

令和元年6月14日現在

機関番号：32645

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19072

研究課題名(和文) 時計遺伝子発現に基づく胃低分化型腺癌の微小環境形成とその制御

研究課題名(英文) Microenvironment formation of gastric poorly differentiated adenocarcinoma is based on the regulation of clock genes.

研究代表者

平井 秀明(Hirai, Hideaki)

東京医科大学・医学部・助教

研究者番号：00770744

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：癌微小環境の中で特に間質成分の多寡に着目し、胃の充実型低分化腺癌を髄様癌と非髄様癌に分けると、髄様癌は、非髄様癌と比べて、リンパ節転移や脈管侵襲が有意に少なく、無病生存率が良好な傾向を示した。充実型低分化腺癌では、癌微小環境のうち間質の多寡が臨床病理学的因子や予後に影響を与える可能性が示唆された。食道癌細胞株を用いて、時計遺伝子DECの発現の役割を検討し、DEC2がTE-11に対して抗アポトーシス作用を示すことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、胃や食道などの消化器癌における癌微小環境や、時計遺伝子発現の役割の一部を明らかにした。消化器癌ではDEC2を抑制することでアポトーシスが促進されるため、DEC2が治療標的になりうることが示唆された。これらの研究成果は、消化器癌の新たな治療戦略の構築に寄与するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：By focusing on the amount of stromal component, we subclassified the poorly differentiated gastric adenocarcinoma of solid type into the two groups: medullary carcinoma and non-medullary carcinoma. The medullary carcinomas less frequently displayed lymphatic invasion, venous invasion, and lymph node metastasis, compared with the non-medullary carcinoma. The patients with medullary carcinomas significantly showed better disease-free survival. Furthermore, alterations in expression of apoptosis-related markers in human esophageal squamous cell carcinoma TE-11 cells treated with cisplatin were examined by western blot, while overall cell viability and apoptosis were analyzed by MTS assay and hematoxylin and eosin staining, respectively. We showed DEC2 exhibits anti-apoptotic effects in TE-11 esophageal squamous cell carcinoma cells.

研究分野：人体病理学(特に消化器、唾液腺)

キーワード：胃癌 食道癌 唾液腺導管癌 癌微小環境 時計遺伝子 DEC AR HER2

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

胃癌を含む消化器癌は、組織学的に極めて多彩な像を示す。この多様性は、腫瘍そのものの構造異型や細胞異型だけでなく、癌実質周囲に存在する線維芽細胞などの間質の量や種類にも依存する。我々は予備的な研究において、組織学的に胃の充実型低分化腺癌を間質の多寡で 2 種類に分けると、豊富な間質を有する腫瘍がより高度な脈管侵襲およびリンパ節転移を示し予後不良となることを明らかにした。高悪性度の腫瘍では、豊富な間質に線維芽細胞の増生が認められた。これらの腫瘍間質内の活性化された線維芽細胞は、癌関連線維芽細胞 (Cancer associated fibroblast ; CAF) と呼ばれ、SMA 陽性を示す筋線維芽細胞である。癌関連線維芽細胞は癌細胞の上皮間葉転換や癌幹細胞性の再獲得に関与していることが明らかになっている。このように胃癌の生物学的悪性度には癌細胞自身の特性だけでなく癌周囲の微小環境との相互作用が重要である。癌の微小環境を考慮した腫瘍発育進展解析は、従来の癌細胞のみの細胞解析法に比べて、より生体に近い環境を反映しており、新たな癌増殖制御機構の解明に繋がると考えられる。

一方、生物の生理機能・代謝・行動は、脳の視床下部 (視交叉上核) で駆動されている中枢性の生物時計が刻む約 24 時間周期の概日リズムにより調節されている。この生物時計 (概日リズム) は時計遺伝子の発現により制御されその機能解析が進みつつある。

