

令和元年6月3日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08612

研究課題名(和文) 消化管分化の制御による胃癌治療の可能性の追求

研究課題名(英文) Trial to treat gastric cancer via regulating the status of gastrointestinal differentiation

研究代表者

山道 信毅 (Yamamichi, Nobutake)

東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：30463897

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：胃癌細胞株にCDXによる腸分化誘導を起こすことによって、胃癌細胞が増殖停止を発見した。CDX関連遺伝子プローブマーカーを選定し、多数の胃癌症例の遺伝子発現データを解析したところ、マーカー陽性胃癌の遺伝子発現は陰性胃癌に比べて明らかに非癌粘膜に近く、CDX発現による腸分化誘導が、胃癌においてがん抑制的に機能することを証明した(Cancer Sci 2018, 109: 3853)。また、この実験過程で、消化管腫瘍の微少な生検検体(約10 μ g)から、極めて正確に網羅的な遺伝子発現解析を施行する手法の開発に成功した(J Gastroenterol 2018, 54: 131)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

切除が唯一の根治療法とされている胃癌が、分化誘導によって制御できることを発見し、薬物療法に繋がりうる新たな可能性を報告した。また、これまで様々な分類がなされてきた胃癌分類において、予後・悪性度の予測や治療方針の決定の有用性が期待される「消化管分化の視点に基く新しい分類(CDX発現に基づく胃癌分類)」について、詳細な遺伝子発現データの解析に基いた提唱を行った。さらに、消化管腫瘍の微少な生検検体から正確に網羅的な遺伝子発現解析を施行する手法の開発に成功し、将来のオーダーメイド医療(網羅的な遺伝子発現解析に基づく病態予測・治療プラン決定)の基盤となる医療技術を確立した。

研究成果の概要(英文)：We found that intestinal differentiation induced by CDX caused growth arrest of several gastric cancer cells. Using the CDX-related gene probe markers, we analyzed gene expression data of many gastric cancer cases and found that gene expression of CDX-positive gastric cancer was clearly closer to that of non-cancerous gastric mucosa than CDX-negative gastric cancer. Based on these results, we concluded that CDX-induced intestinal differentiation can show a tumor suppressive effect on gastric cancer (Cancer Sci 2018, 109: 3853). In addition, in the process of this experiment, we succeeded in developing a method to perform comprehensive gene expression analysis from a small biopsy specimen (about 10 μ g) of a gastrointestinal tract tumor (J Gastroenterol 2018, 54: 131).

研究分野：腫瘍学、病態医化学、分子生物学、消化器病学

キーワード：胃癌 消化管分化

1. 研究開始当初の背景

ヘリコバクター・ピロリ菌の持続感染が胃癌の最大の誘因であることは確立しているが、前癌病変である萎縮性～化生性胃炎から発癌に至る分子機構は現在も解明されていない。申請者は胃癌の大半が「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」を背景に生じることに注目した研究を継続し、様々な胃分化マーカー・腸分化マーカー遺伝子の同定とその発現制御の解析を行ってきた。2000年以降、蓄積した研究成果から、『本来は慢性炎症に対する防御反応である腸上皮化生という特殊な分化の過程で、エピジェネティカルな分子機構の異常によって、CDX 制御下の腸分化遺伝子群の発現に異常が生じ、結果として生じる腸分化の破綻が「胃癌の悪性度上昇」や「組織分化度の低下」を引き起こす』というモデルを提唱している (Oncogene 24:5471, 2005 / Cancer Res 67:10727, 2007 / Exp Cell Res 315:1779, 2009 / PLoS One 8:e56766, 2013 / PLoS One 9:e106106, 2014)。この過程で、腸分化を強く促進することによって一部の胃癌で分化誘導を伴う増殖停止が生じることを発見した。

