

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460381

研究課題名(和文)「胃分化」の分子基盤解析に基づく胃発癌ならびに胃癌組織型決定機構の解明

研究課題名(英文) Elucidating mechanisms of tumor development and histological typing of gastric cancer based on the analysis of molecular mechanism of gastric differentiation

研究代表者

山道 信毅 (Yamamichi, Nobutake)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30463897

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：新たな胃分化マーカーとして、Cathepsin Eを同定し、これが胃印環細胞癌マーカーとして病理組織学的評価に有用であることを発見・報告した(PLoS ONE 8:e56766, 2013)。また、胃分化マーカーMUC5ACに注目し、その発現が胃癌進展に伴って低下すること、同遺伝子の翻訳開始点上流125～110bpにGli結合配列を含む高度保存領域が存在すること、over expression・knock down・クロマチン免疫沈降などの分子生物学的解析によってGliがこの領域に動員され、発現に必須の転写因子として機能することを報告した(PLoS ONE 9:e106106, 2014)。

研究成果の概要(英文)：We identified Cathepsin E (CTSE) as a new gastric marker, and also as an useful marker for signet-ring cell carcinoma of stomach. We also found the conserved upstream 15 bp sequence of MUC5AC plays a critical role on MUC5AC expression via the recruitment of Gli transcription factor to this region.

研究分野：分子腫瘍学

キーワード：消化管分化 胃癌 胃分化 腸上皮化生

1. 研究開始当初の背景

胃癌の大半が「胃への分化」と「腸への分化」が不安定化した「腸上皮化生粘膜」を背景に生じる。「腸への分化」の機序がかなり解明されているのに比べ、「胃への分化」の解明は大きく遅れている。

2. 研究の目的

胃分化マーカー遺伝子に着目し、その同定、ならびに、その発現制御解明を目指す。それを端緒に「分化」という観点から、胃癌発症機構、さらに、背景胃粘膜と癌部との相互作用の解明を目指すことが、最終目標である。

3. 研究の方法

分化型・未分化型胃癌で発現の違いが報告されているマーカー候補遺伝子について胃癌細胞由来 30 株での発現解析を行ない、胃分化マーカー候補遺伝子を絞り込んだ後、臨床胃癌検体を用いた発現解析を行なう。さらに、ルシフェラーゼプロモーター解析、ウイルスベクターを用いた over expression・knock down、クロマチン免疫沈降法などの分子生物学的解析を組み合わせて、同定された胃分化マーカー遺伝子の発現制御を明らかにする。

4. 研究成果

新たな胃分化マーカーとして、アスパラギン酸プロテアーゼの一種である Cathepsin E (CTSE) を同定し、1) CTSE は、その発現は胃マーカーMUC5AC と正に相関、腸マーカーMUC2 と負に相関する優れた胃型分化マーカーであること、2) 同時に極めて優れた胃印環細胞癌のマーカーであり、病理組織学的評価において有用であることを発見し、報告した (PLoS ONE 8:e56766, 2013)。

また、代表的な胃型マーカーである MUC5AC のプロモーター領域を詳細に調べ、a) 13 種類の哺乳類の上流塩基配列の比較で、翻訳開始点上流 200bp 以内が高度に保存されていること、b) MUC5AC 遺伝子上流の諸欠失変異を用いたルシフェラーゼプロモーターアッセイの結果、翻訳開始点上流 125~110 bp が MUC5AC の発現に必須であること、c) この 15bp の領域には Gli 結合配列が含まれ、クロマチン免疫沈降実験によって Gli がこの領域に動員されること、d) 胃癌・大腸癌細胞株に Gli1・Gli2 を強制発現させると MUC5AC の発現誘導が認められ、逆に Gli1・Gli2 を knockdown すると MUC5AC の発現低下が認められること、を発見・報告した (PLoS ONE 9:e106106, 2014)。

現在は、胃分化を決定づける分子基盤や消化管癌化との関連についての解明をさらに進めるとともに、消化管分化の調節・制御によって胃癌の悪性形質を抑制する可能性を追求する研究を継続している。

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 26 件)

1) Niimi K, Aikou S, Kodashima S, Yagi K, Oya S, Yamaguchi D, Yamashita H, Yamamichi N, Fujishiro M, Koike K, et al: Video of the Month. Am J Gastroenterol 2015, 110(11):1535. [Epub ahead of print]