我々の研究室は、DEC 遺伝子 (DEC1 および DEC2) が時計遺伝子ファミリーに属することを解明し、さらに変異型 DEC 遺伝子を用いて時計遺伝子のフィードバック機構について明らかにするなど、DEC 遺伝子解析に関して世界に先駆けた研究を行い、評価を受けている。さらに我々は、DEC が概日リズム (生物時計) の調節に加えて、上皮間葉転換や血管新生・アポトーシス制御、腫瘍細胞増殖などの病態機序と関連していることを報告している。

国内外を含め従来までに他グループで報告されている主要な時計遺伝子の解析は、時計中枢 (視交叉上核) および末梢組織での正常リズムの解析が中心であった。最近に至りようやく、癌においても時計遺伝子が発現しているとの報告が散見されている段階である。さらに DEC については時計遺伝子の中で、最も新しい遺伝子であるため、他グループによる DEC の機能解析は極めて限られている。

2. 研究の目的

本研究は、胃や食道などの消化器癌における癌微小環境や、時計遺伝子発現の役割を解明することを目標とした。癌微小環境については、特に線維性間質成分の多寡に着目し、充実型低分化胃癌におけるその役割を検討した。更に、食道癌細胞株を用いて、時計遺伝子 DEC の発現と、アポトーシスの関係について、検索した。

3. 研究の方法

癌微小環境 (線維性間質の多寡など) の役割

2005-2014 年に、弘前大学消化器外科で手術された 61 例 (男性 39 例、女性 22 例) の胃の充実型低分化腺癌を対象とした。本研究において、次の 3 つの特徴を全て満たす充実型低分化腺癌を髓様癌と定義した。(i) 腫瘍全体の 90%以上が、充実型低分化腺癌で占められている。(ii) 腫瘍が浸潤先進部において膨張性発育を示す。(iii) α -fetoprotein 産生腫瘍や神経内分泌癌、リンパ球浸潤癌などの特殊型胃癌を除外する。以上の定義に基づき、61 例の充実型低分化腺癌を髓様癌と非髓様癌に分け、臨床病理学的特徴を比較検討した。予後調査可能であった 35 例については、Kaplan-Meier 法および logrank 検定を用いて、無病生存期間と全生存期間を比較検討した。

時計遺伝子 DEC の発現とアポトーシスの関係

食道扁平上皮癌細胞株 TE-11 において、シスプラチン投与の有無で、DEC1 および DEC2 の蛋白発現をウエスタンブロット法で比較した。更に、DEC1 もしくは DEC2 を過剰発現させた TE-11 に対してシスプラチンを投与し、アポトーシス関連蛋白の発現をウエスタンブロット法で、培養細胞の生存率を MTS 法で、アポトーシスを形態学的に HE 染色で、それぞれ評価した。

4. 研究成果

癌微小環境 (線維性間質の多寡など) の役割

- (1) 61 例の充実型低分化腺癌のうち、我々の定義に合致した髓様癌は 23 例 (37.7%) であり、残りの 38 例は非髓様癌であった。
- (2) Borrmann classification に基づく肉眼型は、主に髓様癌が type 2 を、非髓様癌が type 3 を示した。
- (3) 髓様癌は充実性構造を示して膨張性に増生し、周囲組織との境界が明瞭であった。多くの非髓様癌 (92.1%, 35/38 例) では小胞巣状構造や孤在性構造などの充実型低分化腺癌以外の組織型が部分的に認められた。
- (4) 髓様癌は非髓様癌と比べて、静脈侵襲やリンパ管侵襲、リンパ節転移が有意に少なかった ($P=0.002$, $P<0.001$, $P<0.001$)。
- (5) 髓様癌は非髓様癌より、無病生存期間が良好であった ($P=0.017$)。全生存期間の有意差は

認められなかった (P=0.079)。

以上(1)~(5)から、低分化充実型胃癌では、癌微小環境のうち間質の多寡が臨床病理学的因子や予後に影響を与える可能性が示唆された。今後、胃癌の一亜型として髄様癌が、病理組織診断に導入されることが臨床病理学的に有益であると考えられた。

