

平成 21 年 6 月 10 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19590730

研究課題名（和文）RUNX3 の変化からみたヘリコバクター・ピロリ除菌前後の胃発癌のリスク

研究課題名（英文）Risk analysis for gastric cancer before and after *Helicobacter pylori* eradication therapy by way of change in RUNX3 expression

研究代表者

小西 英幸（KONISHI HIDEYUKI）

京都府立医科大学・医学研究科・助教

研究者番号：30295670

研究成果の概要：

H. pylori 除菌前後の胃粘膜のRUNX3発現を免疫染色で検討すると、除菌後短期間の観察では改善しなかったが、除菌後長期間では改善した。Methylation specific PCRでRUNX3の発現を評価すると、除菌後短期間の観察でも回復を示す症例があり、疾患別の差が推察された。疾患別にRUNX3の発現回復の程度を検討すると、胃癌既往群（早期胃癌内視鏡的治療術後）は良性潰瘍群に比べて回復し難く、また潰瘍群の中でも十二指腸潰瘍群で胃潰瘍群に比べ回復しやすかった。これらの結果から、除菌後のRUNX3の回復は胃癌発癌リスクのバイオマーカーになることが予測された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：RUNX3、*Helicobacter pylori*、除菌療法、胃癌

1. 研究開始当初の背景

H. pylori の除菌により胃発癌が予防可能かには、これまでいくつかの介入試験が報告されているが、未だ結論をみるにいたっていない。我々は、新規癌抑制遺伝子であるRUNX3に注目し、胃癌発症とのかかわりを明らかにし、このRUNX3の発現低下が前癌病変の指標となることを示し、除菌療法後長期経過観察症例において、RUNX3免疫染色やメチル化の回復することを証明した。

2. 研究の目的

今回の研究の目的は、*H. pylori* 除菌前後の胃粘膜のRUNX3発現を検討し、どのような症例が*H. pylori* 除菌療法の恩恵を受けるか、また除菌療法の至適タイミングを明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) *H. pylori* 関連慢性胃炎患者からの試料採取

H. pylori 関連慢性胃炎患者から

Informed Consent を取得し、試料を採取する。研究試料は、患者より内視鏡検査および治療時に採取した胃粘膜を使用する。*H. pylori* 除菌前と除菌後にそれぞれ胃前庭部と胃体部から胃粘膜を採取して、凍結保存およびホルマリン固定し、組織標本を作製する。

(2)病理組織学的検討

H. pylori 除菌前後の病理組織学的変化をUpdated Sydney systemを用いて、比較・検討する。また、RUNX3蛋白の発現を免疫組織学的に比較・検討する。抗RUNX3抗体は、共同研究者であるシンガポール国立大学がん研究所、伊藤嘉明所長より提供されている。

(3) methylation-specific PCR (MSP)の検討

DNAを凍結切片から抽出キットを用いて抽出し、抽出したDNAを用いて、*RUNX3* の5'CpG islandのメチル化をMSPにて検討する。

4. 研究成果

今回の研究の目的は、*H. pylori* 除菌前後の胃粘膜のRUNX3発現を検討することであった。

H. pylori 除菌後、updated Sydney Systemで評価した胃粘膜の炎症は、既報のごとく著明に改善した。一方、RUNX3の発現は免疫染色の評価では、除菌後短期間の観察で明らかな改善は認めなかったが、除菌後長期間では改善した(図1)。

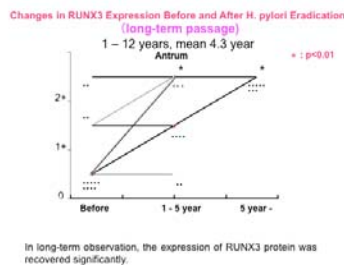
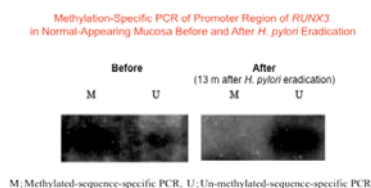


図1. *H. pylori* 除菌前後のRUNX3

同様に、Methylation specific PCR(MSP)でRUNX3の発現を評価すると、除菌後短期間の観察でも回復を示す症例があり、疾患別の差が推察された(図2)。

図2. *H. pylori* 除菌前後のRUNX3発現(MSP)