2) Yamamichi N, Hirano C, Ichinose M, et al: Atrophic gastritis and enlarged gastric folds diagnosed by double-contrast upper gastrointestinal barium X-ray radiography are useful to predict future gastric cancer development based on the 3-year prospective observation. Gastric Cancer 2015. [Epub ahead of print]

3) Ono S, Sakaguchi Y, Tsuji Y, Kodashima S, Yamamichi N, Fujishiro M, Koike K: Foam plompage: a novel technique for optimal fixation of polyglycolic acid sheets positioned using "clip and pull" after esophageal endoscopic submucosal dissection. Endoscopy 2015, 47 Suppl 1 UCTN:E435-436.

4) Mori G, Nakajima T, Asada K, Shimazu T, Yamamichi N, Maekita T, Yokoi C, Fujishiro M, Gotoda T, Ichinose M et al: Incidence of and risk factors for metachronous gastric cancer after endoscopic resection and successful Helicobacter pylori eradication: results of a large-scale, multicenter cohort study in Japan. Gastric Cancer 2015. [Epub ahead of print]

5) Kataoka Y, Tsuji Y, Sakaguchi Y, Kodashima S, Yamamichi N, Fujishiro M, Koike K: Preventing esophageal stricture after endoscopic submucosal dissection: steroid injection and shielding with polyglycolic acid sheets and fibrin glue. Endoscopy 2015, 47 Suppl 1:E473-474.

6) Yamamichi N, Shimamoto T, Takahashi Y, et al: Trend and risk factors of diverticulosis in Japan: age, gender, and lifestyle/metabolic-related factors may cooperatively affect on the colorectal diverticula formation. PLoS One 2015, 10(4):e0123688.

7) Yamamichi N, Hirano C, Takahashi Y, et al: Comparative analysis of upper gastrointestinal endoscopy, double-contrast upper gastrointestinal barium X-ray radiography, and the titer of serum

anti-Helicobacter pylori IgG focusing on the diagnosis of atrophic gastritis. *Gastric Cancer* 2015. [Epub ahead of print]

8) Okushin K, Takahashi Y, Yamamichi N, et al: Helicobacter pylori infection is not associated with fatty liver disease including non-alcoholic fatty liver disease: a large-scale cross-sectional study in Japan. *BMC Gastroenterol* 2015, 15:25.

9) Mochizuki S, Uedo N, Oda I, Kaneko K, Yamamoto Y, Yamashina T, Suzuki H, Kodashima S, Yano T, Yamamichi N, et al: Scheduled second-look endoscopy is not recommended after endoscopic submucosal dissection for gastric neoplasms (the SAFE trial): a multicentre prospective randomised controlled non-inferiority trial. *Gut* 2015, 64(3):397-405.

10) Asada K, Nakajima T, Shimazu T, Yamamichi N, Maekita T, et al: Demonstration of the usefulness of epigenetic cancer risk prediction by a multicentre prospective cohort study. *Gut* 2015, 64(3):388-396.

11) Yamamichi N, Shimamoto T, Sakaguchi Y, et al: Categorization of upper gastrointestinal symptoms is useful in predicting background factors and studying effects and usages of digestive drugs. *PLoS One* 2014, 9(2):e88277.

12) Yamamichi N, Hirano C, Shimamoto T, et al: Associated factors of atrophic gastritis diagnosed by double-contrast upper gastrointestinal barium X-ray radiography: a cross-sectional study analyzing 6,901 healthy subjects in Japan. *PLoS One* 2014, 9(10):e111359.

13) Tsuji Y, Ohata K, Gunji T, Shozushima M, Hamanaka J, Ohno A, Ito T, Yamamichi N, Fujishiro M, et al: Endoscopic tissue shielding method with polyglycolic acid sheets and fibrin glue to cover wounds after colorectal endoscopic submucosal dissection (with video). *Gastrointest Endosc* 2014, 79(1):151-155.

14) Tsuji Y, Gunji T, Sato H, Ono A, Ito T, Ohata K, Yamamichi N, Fujishiro M, Matsushashi N, Koike K: Antithrombotic drug does not affect the positive predictive value of an immunochemical fecal occult blood test. *Dig Endosc* 2014, 26(3):424-429.

