

機関番号：15401
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2009～2010
 課題番号：21790353
 研究課題名（和文） SAGE法/CAST法で同定した胃癌関連遺伝子の腫瘍進展への影響と診断への応用
 研究課題名（英文） Identification of novel tumor progression genes from SAGE/CAST methods and their diagnostic applications
 研究代表者
 仙谷 和弘（SENTANI KAZUHIRO）
 広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
 研究者番号：30508164

研究成果の概要（和文）：本研究では、胃癌や大腸癌における腫瘍進展に関連する新たな遺伝子を同定し、その臨床病理学的意義を明らかにすることを目的とした。細胞外基質蛋白 laminin γ 2 は MMP-7 とともに腫瘍進展過程で発現が増加したが、逆にギャップ結合構成蛋白 connexin 30 は発現が減少する一方で、腸型粘液形質を示す分化型腺癌の新規分化マーカーであることが明らかとなった。さらにタイトジャンクション構成蛋白 claudin-18 は予後不良な大腸癌の新規診断マーカーであることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Several discrete steps can be discerned in the biological cascades of tumor progression, and several molecules involved in their processes had been reported in gastric cancer (GC). In the present study, we searched for novel genes associated with tumor progression, based on the data of comprehensive gene expression methods. MMP7 and laminin γ 2 were associated with tumor progression in GC. In contrast, connexin 30 expression reduced during tumor progression, and is a novel differentiation marker mediating the biological behavior of intestinal phenotype GC. Furthermore, claudin-18 expression correlates with poor survival in patients with CRC and is associated with the gastric phenotype.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：診断病理学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：診断病理学

1. 研究開始当初の背景

申請者らは、これまでに Serial Analysis of Gene Expression (SAGE)法を基盤に同定した RegIV や PLUNC などの新規胃癌関連遺伝子が、鑑別診断に有用なマーカーであることを明らかにしている。一方、Escherichia coli ampicillin secretion trap (CAST)法は効率よく

膜・分泌蛋白質を同定できる方法であり、SAGE法と同様に新規胃癌関連分子を同定できる可能性が高い。癌の発生・進展には数多くの遺伝子の発現異常が関与しているが、癌の進展過程に関わる新たな遺伝子を同定し、実際の病理診断へ応用することができれば、胃癌の病態解明に大きく貢献できるものと

思われる。

2. 研究の目的

SAGE 法や CAST 法などの網羅的遺伝子発現解析法によって得られたデータを基盤として、胃癌や大腸癌における腫瘍進展に関連する新たな遺伝子を同定し、その臨床病理学的意義を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、SAGE法やCAST法で同定された胃癌関連遺伝子のうち、特に腫瘍進展に関連する遺伝子に焦点を当てて解析を行った。抽出された遺伝子について、利用可能な抗体を購入し、外科的に切除された胃癌組織および大腸癌組織を材料として作製した tissue microarray (TMA) を用いて免疫染色を行った。今回使用した TMA は約 1000 例の胃癌組織サンプルおよび約 500 例の大腸癌組織サンプルを搭載し、1 症例につき表層部と深部の 2 箇所 の腫瘍部が含まれているため、各々の発現パターンを解析することによって腫瘍進展との関係について明らかにすることができる。また、臨床病理学的な因子・予後との関連も合わせて解析した。

4. 研究成果

細胞外基質蛋白 laminin2 の臨床病理学的意義と発現関連分子(MMP-7 と EGFR)との相関を 1019 例の胃癌組織を用いて免疫組織化学的に解析した。Laminin2 は 26% の胃癌に陽性を示し、腫瘍の深達度やリンパ節転移、ステージと有意に正の相関を示した。また胃癌における MMP-7 と EGFR の陽性率は各々 22%、12% でいずれも laminin2 の発現と有意に相関していた。さらに Tissue microarray を用いて腫瘍の表層部と深部における発現パターンを比較すると laminin2 と MMP-7 は深部で高発現する傾向にあった。以上の結果から、laminin2 は MMP-7 とともに腫瘍の進展・転移に関わる重要な分子であることが明らかとなった。

ギャップ結合構成蛋白の一つである connexin 30 の胃癌における意義を明らかにすることを目的に 169 例の胃癌組織を用いて免疫組織化学的に検討したところ、胃癌での connexin 30 の陽性率は 28% で、腫瘍の深達度やリンパ節転移、ステージと有意に逆相関を示し、腫瘍進展とともに発現減少が見られた。また、組織学的に connexin 30 を発現する胃癌は分化型の症例が多く、腸型粘液形質を示した。以上の結果から、connexin 30 は腸型粘液形質を示す分化型腺癌の新規分化マーカーであることが明らかとなった。