M: Methylated-sequence-specific PCR, U: Un-methylated-sequence-specific PCR

そこで、疾患別にRUNX3の発現回復の程度を、除菌後短期の観察期間検討すると、胃癌既往群（早期胃癌内視鏡的治療術後）は潰瘍群に比べて回復し難く(図3)、また潰瘍群の中でも十二指腸潰瘍群で胃潰瘍群に比べ回復しやすかった(図4)。

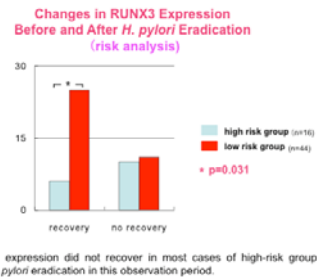


図4. *H. pylori* 除菌前後のRUNX3 (GDU vs post EMR)

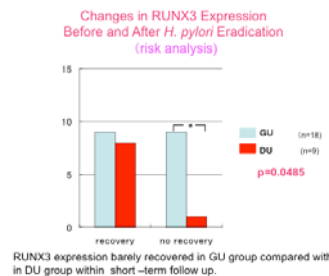


図5. *H. pylori* 除菌前後のRUNX3 (GU vs DU)

これらの結果から、RUNX3の回復を指標にすると、どのような症例が*H. pylori* 除菌療法の恩恵を受けるか、また除菌療法の至適タイミングを明らかにすることが可能になるとともに、胃癌発癌リスクのバイオマーカーになることが予測され、さらなる症例の蓄積と長期観察が必要と考えられる。

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 15 件)

- ① Tachibana S, Konishi H, Motoyoshi T, Sakakura C, Wakabayashi N, Mitsufuji S, Kataoka K. Recovery of RUNX3 Expression in Long-term Follow-Up after *H. Pylori* Eradication Gastroenterology, 136: T1987, 2009, 査読有
- ② 光藤章二、小西英幸、若林直樹. 胃過形成性ポリープに対する*H. pylori* 除菌治療-除菌効果と長期成績-. 消化器科 48: 18-23, 2009, 査読無