15) Tsuji Y, Fujishiro M, Kodashima S, Ono

S, Niimi K, Mochizuki S, Asada-Hirayama I, Matsuda R, Minatsuki C, Nakayama C, Yamamichi N, et al: Polyglycolic acid sheets and fibrin glue decrease the risk of bleeding after endoscopic submucosal dissection of gastric neoplasms (with video). *Gastrointest Endosc* 2014.

16) Tsuji Y, Fujishiro M, Kodashima S, Niimi K, Ono S, Yamamichi N, Koike K: Desirable training of endoscopic submucosal dissection: further spread worldwide. *Ann Transl Med* 2014, 2(3):27.

17) Takahashi Y, Yamamichi N, Shimamoto T, et al: Helicobacter pylori infection is positively associated with gallstones: a large-scale cross-sectional study in Japan. *J Gastroenterol* 2014, 49(5):882-889.

18) Ono S, Tsuji Y, Fujishiro M, Kodashima S, Yamamichi N, Koike K: An effective technique for delivery of polyglycolic acid sheet after endoscopic submucosal dissection of the esophagus: the clip and pull method. *Endoscopy* 2014, 46 Suppl 1 UCTN:E44-45.

19) Kageyama-Yahara N, Yamamichi N, Takahashi Y, et al: Gli regulates MUC5AC transcription in human gastrointestinal cells. *PLoS One* 2014, 9(8):e106106.

20) Shimamoto T, Yamamichi N, Kodashima S, Takahashi Y, Fujishiro M, Oka M, Mitsushima T, Koike K: No association of coffee consumption with gastric ulcer, duodenal ulcer, reflux esophagitis, and non-erosive reflux disease: a cross-sectional study of 8,013 healthy subjects in Japan. *PLoS One* 2013, 8(6):e65996.

21) Sakaguchi Y, Ono S, Fujishiro M, Yamamichi N, Koike K: Invasion of poorly differentiated adenocarcinoma to the deep muscularis mucosae may be an indicator of lymph node metastasis in Barrett's esophageal cancer. *Dig Endosc* 2013, 25 Suppl 2:168-172.

22) Minatsuki C, Yamamichi N, Shimamoto T, et al: Background factors of reflux esophagitis and non-erosive reflux disease: a cross-sectional study of 10,837 subjects in Japan. *PLoS One* 2013, 8(7):e69891.

23) Konno-Shimizu M, Yamamichi N,

Inada K, et al: Cathepsin E is a marker of gastric differentiation and signet-ring cell carcinoma of stomach: a novel suggestion on gastric tumorigenesis. PLoS One 2013, 8(2):e56766.

24) Inoue I, Kato J, Yoshimura N, Maeda Y, Moribata K, Shingaki N, Deguchi H, Enomoto S, Maekita T, Ueda K, Yamamichi N, et al: Elevated risk of recurrent colorectal neoplasia with -associated chronic atrophic gastritis: A follow-up study of patients with endoscopically resected colorectal neoplasia. Mol Clin Oncol 2013, 1(1):75-82.

25) Asada-Hirayama I, Ono S, Kodashima S, Niimi K, Mochizuki S, Yamamichi N, Fujishiro M, Matsusaka K, Fukayama M, Koike K: Preoperative iodine staining may complicate the demarcation of esophageal carcinoma. Gut Liver 2013, 7(4):492-496.

26) Asada-Hirayama I, Kodashima S, Goto O, Yamamichi N, Ono S, et al: Factors predictive of inaccurate determination of horizontal extent of intestinal-type early gastric cancers during endoscopic submucosal dissection: A retrospective analysis. Dig Endosc 2013, 25(6):593-600.

〔学会発表〕(計3件)

1. 山道信毅、光島徹、等：JDDW2014 シンポジウム（2014年10月23日、神戸）
2. 山道信毅、高橋悠、等：第101回日本消化器病学会総会 プレナリーセッション（2015年4月24日、仙台）
3. 山道信毅、一瀬雅夫、等：JDDW2015 デジタルポスター（2015年10月8日、横浜）

〔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

<http://www.todai-shoukakan.com/cont5/main.html>

<http://www.todai-shoukakan.com/cont5/33.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山道 信毅 (YAMAMICHI, Nobutake)
東京大学医学部・医学部附属病院・助教
研究者番号：30463897

(2) 研究分担者
なし

(3) 連携研究者

稲田 健一 (INADA, Kenichi)
藤田保健衛生大学・医学部・教授
研究者番号：70246081