

機関番号：17401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2010

課題番号：21890181

研究課題名（和文） 消化器癌の染色体不安定性と紡錘体形成チェックポイント蛋白発現の  
関連研究課題名（英文） The relationship between chromosomal instability and spindle  
assembly checkpoint in gastric cancers

研究代表者

美馬 浩介 (MIMA KOSUKE)

熊本大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：00546559

研究成果の概要（和文）：

染色体不安定性の原因として、紡錘体形成チェックポイント機能の異常が考えられている。紡錘体形成チェックポイント関連分子であるCdc20と胃癌のploidy patternの関連を検討した。1. 胃癌細胞株におけるCdc20の発現をRealtime PCRで定量し、各胃癌細胞株のploidy patternと比較したところ、Cdc20の発現とploidy patternには明らかな関連を認めなかった。2. 胃癌臨床検体6例を用いてCdc20の発現をRealtime PCRで定量し、ploidy patternまた癌部と非癌部で比較したところ、Cdc20の発現とploidy patternには明らかな関連を認めなかった。

研究成果の概要（英文）：Gastric cancers show high frequency of DNA aneuploidy, a phenotype of chromosomal instability. It is suggested that the abnormal spindle assembly checkpoint is involved in DNA aneuploidy, but the underlying mechanism is still unclear. We studied the mechanism by assessing the expression of Cdc20 in gastric cancer. The mRNA expression of Cdc20 was not associated with DNA aneuploidy in vitro and gastric cancer patients.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,050,000	315,000	1,365,000
2010年度	950,000	285,000	1,235,000
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

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：癌、細胞周期、遺伝子、マイクロアレイ

1. 研究開始当初の背景

(1) 大腸癌の発癌には染色体不安定性 (chromosomal instability; CIN) とマイクロサテライト不安定性 (microsatellite

instability; MIN) の二つの経路が存在することが知られており、CIN には癌抑制遺伝子をはじめとする癌関連遺伝子の LOH と遺伝子変異が伴うことが多いとされている (1,2)。

CIN の原因として、紡錘体形成チェックポイント機能 (spindle assembly checkpoint; SAC) の異常が考えられている (3)。紡錘体チェックポイントは正常な紡錘体構築されて全ての動原体が動原体微小管と結合するまで M 期後期過程の開始を抑制する機構のことで、1998 年に主経路が判明した (4)。SAC には主な因子として Mad2、BubR1 がある。染色体が正しく紡錘体と結合するまでの間、Mad2 と BubR1 は Cdc20 と複合体を形成し、後期促進因子 (anaphase promoting complex/cyclosome; APC/C) を不活性化している (5)。Mad2 と BubR1 などの紡錘体チェックポイント機構の構成因子の異常は染色体不安定性、発癌につながる事が知られている (6)。胃癌においては LSC (Laser Scanning Cytometry 2; CompuCyte) による ploidy 検索ではほぼ全例が CIN となっていたことから ploidy を調べることで CIN の判定ができる (7)。また TP53 変異と DNA ploidy の頻度は相関し、このような症例では悪性度が高いとされ (8, 9)、染色体の不安定性が発癌に関与していることが示唆される。われわれはこれまでに紡錘体チェックポイント蛋白の一つである BubR1 の発現を胃癌臨床検体において免疫組織化学染色法にて検索し、DNA ploidy と病理学的因子との検討を行った。その結果、紡錘体形成チェックポイント蛋白 BubR1 過剰発現は胃癌において深達度 (P=0.0047)、リンパ節転移陽性率 (P=0.0033)、肝転移陽性率 (P=0.04) と有意な関連を認めた。また BubR1 過剰発現は DNA aneuploidy (P=0.024) および TP53 変異 (P=0.05) とも有意な関連を認めた。さらに、BubR1 高発現症例は低発現症例に比べ有意に予後不良であることがわかった。このように紡錘体チェックポイントに関わる分子は胃癌においてその悪性度に密接に関わることが示唆されることから、BubR1 をはじめ紡錘体形成チェックポイント関連分子の解析は胃癌悪性度の診断から治療標的となる可能性があると考えられる。紡錘体チェックポイント機構には主な因子として Mad2、BubR1 がある。染色体が正しく紡錘体と結合するまでの間、Mad2 と BubR1 は Cdc20 と複合体を形成し、後期促進因子 (anaphase promoting complex/cyclosome; APC/C) を不活性化している。Mad2 と BubR1 などの紡錘体チェックポイント機構の構成因子の異常は染色体不安定性、発癌につながる事が知られている。

## 2. 研究の目的

紡錘体形成チェックポイント関連分子の一つである BubR1 の高発現が染色体不安定性、胃癌の悪性度に関連する結果が示唆されたことから、BubR1 高発現が実際に染色体不安

定性を引き起こすのか、またそれにより癌細胞の悪性度が変化するかを明らかにすると共に、MAD2 や cdc20 などの他の紡錘体形成チェックポイント関連分子についても同様の検討を行うことで、これらの分子の発現と染色体不安定性や胃癌の悪性度との関連を明らかにする。さらに、各分子の相互関係について細胞株や臨床検体を用いて検索し、機序を明らかにすることで、胃癌の悪性度診断に有用なマーカーの抽出と新たな治療標的の同定を試みる。紡錘体形成チェックポイント関連分子の一つである BubR1 の高発現が発現が染色体不安定性、胃癌の悪性度に関連する結果が示唆されたことから、BubR1 高発現が実際に染色体不安定性を引き起こすのか、またそれにより癌細胞の悪性度が変化するかを明らかにすると共に、MAD2 や cdc20 などの他の紡錘体形成チェックポイント関連分子についても同様の検討を行うことで、これらの分子の発現と染色体不安定性や胃癌の悪性度との関連を明らかにする。

