

## 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 27 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23791526

研究課題名（和文）胃癌における CFL1 発現の臨床病理学的意義とその分子機構の解析

研究課題名（英文）Clinicopathological significance of CFL1 expression in gastric cancer and analysis of its molecular mechanism

研究代表者

角田 茂 (TSUNODA SHIGERU)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：60597300

研究成果の概要（和文）：胃癌患者における血清 CFL1 値は有意に非担癌患者コントロールに比し有意な上昇を認めたが、深達度や組織型、病期などの臨床病理学的因子との相関は見られなかった。免疫組織染色による検討では、いずれの標本においても、癌部は抗 CFL1 抗体による染色が見られた。染色強度と臨床病理学的因子との有意な相関はなく、全生存率や無再発生存率との相関も見られなかった。胃癌患者血清中での CFL1 値の上昇に寄与する機序については現時点で明らかでなく、今後のさらなる検討を要すると考えられた。

研究成果の概要（英文）：Serum CFL1 was significantly higher in gastric cancer patients compared to control patients who had no malignant disease, but there was no correlation to clinicopathological factors such as the depth of tumor, type of histopathology and stage. Immunohistochemical analysis was performed to evaluate CFL1 protein expression in 78 cases that had undergone gastrectomy for gastric cancer. Positive immunostaining was observed in all cancerous tissue. However, there was no correlation between the intensity of immunostaining and clinicopathological factors. There was no correlation to overall survival and relapse free survival, either. The mechanism of elevated serum CFL1 in gastric cancer patients was undetermined so far, and further evaluation is awaited.

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	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

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：胃十二指腸外科学

## 1. 研究開始当初の背景

胃癌は依然日本における癌罹患数の第1位を占めており、進行胃癌の治療成績は

満足いくものではない。一方で早期胃癌の5年生存率はほぼ90%で早期発見が可能になればその恩恵が非常に大きな癌であるといえる。われわれは、これまでに東レ株式会社と

の共同研究により胃癌患者血清中のスクリーニングでマーカー候補タンパクとして CFL1 (Cofilin 1) を同定し、ELISA による高精度測定法を開発した。胃癌患者からの 68 検体のうち 51 検体で健常人正常コントロール 20 検体の最高値を上回り、有意に上昇していた (P<0.0001) (未発表データ)。胃癌患者の血清中では高頻度で CFL1 の上昇がみられ、従来の腫瘍マーカーである CEA や CA19-9 などと比べ鋭敏で感度が高い可能性があり、早期がんの拾い上げなど、早期の臨床への応用が期待される。

CFL1 はアクチン線維の脱重合および切断反応を促進するアクチンリモデリングタンパクで、柔軟で速やかな細胞形態の変換において重要な役割を果たしている。そのため、細胞の移動能や転移、浸潤能との関連が示唆されており、乳癌や食道癌ではその発現が報告されており、肺非小細胞癌では予後不良因子としても報告されている。胃癌をはじめとする他の消化器癌においてもその悪性化などに関与している可能性が考えられる。

CFL1 の血液中への分泌に関する研究報告はこれまでにないことに加え、発癌、癌の進展、転移といった各過程における CFL1 分子の働きに関しては依然不明な点が多く、本研究において臨床病理学的な検討と分子生物学的な解析を行うことで、新たなブレイクスルーが期待される。

## 2. 研究の目的

本研究ではアクチンリモデリングタンパクである CFL1 の、胃癌における発癌および転移・進展過程における意義とそのメカニズムを明らかにすることを目的とし、臨床サンプルと臨床病理学的なデータの検討など臨床面主体の研究とともに、胃癌細胞株を用いた分子生物学的手法による、細胞増殖や浸潤能な CFL1 分子の胃癌における悪性化、浸潤、転移過程などへの関与、治療ターゲットとしての可能性を検索することを目標とする。

## 3. 研究の方法

### (1) 血清中の CFL1 上昇の意義についての解析

東レ株式会社との共同研究により確立された ELISA 法による CFL1 の高精度測定系を用いて、胃癌患者における血清 CFL1 の上昇の、臨床的病勢、深達度やリンパ節転移の有無、組織型などの臨床病理学的因子との関連の有無、手術や化学療法後の治療効果判定ツ

ルとしての可能性についてを検討する。

(2) 前向き研究として胃癌手術予定患者の術前 CFL1 値が予後予測因子としてであるかについての検討を行うことも計画していたが、病勢と血清 CFL1 値に相関が見られなかったため断念した。

### (3) 胃および胃癌組織における CFL1 発現についての解析

手術標本のパラフィン切片を用いて、CFL1 発現の有無およびその臨床病理学的因子との比較検討を行い、胃癌における CFL1 分子の胃癌の悪性化、浸潤、転移過程などへの関与を研究する。

(4) 胃癌細胞株を用いて、CFL1 の発現のスクリーニングを RT-PCR、ウエスタンブロットなどにより行い、強発現株を用いて siRNA を用いて knock-down を行い、細胞増殖や浸潤能などに関する発現型の変化を観察し、CFL1 分子の胃癌における悪性化、浸潤、転移過程などへの関与、治療ターゲットとしての可能性を検索することを計画していたが、(1)～(3)の実験で CFL1 と胃癌の悪性度との明らかな相関を示せなかったため、細胞株を用いた実験は断念した。