時計遺伝子 DEC の発現とアポトーシスの関係の検討

- (1) TE-11 にシスプラチンを投与すると、DEC2 の発現は低下したが、DEC1 の発現が亢進した。
- (2) シスプラチン投与下で、DEC2 を過剰発現させると、アポトーシス促進因子である Bim の発現が低下し、抗アポトーシス因子である Bcl-xL の発現が亢進した。一方、シスプラチン投与下で DEC1 を過剰発現させたが、アポトーシス関連因子の発現に変化はみられなかった。
- (3) シスプラチン投与下で DEC2 の過剰発現は、TE-11 の細胞生存率を上昇させ、アポトーシスを減少させた。

以上(1)~(3)から、DEC2 が TE-11 に対して抗アポトーシス作用を示すと考えられた。シスプラチン投与下で DEC2 を抑制することは、食道癌において有効な治療となる可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 20 件)

1. Diagnostic Significance of HRAS Mutations in Epithelial-Myoepithelial Carcinomas Exhibiting a Broad Histopathologic Spectrum.
Urano M, Nakaguro M, Yamamoto Y, Hirai H, Tanigawa M, Saigusa N, Shimizu A, Tsukahara K, Tada Y, Sakurai K, Isomura M, Okumura Y, Yamaguchi H, Matsubayashi J, Nagao T
The American journal of surgical pathology 2019 年 3 月、査読有り
2. Phase II Trial of Trastuzumab and Docetaxel in Patients With Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Salivary Duct Carcinoma.
Takahashi H, Tada Y, Saotome T, Akazawa K, Ojiri H, Fushimi C, Masubuchi T, Matsuki T, Tani K, Osamura RY, Hirai H, Yamada S, Kawakita D, Miura K, Kamata SE, Nagao T
Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology JC01800545 2018 年 11 月、査読有り
3. 嗅神経芽細胞腫の再発による異所性 ACTH 症候群
金澤 昭, 安部 浩則, 平井 秀明, 岡本 伊作, 小田原 雅人
東京医科大学雑誌 76(4) 347-354 2018 年 10 月、査読有り
4. 肋骨発生骨膜性軟骨肉腫の治療経験
西田 淳, 永井 太郎, 遠藤 健司, 松原 泰輔, 萩原 優, 平井 秀明, 眞田 知英
東京医科大学雑誌 76(4) 355-361 2018 年 10 月、査読有り
5. Neovascularization of gastric submucosa-invasive adenocarcinoma.
Sasaki H, Morohashi S, Toba T, Seino H, Yoshizawa T, Hirai H, Haga T, Wu Y, Kijima H
Oncology letters 16(3) 3895-3900 2018 年 9 月、査読有り
6. The high expression of FOXA1 is correlated with a favourable prognosis in salivary duct carcinomas: A study of 142 cases.
Urano M*, Hirai H*, Tada Y* (*equally contributor), Kawakita D, Shimura T, Tsukahara K, Kano S, Ozawa H, Okami K, Sato Y, Fushimi C, Shimizu A, Takase S, Okada T, Sato H, Imanishi Y, Otsuka K, Watanabe Y, Sakai A, Ebisumoto K, Togashi T, Ueki Y, Ota H, Sato Y, Saigusa N, Nakaguro M, Hanazawa T, Nagao T
Histopathology 2018 年 7 月、査読有り
7. Prognostic and histogenetic roles of gene alteration and the expression of key potentially actionable targets in salivary duct carcinomas.
Shimura T*, Tada Y*, Hirai H* (*equally contributor), Kawakita D, Kano S, Tsukahara K, Shimizu A, Takase S, Imanishi Y, Ozawa H, Okami K, Sato Y, Sato Y, Fushimi C, Takahashi H, Okada T, Sato H, Otsuka K, Watanabe Y, Sakai A, Ebisumoto K, Togashi T, Ueki Y, Ota H, Ando M, Kohsaka S, Hanazawa T, Chazono H, Kadokura Y, Kobayashi H, Nagao T
Oncotarget 9(2) 1852-1867 2018 年 1 月、査読有り
8. Intraoperative Adjunctive Mitomycin C and Cryotherapy for Recurrent Conjunctival Papillary Sebaceous Carcinoma.
Monai N, Tanabu R, Gonome T, Yokoi K, Urushidate S, Morohashi S, Hirai H, Kurose A, Nakazawa M
Case reports in ophthalmology 9(1) 221-226 2018 年 1 月、査読有り
9. A prospective phase II study of combined androgen blockade in patients with androgen receptor-positive metastatic or locally advanced unresectable salivary gland carcinoma.
Fushimi C, Tada Y, Takahashi H, Nagao T, Ojiri H, Masubuchi T, Matsuki T, Miura K, Kawakita D, Hirai H, Hoshino E, Kamata S, Saotome T
Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology 2017 年 12 月、査読有り
10. 肺血栓塞栓症が疑われた肺動脈内膜肉腫の 1 例