## 3. 研究の方法

胃癌臨床検体を用いて Mad2、Cdc20 の発現を免疫組織化学染色で確認し、これまでに蓄積してきた BubR1 発現や DNA ploidy、臨床病理学的因子との関連の検討を行う。また胃癌細胞株における Mad2、Cdc20 の発現を定量し、各胃癌細胞株の ploidy pattern と検討する。

## 4. 研究成果

1. 胃癌細胞株における Cdc20 の発現を Realtime PCR で定量し、各胃癌細胞株の ploidy pattern と比較したところ、Cdc20 の発現と ploidy pattern には明らかな関連を認めなかった。

2. 胃癌臨床検体 6 例を用いて Cdc20 の発現を Realtime PCR で定量し、ploidy pattern また癌部と非癌部で比較したところ、Cdc20 の発現と ploidy pattern には明らかな関連を認めなかった。Diploidy である胃癌臨床検体 2 例において Cdc20 の発現は非癌部に比べて癌部に発現が高い傾向を認めた。

## 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 10 件)

- ① 美馬浩介、掛地吉弘、佐伯浩司、吉田倫太郎、吉永敬士、森田 勝、武富紹信、調 憲、前原喜彦 TS-1+CDDP 療法により治癒切除が可能となった局所進行十二指腸癌の 1 例 日本消化器外科

- 学会雑誌 2011年in press 査読有
- ② **Mima K**, Beppu T, Chikamoto A, Ishiko T, Horino K, Hayashi N, et al. Laparoscopy-assisted resection through the mini medianlaparotomy for undiagnosed liver tumor with ascending colon cancer: Report of a Case. **Surg Today** in press 査読有
- ③ **Mima K**, Beppu T, Murata A, Otao R, Okabe H, Masuda T, et al. A primary neuroendocrine tumor in the liver treated by hepatectomy: Report of a case. **Surg Today** in press 査読有
- ④ Beppu T, Hayashi H, Okabe H, Masuda T, **Mima K**, Otao R, et al. Liver functional volumetry for portal vein embolization using a newly developed (99m)Tc-galactosyl human serum albumin scintigraphy SPECT-computed tomography fusion system. **J Gastroenterol** 2011. 査読有
- ⑤ **Mima K**, Beppu T, Masuda T, Otao R, Miyake K, Okabe H, et al. The role of thermal ablation for colorectal liver metastases in the era of effective chemotherapy. **Thermal Med** 27 (1):1-8, 2011. 査読有
- ⑥ **美馬浩介**、別府 透、林 尚子、増田 稔郎、宮本裕士、近本 亮、石河隆敏、渡邊雅之、高森啓史、馬場秀夫 Conversion therapyを念頭においた切除不能大腸癌肝転移に対する分子標的治療 外科 73; 257-261, 2011 査読無
- ⑦ **Mima K**, Hirota M, Abe S, Iwatsuki M, Imamura H, Tsuruzoe S, et al. Small solid pseudopapillary tumor of the pancreas in a 32-year-old man:

report of a case. **Surg Today** 40, 772-6, 2010. 査読有

- ⑧ **美馬浩介**、別府 透、林 尚子、増田 稔郎、近本 亮、石河隆敏、渡邊雅之、高森啓史、馬場秀夫 Current Organ Topics : 大腸癌 II. 大腸癌肝転移に対する新しい治療戦略 癌と化学療法 37; 2075-2079, 2010 査読無
- ⑨ Hayashi N, **Mima K**, Nagai Y, Baba Y, Imamura Y, Hiyoshi Y, et al. Submucosal tumour in a young girl. **Gut** 58:1040, 2009. 査読有

[学会発表] (計6件)

- ① **美馬浩介**、別府 透、岡部和利、杉山眞一、増田稔郎、太田尾 龍、岡部弘尚、近本 亮、堀野 敬、石河隆敏、高森啓史、池田 理、山下 康行、馬場 秀夫、新規薬剤：ミリプラチン・リピオドールの肝細胞癌に対する肝動脈化学塞栓療法における可能性 第48回癌治療学会学術集会 パネルディスカッション 2010年10月29日 査読有 京都(国立京都国際会館)
- ② **Mima K**, Beppu T, Ishiko T, Chikamoto A, Masuda T, Okabe K, et al. Advances in Thermal Ablation for Colorectal Liver Metastases, The 5<sup>th</sup> Asian Congress of Hyperthermic Oncology 11 September, 2010 査読有 福岡(九州大学医学部百年講堂)
- ③ **Mima K**, Beppu T, Ishiko T, Chikamoto A, Masuda T, Okabe H, et al. **Recent advances in the management of hepatocellular carcinoma and the current role of local ablative therapies, The 9<sup>th</sup> international Conference of The Asian Clinical Oncology Society 26 June, 2010 査読**

有 岐阜（岐阜グランドホテル）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

美馬 浩介（MIMA KOSUKE）

熊本大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：00546559