

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591951

研究課題名(和文)消化管がんの増殖・進展におけるリンパ管新生因子の役割

研究課題名(英文)Analysis of the role of lymphatic growth factors in gastrointestinal tract cancer

研究代表者

白石 憲男 (SHIRAIISHI, Norio)

大分大学・医学部・教授

研究者番号：20271132

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト胃癌切除標本におけるレクチンの発現プロファイリングを網羅的に行い胃癌根治切除後の再発予測因子となるレクチンの同定を行った。胃癌切除標本の癌組織では正常組織と比較して13種のレクチンのレクチンシグナル強度が有意に上昇し、11種のレクチンのレクチンシグナル強度が有意に低下した。また、単変量解析にて *Bauhinia purpurea* lectin(以下、BPL)、*Euonymus europaeus* lectin、*Griffonia simplicifoli* が再発と関連する因子であった。さらに多変量解析の結果、リンパ節転移および BPL は再発に関連する独立因子であった。

研究成果の概要(英文)：We created lectin expression profiles by micro-array analysis for 60 patients, who underwent surgery for gastric cancer at the Oita University Hospital between January, 2005 and December, 2007. Lectin expression and clinicopathological factors in patients who suffered gastric cancer recurrence and those who did not were compared by univariate and multivariate analyses. Our results using a novel lectin microarray system provide the first solid evidence that BPL expression is a predictor of gastric cancer recurrence.

研究分野：医歯薬学

キーワード：リンパ節転移 術後再発 遠隔転移 糖鎖 分子生物学的解析

1. 研究開始当初の背景

消化管がんの重要な予後因子はリンパ節転移と遠隔転移である。リンパ節転移は比較的早期から高頻度に発生する。近年癌幹細胞のがんの進展・転移にかかわる役割が注目され、治療抵抗性、遠隔転移(上皮間質転換、間質上皮転換)に重要な働きをもつと報告されている。我々が注目するリンパ節転移・リンパ管侵襲は、遠隔転移をおこす前段階の比較的早期のがん進展に関連し、この機序および臨床的意義の解明を明らかにする。

2. 研究の目的

本研究では予後因子であるリンパ節転移や遠隔転移とリンパ管新生との関連を分子生物学的手法、免疫組織学的手法、網羅的遺伝子解析(マイクロアレイ)、同定された遺伝子の機能解析、および電子顕微鏡を用いた形態学的手法を用いて解明し、その臨床的意義を明らかにする。

3. 研究の方法

I. 大腸がん手術摘出標本の凍結切片を、マイクロアレイを用いて transcriptome 解析を行う。病理学的リンパ節転移の有無、リンパ管侵襲の有無で sorting し、リンパ管新生関連遺伝子を同定し、mRNA レベル、タンパクレベルで検証し、さらに機能解析を行う。

・ 胃がん・大腸がん組織およびリンパ節転移巣におけるリンパ管新生因子の発現に関する検討(外科的切除標本を用いた検討)を行う。

・ 大腸がんの肝転移巣ならびに胃がん腹膜転移巣におけるリンパ管新生因子の発現に関する検討(外科的切除標本を用いた検討)を行う。

・ リンパ管新生因子発現に影響を及ぼす因子の同定(培養細胞を用いた in vitro 実験)を行う。

4. 研究成果

本研究の目的は、リンパ節転移やリンパ管侵襲の発生機序を解明し、その臨床的意義を明らかにすることである。すなわち、3年の研究期間に、癌の予後因子であるリンパ節転移の機序や再発・遠隔転移の有無とリンパ管新生との関連を分子生物学的手法、免疫組織学的手法、網羅的遺伝子解析、および電子顕微鏡を用いた形態学的手法を用いて解明する。3年目は1年目および2年目の研究に引き続き胃癌細胞における糖鎖に着目し、再発・リンパ節転移・リンパ管侵襲や遠隔転移に関連する糖鎖研究を行った。

60例の手術標本である胃癌組織および非癌部組織を使用した。組織より抽出した膜タンパク質を BCA 法にてタンパク質量し、cy3 で蛍光標識した。糖鎖を認識するレクチンを固層化したレクチンアレイ(GP BioSCIENCES)を使用して糖鎖プロファイリングを解析した。腫瘍部/非癌部のシグナル比を算出し、臨床病理学的因子との関連を検討した。【結果】再発症例(19例)は、陰性症例(41例)に比べ、有意にレクチン UEA₁, AOL, AAL, BPL, EEL のシグナル上昇、及び LCA, MAL₁, SNA, TJA-1 のシグナル低下を認めた。この60例の臨床病理学的因子をもとに再発に関連する因子の解析を行った。結果は、リンパ節転移の有無、BPL シグナルレベルが再発規定因子であった。BPL が high level は low と比べ relative risk が 5.310 (1.086-25.957) であった。