## 4. 研究成果

### (1) 血清中の CFL1 上昇の意義についての解析

胃癌治療前の 67 症例で、血清中 CFL1 の値と臨床的病勢、深達度やリンパ節転移の有無、組織型などの臨床病理学的因子との関連の有無をみたものが下記表 1 である。女性で男性に比し、血清 CFL1 は高い傾向が見られたが、有意な差は見られなかった。

表 1: 血中 CFL1 値と臨床病理学的因子 (n = 67)

		症例数	血清 CFL-1	P value*
年齢				0.1109
	66<	32	157.3	
	≥66	35	96.4	
性別				0.0532
	男	35	119.1	
	女	32	157.3	

臨床病期			0.9618
	I	27	120
	II	14	91.8
	III	13	130
	IV	13	160
T			0.5794
	T1	21	120
	≥T2	46	127.7
N			0.8885
	-	32	119.5
	+	28	134.5
	不明	7	150
M			0.7693
	-	54	119.5
	+	13	160
Lauren 分類			0.5575
	Intestinal	35	100.9
	Diffuse	27	171.8
	Mixed	5	164.5

\* Wilcoxon test

## (2) 胃癌組織における CFL1 発現について

抗 CFL1 抗体を用いて、パラフィン切片を用いて、免疫組織染色を施行した。胃癌組織は、全例 CFL1 陽性であった。また、正常胃における再生胃粘膜や平滑筋などにおいても CFL1 発現が認められた。当院にて胃癌に対して胃切除術を施行された 67 症例で、CFL1 発現強度と臨床的病勢、深達度やリンパ節転移の有無、組織型などの臨床病理学的因子との関連の有無をみたものが下記表 2 である。組織中での CFL1 発現と静脈侵襲 (v 因子) は逆相関がみられたが、他の因子とは有意な相関は認めなかった。CFL1 発現強度と、全生存率 (OS) および無再発生存率 (RFS) との関係も検討したが、有意差は見られなかった。(OS: p=0.3867、RFS: p=0.8135)

表 2: CFL1 発現と臨床病理学的因子 (n = 79)

	CFL1 High n (%)	CFL1 Low n (%)	P value
年齢	67.8	67.2	0.7679*
性別			0.0957**
M	22 (43.1)	29 (56.9)	
F	17 (63.0)	10 (37.0)	
Lauren 分類			0.7569**
Intestinal	17 (48.6)	18 (51.4)	
Mixed	5 (62.5)	3 (37.5)	
Diffuse	17 (48.6)	18 (51.4)	
T			0.0764**
T1	7 (77.8)	2 (22.2)	
T2 以上	32 (46.4)	37 (53.6)	
N			0.6237**
-	11 (45.8)	13 (54.2)	
+	28 (51.9)	26 (48.2)	
TNM stage			0.4876**
II 以下	25 (53.2)	22 (46.8)	
III 以上	14 (45.2)	17 (54.8)	
ly			0.8119**
-	13 (48.2)	14 (51.9)	
+	26 (51.0)	25 (49.0)	
v			0.0405**
-	22 (62.9)	13 (37.1)	
+	17 (39.5)	26 (60.5)	
再発			1**
-	27 (50)	27 (50)	
+	12 (50)	12 (50)	

\* t-test

\*\* chi-square test

## まとめ

血清中における CFL1 は胃癌患者において、正常コントロールに比し、有意な上昇を認めるが、胃癌進行度や悪性度との相関は認めら

れなかった。

また、胃癌切除組織中の CFL1 発現は免疫組織染色では全例に認められたが、その強度は胃癌進行度や悪性度などとの相関はみとめられなかった。早期胃癌でも発現を認めることより、胃癌患者のスクリーニングのマーカールとしては有望な可能性があり、発癌に関連する分子である可能性が示唆されるが、その機序に関しては今後の研究課題である。

#### 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)

①Okabe H, Obama K, Tsunoda S, Tanaka E, Sakai Y, Advantage of Completely Laparoscopic Gastrectomy With Linear Stapled Reconstruction: A Long-term Follow-up Study, Ann Surg. 2013 Apr 1, 査読有

DOI: 10.1097/SLA.0b013e31828dfa5d

②Tsunoda S, Okabe H, Obama K, Tanaka E, Akagami M, Kinjo Y, Sakai Y, Laparoscopic gastrectomy for patients with a history of upper abdominal surgery: results of a matched-pair analysis, Surg Today. 2013 Mar 6, 査読有

DOI:10.1007/s00595-013-0533-5

③Okabe H, Obama K, Tanaka E, Tsunoda S, Akagami M, Sakai Y, Laparoscopic proximal gastrectomy with a hand-sewn esophago-gastric anastomosis using a knifeless endoscopic linear stapler, Gastric Cancer. 2013 Apr;16(2):268-74, 査読有

DOI:10.1007/s10120-012-0181-2

④Kinjo Y, Okabe H, Obama K, Tsunoda S, Tanaka E, Sakai Y, Elevation of liver function tests after laparoscopic gastrectomy using a Nathanson liver retractor, World J Surg. 2011 Dec;35(12):2730-8, 査読有

DOI:10.1007/s00268-011-1301-6

[学会発表] (計 0 件)

[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 (計 0 件)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

角田 茂 (TSUNODA SHIGERU)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号: 60597300

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

なし