タイトジャンクション構成蛋白の一つである claudin-18 の大腸癌における意義を明らか

にすることを目的に 569 例の大腸癌組織を用いて免疫組織化学的に検討した。大腸癌での claudin-18 の陽性率は 4% で、その発現は有意に予後不良であったものの、臨床病理学的因子との有意な相関は得られなかった。Claudin-18 を発現する大腸癌は胃型粘液形質を示し、腸への分化に関与する転写因子である CDX2 の発現低下が認められた。さらに形態学的に胃癌に類似した形態を示すものが多く見られた。以上の結果から claudin-18 は予後不良な大腸癌の新規診断マーカーであることが明らかとなった。

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 15 件)

以下英文は全て査読有、和文は査読無

1. Sentani K, Tashiro T, Uraoka N, Aosaki Y, Yano S, Takaeko F and Yasui W: Primary mammary mucinous cystadenocarcinoma: cytological and histological findings. *Diagn Cytopathol* (in press)
2. Yasui W, Sentani K, Sakamoto N, Anami K and Oue N: Molecular pathology of gastric cancer: Research and practice (Review article). *Path Res Pract* (in press)
3. 大上直秀、仙谷和弘、坂本直也、安井弥：トランスレーショナルリサーチに向けた病理学的研究-消化管がんの新規診断マーカー・治療標的の同定. *日本薬理学会誌 ミニレビュー「トランスレーショナルリサーチ」* 137(3):146-149, 2011
4. 仙谷和弘、若松雄太、安井弥：専門医のためのアトラス：胃癌原発巣と転移巣の組織像 *胃がん perspective* 3(4):256-261, 2010
5. Sentani K, Oue N, Sakamoto N, Anami K, Naito Y, Aoyagi K, Sasaki H and Yasui W: Upregulation of connexin 30 in intestinal phenotype gastric cancer and its reduction during tumor progression. *Pathobiology* 77(5):241-248, 2010
6. Matsuda M, Sentani K, Noguchi T, Hinoi T, Okajima M, Matsusaki K, Sakamoto N, Anami K, Naito Y, Oue N and Yasui W: Immunohistochemical analysis of colorectal cancer with gastric phenotype: claudin-18 is associated with poor prognosis. *Pathol Int* 60(10):673-680, 2010
7. Sentani K, Oue N, Noguchi T, Sakamoto N, Matsusaki K and Yasui W: Immunostaining of

- gastric cancer with neuroendocrine differentiation: Reg IV-positive neuroendocrine cells are associated with gastrin, serotonin, somatostatin and pancreatic polypeptide. *Pathol Int* 60(4):291-297, 2010
8. Anami K, Oue N, Noguchi T, Sakamoto N, Sentani K, Hayashi T, Hinoi T, Okajima M, Graff JM and Yasui W: Search for transmembrane protein in gastric cancer by the *Escherichia coli* ampicillin secretion trap: expression of DSC2 in gastric cancer with intestinal phenotype. *J Pathol* 221(3):275-284, 2010
 9. Sakamoto N, Oue N, Noguchi T, Sentani K, Anami K, Sanada Y, Yoshida K and Yasui W: Serial analysis of gene expression of esophageal squamous cell carcinoma: ADAMTS16 is upregulated in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Sci* 101(4):1038-1044, 2010
 10. Seko N, Oue N, Noguchi T, Sentani K, Sakamoto N, Hinoi T, Okajima M and Yasui W: Olfactomedin (GW112, hGC-1) is an independent prognostic marker for survival in patients with colorectal cancer. *Exp Ther Med* 1(1):73-78, 2010
 11. Oue N, Sentani K, Noguchi T, Ohara S, Sakamoto N, Hayashi T, Anami K, Motoshita J, Ito M, Tanaka S, Yoshida K and Yasui W: Serum olfactomedin (GW112, hGC-1) in combination with Reg IV is a highly sensitive biomarker for gastric cancer patients. *Int J Cancer* 125(10):2383-2392, 2009
 12. Oue N, Sentani K, Sakamoto N, Motoshita J, Nishisaka T, Fukuhara T, Matsuura H, Sasaki H, Nakachi K and Yasui W: Characteristic gene expression in stromal cells of gastric cancers among atomic-bomb survivors. *Int J Cancer* 124(5):1112-1121, 2009
 13. Hayashi T, Matsubara A, Ohara S, Mita K, Hasegawa Y, Usui T, Arihiro K, Norimura S, Sentani K, Oue N and Yasui W: Immunohistochemical analysis of Reg IV in urogenital organs: Frequent expression of Reg IV in prostate cancer and potential utility as serum tumor marker. *Oncol Rep* 21(1):95-100, 2009
 14. Yasui W, Oue N, Sentani K, Sakamoto N and Motoshita J: Transcriptome dissection of gastric cancer: Identification of novel diagnostic and therapeutic targets from pathology specimens. *Pathol Int* 59(3):121-136, 2009
 15. Noguchi T, Oue N, Wada S, Sentani K, Sakamoto N, Kikuchi A and Yasui W: h-Prune is an independent prognostic marker for survival in esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 16(5):1390-1396, 2009
- [学会発表] (計 7 8 件)
1. 仙谷和弘, 大上直秀, 阿南勝宏, 坂本直也, 安井 弥: 胃型粘液形質と関連する claudin-18 の大腸癌での臨床病理学的意義と種々の分子との相関. 第 21 回日本消化器癌発生学会総会, 11 月 18-19 日, 軽井沢, 2010
 2. Sentani K, Uraoka N and Yasui W: Mammary mucinous cystadenocarcinoma with ductal carcinoma in situ. The 20th International Symposium of the Hiroshima Cancer Seminar “Recent Progress in Carcinogenesis, Progression and Therapy of Breast Cancer“, Hiroshima (Japan), October 31, 2010
 3. 仙谷和弘, 松田美穂, 内藤 寛, 坂本直也, 大上直秀, 安井 弥: 大腸癌における claudin-18 の臨床病理学的意義: 種々の分子との相関. 第 69 回日本癌学会学術総会, 9 月 22-24 日, 大阪, 2010
 4. Sentani K, Matsuda M, Anami K, Sakamoto N, Oue N and Yasui W: Immunohistochemical analysis of colorectal cancer with gastric phenotype: claudin-18 is associated with poor prognosis. The 198th Scientific Meeting of the Pathological Society of Great Britain & Ireland, St Andrews (Scotland), UK, June 29-July 1, 2010
 5. 仙谷和弘, 大上直秀, 坂本直也, 安井 弥: 遺伝子発現プロファイルで同定した HOXA10 の胃癌腸型形質との関連. 第 99 回日本病理学会総会, 4 月 27-29 日, 東京, 2010
 6. 仙谷和弘, 大上直秀, 坂本直也, 阿南勝宏, 安井 弥: 網羅的遺伝子発現解析で同定された HOXA10 の腸型胃癌における高発現. 第 82 回日本胃癌学会総会, 3 月 3-5 日, 新潟, 2010
 7. 仙谷和弘, 大上直秀, 松田美穂, 高見北斗,