河口 洋平, 岡野 哲也, 垣花 昌俊, 梶原 直央, 大平 達夫, 丸野 恵大, 小泉 信達, 荻野 均, 平井 秀明, 帯包 妃代, 長尾 俊孝, 池田 徳彦, 仁木 利郎

肺癌 57(7) 875-876 2017年12月、査読有り

11. Biomarker immunoprofile in salivary duct carcinomas: clinicopathological and prognostic implications with evaluation of the revised classification.

Takase S, Kano S, Tada Y, Kawakita D, Shimura T, Hirai H, Tsukahara K, Shimizu A, Imanishi Y, Ozawa H, Okami K, Sato Y, Sato Y, Fushimi C, Okada T, Sato H, Otsuka K, Watanabe Y, Sakai A, Ebisumoto K, Togashi T, Ueki Y, Ota H, Hanazawa T, Chazono H, Osamura RY, Nagao T

Oncotarget 8(35) 59023-59035 2017年8月、査読有り

12. DEC2 expression antagonizes cisplatin-induced apoptosis in human esophageal squamous cell carcinoma.

Sato H, Wu Y, Kato Y, Liu Q, Hirai H, Yoshizawa T, Morohashi S, Watanabe J, Kijima H
Molecular medicine reports 16(1) 43-48 2017年7月、査読有り

13. Contrast media enhancement reduction predicts tumor response to presurgical molecular-targeting therapy in patients with advanced renal cell carcinoma.

Hosogoe S, Hatakeyama S, Kusaka A, Hamano I, Tanaka Y, Hagiwara K, Hirai H, Morohashi S, Kijima H, Yamamoto H, Tobisawa Y, Yoneyama T, Yoneyama T, Hashimoto Y, Koie T, Ohyama C

Oncotarget 8(30) 49749-49756 2017年7月、査読有り

14. Prognostic Impact of CD163+ Macrophages in Tumor Stroma and CD8+ T-Cells in Cancer Cell Nests in Invasive Extrahepatic Bile Duct Cancer.

Miura T, Yoshizawa T, Hirai H, Seino H, Morohashi S, Wu Y, Wakiya T, Kimura N, Kudo D, Ishido K, Toyoki Y, Kijima H, Hakamada K

Anticancer research 37(1) 183-190 2017年1月、査読有り

15. Myofibroblast distribution is associated with invasive growth types of colorectal cancer.

Takatsuna M, Morohashi S, Yoshizawa T, Hirai H, Haga T, Ota R, Saito K, Wu Y, Seino H, Aoyagi Y, Terai S, Kijima H

