

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 25 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：平成 23 年度～平成 24 年度

課題番号：23790390

研究課題名（和文） 診断・治療への貢献を目指した高肝転移性胃癌の解析

研究課題名（英文）Clinicopathologic features of gastric cancer associated with liver metastasis

研究代表者

牛久 哲男（USHIKU TETSUO）

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60376415

研究成果の概要（和文）：胃癌の中には発生初期の幼若な細胞分化を示し、SALL4 や Claudin-6 等の胚性幹細胞マーカーを特異的に高発現する一群が存在することを明らかにした。これらは AFP 産生胃癌を含む肝転移を来たしやすい胃癌であることを示し、また治療ターゲットである HER2 陽性率が比較的高いことを見出した。一方、転移が稀な低悪性度胃癌として、腸型腸高分化型胃癌の臨床病理学的特徴を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：This project demonstrated that embryonic stem cell markers, such as SALL4 and Claudin-6, were specifically expressed in a subset of gastric cancer which is highly associated with liver metastasis. This subset of gastric cancer showed relatively high frequency of HER2 positivity as well. Finally, we clarified the clinicopathologic features of very well differentiated gastric carcinoma with intestinal type, which is unlikely to develop metastatic disease.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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：胃癌、肝転移

1. 研究開始当初の背景

消化管内視鏡技術をはじめとする診断・治療法の進歩により、胃癌の治療成績は大きく改善されてきた。しかしながら、肝転移をはじめとする遠隔転移を伴う胃癌の予後は依然として不良であり、高肝転移性胃癌を抽出（診断）し、有効な治療を行うことが胃癌死亡率をさらに低下させるために重要な課題である。

2. 研究の目的

(1) 高肝転移性胃癌の臨床病理学的特徴、(2) 診断に有効なマーカー、(3) 新規分子治療標的、既存の抗体療法の適応の可能性を明らかにする。

かにする。

3. 研究の方法

(1) 約 1,000 症例の胃癌組織標本、臨床情報のレビューを行い、臨床病理学的因子と肝転移との関係を解析した。逆に転移を来たしにくい臨床病理学的因子の解析、特に組織像との関連についても検討した。

(2) 高肝転移胃癌では胚性幹細胞マーカー遺伝子群が高発現し、高悪性度形質に関わっているという仮説をもとに、本研究では特に Claudin-6 に着目、正常組織、胃癌をはじめとする悪性腫瘍の切除検体（計約 1,000 例）

を用いて免疫組織化学的に発現状態を検索した。Claudin-6 陽性腫瘍についてはさらに詳細な臨床病理学的検討を行った。

(3)HER2 発現・遺伝子増幅を約 200 例の胃癌切除検体について、免疫染色、および Dual Color in situ Hybridization 法を用いて検索。肝転移との関係を検討した。また胃癌における HER2 発現の検索・評価法の標準化が課題となっているため、検索・評価法の問題点を検討した。

4. 研究成果

(1)胃癌症例の臨床病理学的検討から、グリコーゲンの豊富な淡明な細胞質を有し、胎児腸管上皮に類似する胃癌(胎児型胃癌)、肝細胞癌に類似する肝臓腺癌、および AFP 産生胃癌等が高肝転移胃癌として抽出された。遺伝子発現データベース検索から、Claudin-6 は胚性幹細胞から胎生初期の幼若な上皮細胞でのみ発現する接着分子と考えられた。免疫組織化学的に正常組織、悪性腫瘍、計約 1,000 例での Claudin-6 の発現を検索したところ、AFP 産生胃癌をはじめとする高肝転移性胃癌で高発現し、性上皮腫、胎児性癌、卵黄嚢性腫瘍、絨毛癌、胎児型肺癌といった幼若な細胞分化を示す腫瘍に特異的に高発現していることを発見した。胃癌症例についてさらに臨床病理学的検討を加えたところ、胎児消化管類似癌や肝臓腺癌の組織像を有している胃癌であれば、患者血清、あるいは免疫組織化学的に AFP 産生が証明されない場合でも Claudin-6 は高頻度に高発現していることを見出した。従来は AFP がこれらの高肝転移性胃癌のマーカーとして臨床的に利用されてきたが、Claudin-6 や SALL4 はより高感度にこれらの高肝転移性胃癌を検出することが可能であると考えられる。今回の免疫組織化学的検討では、Claudin-6 は正常組織では胎生初期の一部の上皮細胞でのみ発現し、生後は正常組織で発現がみられず、また細胞表面に存在する分子であることから、抗体療法などの分子標的治療の理想的なターゲットとなり得ると考えられた。

(2)HER2 発現を胃癌切除検体で検討したところ、胎児型胃癌、肝細胞癌、肝臓腺癌、AFP 産生胃癌では、おおむね通常の胃癌の約 2 倍の頻度で HER2 陽性となった。胃癌原発巣とリンパ節転移での HER2 発現の不均一性や HER2 検出法(免疫染色、Dual Color in situ Hybridization 法、デジタル PCR 法によるコピー数解析)の比較を行い、現在理想的な HER2 判定法について検討中である。特に、現行の胃癌における HER2 判定法では、HER2 免

疫染色判定不能例はハーセプチン治療適応外とされるが、これらのうち 3 割程度は実際には Dual Color in situ Hybridization 法にて HER2 の DNA 増幅を来たしていることが判明した。したがって、免疫染色で判定不能例は偽陰性になってしまう可能性があり、Dual Color in situ Hybridization 法や FISH 法で DNA 増幅を確認する必要があると考えられた。