- ③ 立花俊治、小西英幸、阪倉長平。除菌治療前後の *H. pylori* 感染胃炎の変化-RUNX3 の発現を中心に-消化器科 48,2009, 査読無
- ④ Tachibana S, Konishi H, Motoyoshi T, Sakakura C, Wakabayashi N, Mitsufuji S, Kataoka K. Recovery of RUNX3 Expression in Long-term Follow-Up after *H. Pylori* Eradication. Gastroenterology, 134: M2004, 2008, 査読有
- ⑤ Shiomi S, Torie A, Imamura S, Konishi H, Mitsufuji S, Iwakura Y, Yamaoka Y, Ota H, Yamamoto T, Imanishi J, Kita M. IL-17 involved Helicobacter pylori-induced Gastric Inflammatory Responses in a Mouse Model. Helicobacter 13: 518-524, 2008, 査読有
- ⑥ Sakakura C, Miyagawa K, Fukuda KI, Nakashima S, Yoshikawa T, Kin S, Nakase Y, Ida H, Yazumi S, Yamagishi H, Okanoue T, Chiba T, Ito K, Hagiwara A, Ito Y. Frequent silencing of RUNX3 in esophageal squamous cell carcinomas is associated with radioresistance and poor prognosis. Oncogene. 26(40):5927-5938, 2007 査読有.
- ⑦ Sakakura C, Hasegawa K, Miyagawa K, Nakashima S, Yoshikawa T, Kin S, Nakase Y, Yazumi S, Yamagishi H, Okanoue T, Chiba T, Hagiwara A. Possible Involvement of RUNX3 Silencing in the Peritoneal Metastases of Gastric Cancers. Clin Cancer Res. 11(18):6479-6488, 2005 査読有.
- ⑧ Sakakura C, Hagiwara A, Miyagawa K, Nakashima S, Yoshikawa T, Kin S, Nakase Y, Ito K, Yamagishi H, Yazumi S, Chiba T, Ito z Frequent downregulation of the runt domain transcription factors RUNX1, RUNX3 and their cofactor CBF β in gastric cancer. Int J Cancer. 113(2): 221-228, 2005 査読有.
- ⑨ Nakase Y, Sakakura C, Miyagawa K, Kin S, Fukuda K, Yanagisawa A, Koide K, Morofuji N, Hosokawa Y, Shimomura K, Katsura K, Hagiwara A, Yamagishi H, Ito K, Ito Y. Frequent loss of RUNX3 gene expression in remnant stomach cancer and adjacent mucosa with special reference to topography. Br J Cancer. 92(3):562-569, 2005 査読有.
- ⑩ Chi XZ, Yang JO, Lee KY, Ito K, Sakakura C, Li QL, Kim HR, Cha EJ, Lee YH, Kaneda A, Ushijima T, Kim WJ, Ito Y, Bae SC. RUNX3 suppresses gastric epithelial cell growth by inducing p21(WAF1/Cip1) expression in cooperation with transforming growth factor β -activated SMAD. Mol Cell Biol. 25(18):8097-8107, 2005 査読有.
- ⑪ Oue N, Mitani Y, Aung PP, Sakakura C, Takeshima Y, Kaneko M, Noguchi T, Nakayama H, Yasui W. Expression and localization of Reg IV in human neoplastic and non-neoplastic tissues: Reg IV expression is associated with intestinal and neuroendocrine differentiation in gastric adenocarcinoma. J Pathol. 207(2):185-198, 2005 査読有.
- ⑫ Wada M, Yazumi S, Takaishi S, Hasegawa K, Sawada M, Tanaka H, Ida H, Sakakura C, Ito K, Ito Y, Chiba T. Frequent loss of RUNX3 gene expression in human bile duct and pancreatic cancer cell lines. Oncogene. 23(13):2401-2407, 2004 査読有.
- ⑬ Mutoh H, Sakurai S, Satoh K, Tamada K, Kita H, Osawa H, Tomiyama T, Sato Y, Yamamoto H, Isoda N, Yoshida T, Ido K, Sugano K. Development of gastric carcinoma from intestinal metaplasia in Cdx2-transgenic mice. Cancer Res. 64(21):7740-7747, 2004 査読有.
- ⑭ Fukamachi H, Ito K, Ito Y. Runx3-/- gastric epithelial cells differentiate into intestinal type cells. Biochem Biophys Res Commun. 321(1):58-64, 2004 査読有.
- ⑮ Li QL, Ito K, Sakakura C, Fukamachi H, Inoue K, Chi XZ, Lee KY, Nomura S, Lee CW, Han SB, Kim HM, Kim WJ, Yamamoto H, Yamashita N, Yano T, Ikeda T, Itohara S, Inazawa J, Abe T, Hagiwara A, Yamagishi H, Ooe A, Kaneda A, Sugimura T, Ushijima T, Bae SC, Ito Y. Causal Relationship between the Loss of RUNX3 Expression and Gastric Cancer. Cell. 109(1):113-124, 2002 査読有.
- [学会発表] (計4件)
- ① 光藤章二、小西英幸、若林直樹。胃過形成性ポリープに対する *H. pylori* 除菌治療-除菌効果と長期成績-。第94回日本消化器病学会総会。2008年5月8日。福岡
- ② 立花俊治、小西英幸、阪倉長平。除菌治療前後の *H. pylori* 感染胃炎の変化-RUNX3 の発現を中心に-。第94回日本消化器病学会総会。2008年5月10日。福岡
- ③ Tachibana S, Konishi H, Fukumoto K, Motoyoshi T, Sakakura C, Wakabayashi N, Yagi N, Naito Y, Yoshikawa T, Mitsufuji S, Kataoka K. Recovery of RUNX3 Expression in Long-term Follow-Up after *H. pylori* Eradication. Digestive Disease Week 2008. 2008年5月19日。San Diego, USA
- ④ Tachibana S, Konishi H, Motoyoshi T, Sakakura C, Wakabayashi N, Mitsufuji S, Kataoka K. Recovery of RUNX3

Expression in Long-term Follow-Up
after *H. pylori* Eradication. Digestive
Disease Week 2009.2009年6月3日.
Chicago, USA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小西 英幸 (KONISHI HIDEYUKI)
京都府立医科大学・医学研究科・助教
研究者番号：30295670

(2) 研究分担者

若林 直樹 (WAKABAYASHI NAOKI)
京都府立医科大学・医学研究科・講師
研究者番号：20305577

(3) 連携研究者

阪倉 長平 (SAKAKURA CHOHEI)
京都府立医科大学・医学研究科・准教授
研究者番号：10285257