Oncology reports 36(6) 3154-3160 2016年12月、査読有り

16. Myofibroblasts of the muscle layer stimulate the malignant potential of colorectal cancer.

Takatsuna M, Morohashi S, Yoshizawa T, Hirai H, Haga T, Ota R, Wu Y, Morohashi H, Hakamada K, Terai S, Kijima H

Oncology reports 36(3) 1251-1257 2016年9月、査読有り

17. Phenotypic Characterization of Early Biliary Tract Carcinomas Proposes Two Carcinogenesis Pathways

Haga, Toshihiro Yoshizawa, Tadashi Morohashi, Satoko Hirai, Hideaki Saitou, Kensuke Ota, Rie Takatsuna, Masafumi Wu, Yuyan Fukuda, Shinsaku Kijima, Hiroshi

Hirosaki Med J 67(1) 28-38 2016年7月、査読有り

18. Morphological Analysis of the Residual Rectal Mucosa in 12 Postoperative Ulcerative Colitis Patients

Morohashi, Satoko Morohashi, Hajime Yoshizawa, Tadashi Tanaka, Masanori Mikami, Tatsuya Kagiya, Takuji Saito, Takeshi Hirai, Hideaki Haga, Toshihiro Wu, Yunyan Hakamada, Kenichi Kijima, Hiroshi

Hirosaki Med J 67(1) 92-101 2016年7月、査読有り

19. A new histological therapeutic classification system to predict eradicated and residual lymph nodes in breast cancer after neoadjuvant chemotherapy.

Morohashi S, Yoshizawa T, Seino H, Hirai H, Haga T, Ota R, Wu Y, Yoshida E, Hakamada K, Kijima H

Oncology reports 35(5) 2592-2598 2016年5月、査読有り

20. Clinicopathological significance of gastric poorly differentiated medullary carcinoma.

Hirai H, Yoshizawa T, Morohashi S, Haga T, Wu Y, Ota R, Takatsuna M, Akasaka H, Hakamada K, Kijima H

Biomedical research (Tokyo, Japan) 37(2) 84 2016年、査読有り

〔学会発表〕(計16件)

1. 唾液腺導管癌の分子病理学的新知見

平井 秀明, 多田 雄一郎, 長尾 俊孝

第108回日本病理学会総会、コンパニオンミーティング 2019年

2. Diagnostic Yield of HRAS Mutations in Epithelial Myoepithelial Carcinoma Exhibiting a Broad Histopathological Spectrum

Makoto Urano, Masato Nakaguro, Hideaki Hirai, Maki Tanigawa, Kiyooki Tsukahara, Yuichiro Tada, Toshitaka Nagao

UNITED STATES & CANADIAN ACADEMY OF PATHOLOGY 2019年

3. 唾液腺上皮筋上皮癌には HRAS 遺伝子変異が高率かつ特異的に認められる

中黒 匡人, 浦野 誠, 平井 秀明, 谷川 真希, 多田 雄一郎, 塚原 清彰, 長尾 俊孝

日本唾液腺学会 59 24-24 2018年

4. Novel approach for unresectable salivary duct carcinoma: Targeting HER2 and androgen receptor

Daisuke Kawakita, Yuichiro Tada, Chihiro Fushimi, Hideaki Takahashi, Tatsuo Masubuchi, Kouki Miura, Satoshi Kano, Kiyooki Tsukahara, Hiroyuki Ozawa, Kenji Okami, Yuichiro Sato, Akira Shimizu, Yori-hisa Imanishi, Toyoyuki Hanazawa, Mizuo Ando, Hideaki Hirai, Toshitaka Nagao

American Society of Clinical Oncology Annual Meeting 2018年

5. 肺転移をきたした耳下腺筋上皮癌の1例

渡部 顕章, 松林 純, 小池 悦子, 三宅 真司, 稲垣 敦史, 川内 ゆうか, 金子 清花, 忽滑谷 昌平, 平井 秀明, 高橋 礼典, 垣花 昌俊, 梶原 直央, 大平 達夫, 池田 徳彦, 長尾 俊孝