(3)本研究で行った胃癌の臨床病理学的研究の中から、極めて転移を来たしにくい低悪性度の胃癌として腸型超高分化胃癌を見出し、その臨床病理学的特徴を明らかにした。免疫染色で腸型形質(腸型マーカー: CD10, CDX2, MUC2 陽性)を示す群は腸高分化型胃癌の組織型を保ったまま深部に浸潤し、転移を来たさない。一方、混合型形質(腸型+胃型マーカー: MUC5AC, MUC6 陽性)を示す群は非充実型低分化腺癌に脱分化することがあり、深部浸潤やリンパ節転移を来たすことを明らかにした。腸型超高分化型胃癌は、腸高分化型の組織型を維持している限りは極めて緩徐な増殖を示すが、脱分化した場合はより高悪性度の胃癌に変化するため、一般的な未分化型癌と同様の取り扱いが必要であると考えられる。

(4)浸潤性微小乳頭腺癌の成分を示す胃癌は、脈管侵襲を来たしやすく、多変量解析において独立したリンパ節転移陽性の予測マーカーであることを示した。浸潤性微小乳頭腺癌は早期胃癌でも出現することがある組織型であるが、リンパ節転移のリスクが高いことから、内視鏡的治療の適応外とすべき組織型であると考えられた。

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 8 件)

- (1) Ushiku T, Arnason T, Ban S, Hishima T, Shimizu M, Fukayama M, Lauwers GY. Very well-differentiated gastric carcinoma of intestinal type: analysis of diagnostic criteria. *Modern Pathology*. 2013 (in press) 査読: 有
- (2) Ushiku T, Shinozaki-Ushiku A, Maeda D, Morita S, Fukayama M. Distinct expression pattern of claudin-6, a primitive phenotypic tight junction molecule, in germ cell tumours and visceral carcinomas. *Histopathology*. 2012;61(6):1043-56. doi:

- 10.1111/j.1365-2559.2012.04314.x. 査読：有
- (3) Abe H, Maeda D, Hino R, Otake Y, Isogai M, Ushiku AS, Matsusaka K, Kunita A, Ushiku T, Uozaki H, Tateishi Y, Hishima T, Iwasaki Y, Ishikawa S, Fukayama M. ARID1A expression loss in gastric cancer: pathway-dependent roles with and without Epstein-Barr virus infection and microsatellite instability. *Virchows Arch.* 2012;461(4):367-77. doi: 10.1007/s00428-012-1303-2. 査読：有
- (4) Sun M, Uozaki H, Hino R, Kunita A, Shinozaki A, Ushiku T, Hibiya T, Takeshita K, Isogai M, Takada K, Fukayama M. SOX9 expression and its methylation status in gastric cancer. *Virchows Arch.* 2012;460(3):271-279. doi: 10.1007/s00428-012-1201-7. 査読：有
- (5) Ushiku T, Matsusaka K, Iwasaki Y, Tateishi Y, Funata N, Seto Y, Fukayama M. Gastric carcinoma with invasive micropapillary pattern and its association with node metastasis. *Histopathology.* 2011;59(6):1081-089. doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.04055.x. 査読：有
- (6) Matsusaka K, Kaneda A, Nagae G, Ushiku T, Kikuchi Y, Hino R, Uozaki H, Seto Y, Takada K, Aburatani H, Fukayama M. Classification of Epstein-Barr virus positive gastric cancers by definition of DNA methylation Epigenotypes. *Cancer Res.* 2011;71(23):7187-7197. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1349. 査読：有
- (7) Fukayama M, Ushiku T. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Pathol Res Pract.* 2011;207(9):529-37. doi: 10.1016/j.prp.2011.07.004. 査読：無
- (8) 牛久哲男、深山正久 専門医のためのアトラス EBV関連胃癌. 胃癌perspective 2011, 4(4):260-264. 査読：無
- [学会発表] (計7件)
- (1) Ushiku T. Very well differentiated gastric cancer of intestinal metaplasia-type: a systemic analysis. The United States & Canadian Academy of Pathology's 102nd Annual Meeting. 2013年3月5日、Baltimore, USA.
- (2) Ushiku T. Focally enhanced gastritis in pediatric inflammatory bowel disease: patterns, associations and significance. The United States & Canadian Academy of Pathology's 102nd Annual Meeting. 2013年3月4日、Baltimore, USA.
- (3) 松坂恵介 新規手法を用いた胃癌におけるHER2 遺伝子増幅の検討 日本病理学会総会、2012年4月26日、東京
- (4) 金子伸行 胃癌リンパ節転移巣におけるHER2 発現不均一性の検討 日本病理学会総会、2012年4月26日、東京
- (5) 阿部浩幸 Epstein-Barr virus関連胃癌及び非関連胃癌におけるARID1A発現消失の臨床病理学的検討 日本病理学会総会、2012年4月26日、東京
- (6) 阿部浩幸 Epstein-Barr virus関連胃癌及び非関連胃癌におけるARID1A発現消失の臨床病理学的検討
- (7) 松坂恵介 EBV陽性胃癌におけるDNAメチル化の網羅的解析 第9回EBウイルス研究会2012年7月6日米子
- [図書] (計1件)
- 牛久哲男、深山正久 上皮性悪性腫瘍、その他. 病理診断プラクティス上部消化管 中山書店 2012, p236-240.
- [その他]
ホームページ等
東京大学医学系研究科 人体病理学・病理診断学ホームページ：
<http://pathol.umin.ac.jp/index.shtml>
6. 研究組織

(1)研究代表者

牛久 哲男 (USHIKU TETSUO)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60376415