2. 研究の目的

申請者のグループは、腸分化制御のマスター遺伝子 CDX の安定持続発現によって、胃癌細胞の一部が急速な形態変化を起こして「癌」としての性質を失い、増殖停止 (G0-G1 期増殖停止) を来すことを発見した。蓄積してきた過去の研究成果、ならびに、胃癌細胞における CDX による増殖停止の発見を踏まえ、(A)「分化異常の制御による胃癌治療の可能性」をさらに追求し、CDX の発現誘導によって一部の胃癌で増殖停止をきたす分子機構の詳細を解明すること、(B) CDX 導入と同等の効果を呈する薬剤のスクリーニングを行ない、分化誘導による胃癌治療に繋がりうる薬剤を同定すること、の2つを目標として研究を計画した。(A)(B)を通じて、胃癌発症の背景に存在する『消化管分化の進展・維持・破綻』に関する分子基盤の全体像を明らかにするとともに、薬剤スクリーニングによる治療応用への可能性を追求することによって、前癌病変である慢性胃炎～萎縮性胃炎の理解を進め、胃癌に対する有効な予防・治療に繋がる医学的戦略を模索することが、本研究の最終目的である。

3. 研究の方法

消化管分化の制御による胃癌治療の可能性を追求することを目標に、「A) 腸分化誘導による胃癌増殖抑制機構の解明」と「B) 腸分化を誘導する薬剤の検索」の両研究を並行して行う(以下に詳述)。A)・B)の結果を統合し、「分化誘導による胃癌治療実現の可能性」を追求し、CDX2・CDX1 の発現制御の解明を通じて「消化管分化決定の分子基盤」解明を行う。

A) CDX 導入によって分化誘導・増殖停止を来す CDX 発現欠失胃癌細胞株を用いて、増殖抑制機構解明のための諸実験を行う。さらに、この形質転換における遺伝子発現変動の網羅的解析を行い、分子生物学的な実験、ならびに、胃癌の遺伝子発現データベースとの比較解析を通じて、その詳細な分子機構の解明を目指す。

B) 消化管分化決定の最重要因子である CDX (CDX2、CDX1) 遺伝子の発現制御解明を目指し、約 400 種類の薬剤ライブラリーを利用して CDX 誘導が可能な薬剤のスクリーニングを行う。

4. 研究成果

胃癌細胞株に CDX を安定持続発現させると、多くの腸分化マーカー遺伝子の誘導、ならびに、胃分化マーカー遺伝子の抑制が確認され、想定された通り、分化誘導(分化制御)による胃癌治療の可能性を開く重要な結果と考えられた。次に胃癌細胞の増殖停止が起こる際の網羅的な遺伝子発現変化のマイクロアレイの解析を行い、CDX 発現と関連するマーカー遺伝子(CDX 関連プローブ)を選定した。CDX 関連プローブ陽性胃癌の遺伝子発現様式は、CDX 関連プローブ陰性胃癌に比べて、明らかに非癌粘膜に近いことが確認され、CDX 発現による腸分化誘導が、胃癌においてがん抑制的に機能することが明らかとなった (Cancer Sci 2018, 109: 3853 にこれらの成果を発表した)。また、胃癌細胞において発現抑制を来す新たな胃癌マーカー遺伝子として Nectin1 を同定し、これを報告した (Pathol Int 2018, 68: 557)。

この一連の研究の過程で、我々は消化管腫瘍の微小な生検検体(約 10 μ g)から、極めて正確に網羅的な遺伝子発現解析を施行する手法の開発に成功した。先行研究として十二指腸上皮性腫瘍の解析をまずは行い、病態の解明が遅れている十二指腸上皮性腫瘍が大腸腺腫と違い遺伝子発現様式を持つ腫瘍であることを発見・報告した (J Gastroenterol 2019, 54: 131)。これを踏まえて、現在、胃癌において、1) CDX 発現陽性胃癌と CDX 発現陰性胃癌の比較、2) ピロリ菌陽性胃癌・ピロリ菌除菌後胃癌・ピロリ菌陰性胃癌の比較、3) 粘膜内胃癌と粘膜下層浸潤胃癌、といった観点からのデータ取得と解析を進めている。細胞モデルで成功した腸分化誘導におけるがん抑制と同時に変化する遺伝子群が、実際の臨床胃癌検体でもどのように再現されるかについて比較解析を進め、今後、腸分化誘導による胃癌増殖停止のメカニズムの解明と