坂本直也、青柳一彦、佐々木博己、安井 弥
消化器癌の基礎と臨床：胃癌-2：遺伝子発
現プロファイリングの比較から同定された
HOXA10 の腸型胃癌としての意義
第 20 回日本消化器癌発生学会総会 ワー
クショップ (4) -2、11 月 26-27 日、広島、
2009

8. 仙谷和弘、大上直秀、坂本直也、青柳一
彦、佐々木博己、安井 弥
胃癌遺伝子発現プロファイルによって同
定された HOXA 10 と腸型形質との関連
第 68 回日本癌学会学術総会、10 月 1 日-3
日、横浜、2009

9. 仙谷和弘、松田美穂、高見北斗、若松雄
太、坂本直也、大上直秀、安井 弥
胃型粘液形質と関連する claudin-18 の大
腸癌予後不良マーカーとしての意義
第 29 回日本分子腫瘍マーカー研究会、9
月 30 日、横浜、2009

10. Sentani K, Oue N, Anami K and Yasui W
Usefulness of Reg IV and claudin-18
immunostaining in the diagnosis of
gastrointestinal signet ring cell carcinoma
8th International Gastric Cancer Congress,
Krakow (Poland), June 10-13, 2009

11. 仙谷和弘、松田美穂、大上直秀、坂本直
也、林 哲太郎、安井 弥
胃型形質を示す大腸癌における
claudin-18 の発現と臨床病理学的検討
第 18 回日本がん転移学会学術集会・総会、
2009、7 月 23-24 日、旭川

12. 仙谷和弘、大上直秀、安井 弥
遺伝子発現プロファイルで同定された
HOXA 10 の胃癌における解析
第 98 回日本病理学会総会、5 月 1 日-3 日、
京都、2009

13. 仙谷和弘、大上直秀、安井 弥
胃癌における Reg □ と種々の神経内分泌
ホルモン発現との関連
第 98 回日本病理学会総会、5 月 1 日-3 日、
京都、2009

[図書] (計 2 件)

1. 仙谷和弘、安井弥：病理・病態生理：遺伝
子変異. 飯田三雄・編、新しい診断と治療の
ABC 14 胃癌 改訂第 2 版、pp52-58、最新医学
社、大阪、2010

2. Yasui W, Sentani K, Sakamoto N, Motoshita J
and Oue N. Histological and serological tumor
markers of gastric cancer. Histological and
serological tumor markers and their clinical

usefulness in cancers, ed. By Dan Hellberg, Nova
Science Publishers, New York, pp93-111, 2009

[その他]
ホームページ等
<http://home.hiroshima-u.ac.jp/byoril/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

仙谷 和弘 (SENTANI KAZUHIRO)
広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・
助教
研究者番号：30508164

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者