日本臨床細胞学会 2017年

6. 耳下腺原発リンパ上皮癌の1例

桑原 淳, 片桐 仁子, 渡部 顕章, 藤井 愛子, 鈴木 恵美子, 石原 里佳子, 五百部 浩昭, 三宅 真司, 平井 秀明, 長尾 俊孝

日本臨床細胞学会 2017年

7. 唾液腺導管癌では FOXA1 の発現が予後予測因子となる

平井 秀明, 多田 雄一郎, 川北 大介, 志村 智隆, 塚原 清彰, 加納 里志, 小澤 宏之, 大上 研二, 佐藤 雄一郎, 長尾 俊孝

日本病理学会 2017年

8. 改めて見直す唾液腺腫瘍における免疫染色の実践的な臨床病理学的意義 唾液腺腫瘍の病理診断と治療の観点から見た HER2 と AR 染色の意義

平井 秀明, 多田 雄一郎, 長尾 俊孝

第106回日本病理学会総会、コンパニオンミーティング 2017年

9. 細胞診ガイドラインの概要

平井 秀明, 鬼島 宏

日本臨床細胞学会青森県支部集会 2016年

10. 唾液腺導管癌では FOXA1 の発現が予後予測因子となる

平井 秀明, 多田 雄一郎, 川北 大介, 志村 智隆, 塚原 清彰, 加納 里志, 小澤 宏之, 大上 研二, 佐藤 雄一郎, 清水 顕, 今西 順久, 長尾 俊孝

日本唾液腺学会 2016年

11. 乳癌における術前化学療法後の残存腫瘍パターンの有用性 (Utility of residual carcinoma pattern in breast cancer after neoadjuvant chemotherapy)

諸橋 聡子, 吉澤 忠司, 清野 浩子, 平井 秀明, 羽賀 敏博, 呉 雲燕, 鬼島 宏

日本病理学会 2016年

12. DEC1 と DEC2 は前立腺癌細胞においてパクリタキセル誘導アポトーシスを制御する (DEC1 and DEC2 regulate paclitaxel-induced apoptotic pathway of human prostate cancer cells)

劉 強, 呉 雲燕, 加藤 幸夫, 吉澤 忠司, 諸橋 聡子, 平井 秀明, 高綱 将史, 羽賀 敏博, 鬼島 宏

日本病理学会 2016年

13. ヒト食道癌 TE-11 細胞において podoplanin は TGF- β 誘発性 EMT を仲介した (Podoplanin mediated TGF- β -induced EMT in human esophageal carcinoma TE-11 cells)

呉 雲燕, 劉 強, 平井 秀明, 吉澤 忠司, 加藤 幸夫, 諸橋 聡子, 鬼島 宏

日本病理学会 2016年

14. 膵管内乳頭粘液性腺癌と胆管癌の同時発症の2症例 (Two cases of synchronous intraductal papillary-mucinous carcinoma and bile duct carcinoma)

吉澤 忠司, 諸橋 聡子, 平井 秀明, 羽賀 敏博, 呉 雲燕, 鬼島 宏

日本病理学会 2016年

15. 低分化髄様胃癌の臨床病理学的特徴 (Clinicopathological significance of gastric poorly differentiated medullary carcinoma)

平井 秀明, 齋藤 絢介, 劉 強, 太田 理恵, 高綱 将史, 羽賀 敏博, 吉澤 忠司, 呉 雲燕, 諸橋 聡子, 鬼島 宏

日本病理学会 2016年

16. 予防的甲状腺切除を施行した MEN2A の1例

長澤 美幸, 諸橋 聡子, 吉澤 忠司, 平井 秀明, 羽賀 敏博, 佐々木 花恵, 村上 圭秀, 後藤 慎太郎, 呉 雲燕, 鬼島 宏

日本病理学会 2016年

〔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

6. 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

なし