅株を用いて、先ずアジレント社の244K高密度オリゴアレイCGH解析により増幅地図を作製し、領域内の42候補遺伝子を選出した。次にFISH解析により同領域内の高コピー数領域に含まれる22候補遺伝子を選出した。次に定量的発現解析とゲノムデータベースの遺伝子情報を参考に、43種のESCC細胞株で最も高頻度に高発現していたDTL遺伝子に注目して解析をすすめることとした。

## 2. 研究の目的

消化器癌における DTL 遺伝子の分子機構の

解明と癌関連遺伝子としての臨床応用を目的として研究を行った。

## 3. 研究の方法

本研究は食道癌でのDTL遺伝子の癌関連遺伝子としての分子機構解明と臨床応用を行うため、以下の研究計画をたてた。食道癌臨床検体を用いたDTLの蛋白発現解析による予後、悪性度に対する評価 発癌、悪性度に関するDTL分子機構の更なる解明(下流分子、標的分子の同定)、化学・放射線療法の感受性予測や耐性作用の解明、p53発現の同時測定による診断マーカーとしての応用、血中遊離DNAのDTL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、他臓器癌におけるDTL遺伝子発現亢進による腫瘍の増殖・悪性度への関与の評価、を行うことを計画した。

## 4. 研究成果

上記の に関しては、臨床検体を用いて、独立した予後因子としての発現意義を明らかにした。

に関しては、更に DTL 高発現株の siRNA ノックダウンとコントロールをアレイ解析し、DTL が制御する癌抑制遺伝子候補を同定した。 は現在解析中であり、抗癌剤耐性遺伝子としての可能性があり、今後機序を明らかにする。 に関しては、細胞株で p53 と DTL ダブルノックダウンを行い、p53 野生型株では p53 依存的で、p53 変異型株は p53 非依存的な DTL の分子機構を明らかにした。U2OS 株等でも検証した。 に関しては、食道癌患者の血漿遊離 DNA を用いた解析を行ったが臨床的意義を見出すことはできなかった。 の他臓器癌については胃癌の DTL の分子機構と臨床的意義ついて解析を始めている。

## 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13件)

1: Tsujiura M, Komatsu S, Ichikawa D, Otsuji E et al. Circulating miR-18a in plasma contributes to cancer detection and

monitoring in patients with gastric cancer. Gastric Cancer. 2014 Mar 14. [Epub ahead of print]

2: Shimizu H, Shiozaki A, Ichikawa D, Komatsu S, Otsuji E et al. The expression and role of Aquaporin 5 in esophageal squamous cell carcinoma. J Gastroenterol. 2014;49:655-66.

3: Shiozaki A, Ichikawa D, Komatsu S, Otsuji E et al. xCT, component of cysteine/glutamate transporter, as an independent prognostic factor in human esophageal squamous cell carcinoma. J Gastroenterol. 2014;49:853-63.

4: Ishii H, Toma A, Itoh T, Ochiai T et al. Mesohepatectomy with total caudate lobectomy of the liver for hepatocellular carcinoma. World J Surg Oncol. 2013;11:82.

5: Komatsu S, Ichikawa D, Otsuji E et al. Prognostic impact of circulating miR-21 in the plasma of patients with gastric carcinoma. Anticancer Res. 2013 ;33:271-6.

6: Kawaguchi T, Komatsu S, Ichikawa D, Otsuji E et al. Clinical impact of circulating miR-221 in plasma of patients with pancreatic cancer. Br J Cancer. 2013; 108:361-9.

7: Nishimura Y, Komatsu S, Ichikawa D, Otsuji E et al Overexpression of YWHAZ relates to tumor cell proliferation and malignant outcome of gastric carcinoma. Br J Cancer. 2013;108:1324-31.

8: Hirajima S, Komatsu S, Ichikawa D, Otsuji E et al. Clinical impact of circulating miR-18a in plasma of patients with oesophageal squamous cell carcinoma. Br J Cancer. 2013; 108:1822-9.

9: Shiozaki A, Ichikawa D, Komatsu S, Otsuji E et al. XB130 as an independent prognostic factor in human esophageal squamous cell carcinoma. Ann Surg Oncol. 2013;20:3140-50.

10: Kashimoto K, Komatsu S, Ichikawa D, Otsuji E. Overexpression of TRIM44 contributes to malignant outcome in gastric carcinoma. Cancer Sci. 2012 ;103:2021-6.

11: Ishii H, Toma A, Itoh T et al. Anatomical liver segmentectomy 2 for

combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma with tumor thrombus in segment 2 portal branch. World J Surg Oncol. 2012;10:22.

12: Ichikawa D, Komatsu S, Konishi H, Otsuji E. Circulating microRNA in digestive tract cancers. Gastroenterology. 2012;142:1074-1078.

13: Komatsu S, Ichikawa D, Otsuji E et al. Prognostic impact of circulating miR-21 and miR-375 in plasma of patients with esophageal squamous cell carcinoma. Expert Opin Biol Ther. 2012;12:53-9.

〔学会発表〕(計2件)

1: 統合的ゲノム解析による消化器癌の新規の癌遺伝子 SMYD2 の同定と癌化機構の解明  
小松 周平(京都府立医科大学 消化器外科),  
市川 大輔, 津田 均, 井本 逸勢, 稲澤 譲治,  
大辻 英吾  
2013年4月11日~13日 第113回日本外科学会定期学術集会 福岡

2: 上部消化管癌における新規癌関連遺伝子 TRIM44 の癌化機構の解明と臨床応用  
Author : 川口 耕(京都府立医科大学 消化器外科), 小松 周平, 市川 大輔, 柏本 錦吾,  
津田 均, 大辻 英吾  
2013年4月11日~13日 第113回日本外科学会定期学術集会 福岡

〔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

## 6. 研究組織

(1)研究代表者  
當麻 敦史(Toma Atsushi)  
京都府立医大学・医学研究科・助教  
研究者番号: 30516191

(2)研究分担者  
大辻 英吾(Eigo Otsuji)  
京都府立医大学・医学研究科・教授  
研究者番号: 20244600

小松 周平(Komatsu Shuhei)  
京都府立医大学・医学研究科・助教  
研究者番号: 40578978

(3)連携研究者  
該当なし