臨床応用を目指す予定である。

一方、腸分化誘導を来す薬剤の検索については、蛍光顕微鏡との組み合わせた検出系の樹立に成功し、薬剤ライブラリー約 400 種についてのスクリーニングを行なったが、発現を誘導する薬剤の発見には至らなかった。現在、新たなライブラリーの使用を検討中である。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 14 件)

- 1) Togo R, Yamamichi N, et al: Detection of gastritis by a deep convolutional neural network from double-contrast upper gastrointestinal barium X-ray radiography. *J Gastroenterol* 2019, 54:321-329.
- 2) Sakaguchi Y, Yamamichi N, et al: Identification of marker genes and pathways specific to precancerous duodenal adenomas and early stage adenocarcinomas. *J Gastroenterol* 2019, 54:131-140.
- 3) Yamamichi N, Nakayama C, et al: Transduced caudal-type homeobox (CDX) 2/CDX1 can induce growth inhibition on CDX-deficient gastric cancer by rapid intestinal differentiation. *Cancer Sci* 2018, 109:3853-3864.
- 4) Takahashi Y, Yamamichi N, et al: Nectin1 expression is frequently decreased in gastric cancers. *Pathol Int* 2018, 68:557-562.
- 5) Minatsuki C, Yamamichi N, et al: Expression of Gastric Markers Is Associated with Malignant Potential of Nonampullary Duodenal Adenocarcinoma. *Dig Dis Sci* 2018, 63:2617-2625.
- 6) Matsuda R, Yamamichi N, et al: Gastroesophageal Reflux Disease-Related Disorders of Systemic Sclerosis Based on the Analysis of 66 Patients. *Digestion* 2018, 98(4):201-208.
- 7) Yamamichi N, et al: Gastric polyps diagnosed by double-contrast upper gastrointestinal barium X-ray radiography mostly arise from the Helicobacter pylori-negative stomach with low risk of gastric cancer in Japan. *Gastric Cancer* 2017, 20:314-321.
- 8) Maeda M, Nakajima T, Oda I, Shimazu T, Yamamichi N, et al: High impact of methylation accumulation on metachronous gastric cancer: 5-year follow-up of a multicentre prospective cohort study. *Gut* 2017, 66:1721-1723.
- 9) Terabe F, Aikou S, Yamamichi N, et al: Columnar Metaplasia in Three Types of Surgical Mouse Models of Esophageal Reflux. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2017, 4:115-123.
- 10) Yamamichi N, 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* 2016, 19:670-675.
- 11) Yamamichi N, 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* 2016, 19:1016-1022.
- 12) Sakaguchi Y, Yamamichi N, et al: Successful closure of a large perforation during colorectal endoscopic submucosal dissection by application of polyglycolic acid sheets and fibrin glue. *Gastrointest Endosc* 2016, 84:374-375.
- 13) Sakaguchi Y, Tsuji Y, Yamamichi N et al: Triamcinolone Injection and Shielding with Polyglycolic Acid Sheets and Fibrin Glue for Postoperative Stricture Prevention after Esophageal Endoscopic Resection: A Pilot Study. *Am J Gastroenterol* 2016, 111:581-583.
- 14) Mori G, Yamamichi N, 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* 2016, 19(3):911-918.

〔学会発表〕(計 3 件)

- 1) 山道信毅、和田亮一、小池和彦：逆流性食道炎有病率の四半世紀の変遷とピロリ菌感染との関連、第 104 回消化器病学会総会、2018
- 2) 坂口賀基、山道信毅、小池和彦：網羅的遺伝子発現解析による十二指腸上皮性腫瘍における腫瘍化メカニズムの解明、第 104 回消化器病学会総会、2018
- 3) 山道信毅、光島徹、小池和彦：人間ドック受診者における抗血小板薬内服と胃粘膜障害との関連、第 103 回日本消化器病学会総会、2017

〔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

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

6 . 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：富田 秀太

ローマ字氏名：Tomida Shuta

研究協力者氏名：稲田 健一

ローマ字氏名：Inada Ken-ichi

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。