胃癌のリンパ節転移を含む再発の有無に有意に相関するレクチンを同定した。このうち BPL レベルは、再発に有意に相関することがわかった。本研究成果は 2015 年 Surgery Today に報告した。本研究の最終目的であるリンパ節転移の機序や再発・遠隔転移の有無とリンパ管新生との関連を分子生物学的手法、免疫組織学的手法、網羅的遺伝子解析、および電子顕微鏡を用いた形態学的手法を用い

て解明はまだ最終解析までにはいたっていない。最終年をこえても引き続き本研究を行い、リンパ節転移やリンパ管侵襲の発生機序の解明をめざす予定である。

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 3 件)

Visinin-like protein-1 overexpression is an indicator of lymph node metastasis and poor prognosis in colorectal cancer patients. Akagi T, Hijiya N, Inomata M, Shiraishi N, Moriyama M, Kitano S. Int J cancer. 2012;131(6):1307-1317 査読有

Decreased expression of *Bauhinia purpurea* lectin is a predictor of gastric cancer recurrence. T.Futsukaichi, N.Shiraishi, et al. Surg Today. 2015 Mar 11. [Epub ahead of print] PMID:25753302 査読有

Establishment of new predictive markers for distant recurrence of colorectal cancer using lectin microarray analysis. Nakajima K, N.Shiraishi, et al Cancer Med. 2015 Feb;4(2):293-302. 査読有

[学会発表](計 6 件)

中嶋健太郎、平塚孝宏、二日市琢良、杉田諭、草野徹、赤木智徳、柴田智隆、上田貴威、當寺ヶ盛学、白下英史、衛藤剛、猪股雅史、野口剛、白石憲男、北野正剛 高感度レクチンアレイを用いた大腸癌の糖鎖プロファイリング 新しい再発予測マーカーの確立 第19回大分GUT-Science 2012/7/11 レンブラントホテル(大分県大分市)

中嶋健太郎、二日市琢良、藤永真希、猪股雅史、平塚孝宏、杉田諭、草野徹、赤木智徳、柴田智隆、白下英史、衛藤剛、伊波英克、上田貴威、野口剛、白石憲男、萩原聡、野口隆

之、北野正剛 高感度レクチンアレイを用いた大腸癌の糖鎖プロファイリング 移転、再発に関するレクチンの同定 第3回癌・炎症と リポ酸研究会 2012/11/9-10 ゆふいん山水館(大分県由布市)

赤木智徳、猪股雅史、衛藤剛、野口剛、白石憲男、北野正剛 大腸がん患者におけるリンパ節転移および予後不良の指標としての Visinin-like protein-1 (VSNL-1)発現の有用性 第23回日本消化器癌発生学会 2012/11/15-16 ルネッサンスリゾートナルト(徳島県鳴門市)

中嶋健太郎、猪股雅史、平塚孝宏、二日市琢良、杉田諭、赤木智徳、上田貴威、白下英史、衛藤剛、野口剛、白石憲男、北野正剛 高感度レクチンアレイを用いた大腸癌の糖鎖プロファイリング 転移、再発に関するレクチンの同定 第113回日本外科学会定期学術集会 2013/4/11-13 福岡国際会議場(福岡県福岡市)

中嶋健太郎、平塚孝宏、二日市琢良、圓福真一郎、杉田諭、草野徹、赤木智徳、柴田智隆、上田貴威、當寺ヶ盛学、白下英史、衛藤剛、猪股雅史、野口剛、白石憲男、北野正剛 高感度レクチンアレイを用いた大腸癌の糖鎖プロファイリング 新しい再発予測マーカーの確立 第18回癌と遺伝子・大分外科フォーラム 2013/6/4 レンブラントホテル大分(大分県大分市)

二日市琢良、衛藤剛、中嶋健太郎、一万田充洋、圓福真一郎、平塚孝宏、赤木智徳、柴田智隆、上田貴威、當寺ヶ盛学、白下英史、野口剛、白石憲男、北野正剛、猪股雅史 レクチンマイクロアレイを用いた胃癌再発予測因子レクチンBPLの同定 第115回日本外科学会定期学術集会 2015/04/18 名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)

[図書](計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

白石 憲男 (SHIRAISHI, Norio)

大分大学・医学部・教授

研究者番号： 20271132

(2)研究分担者

猪股 雅史 (INOMATA, Masafumi)

大分大学・医学部・教授

研究者番号： 60315330

衛藤 剛 (ETOH, Tsuyoshi)

大分大学・医学部・講師

研究者番号： 00404369

赤木 智徳 (AKAGI, Tomonori)

大分大学・医学部・助教

研究者番号： 80572007

平塚 孝宏 (HIRATSUKA, Takahiro)

大分大学・医学部・病院特任助教

研究者番号： 20600886

北野 正剛 (KITANO, Seigo)

大分大学・法人本部・学長

研究者番号： 90169871

(3)連携研究者

()

研究者番号：