

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08699

研究課題名（和文）Trefoil Factorを軸としたBarrett食道発癌機序の解明

研究課題名（英文）The mechanisms of cancer development from Barrett esophagus regarding Trefoil Factors.

研究代表者

深谷 昌秀（Fukaya, Masahide）

名古屋大学・医学部附属病院・病院講師

研究者番号：10420382

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：食道腺癌の危険因子として重要なものはBarrett上皮であり、この発癌過程の詳細を明らかとすることにより新規治療法の開発につながる可能性が高い。我々はヒト食道癌切除標本とTFF欠損マウスモデルを用いてBarrett腺癌発生に対するTFFの影響を検討した。結果、TFF1欠損マウスではBarrett上皮からの腺癌発生が認められ、さらにヒト食道腺癌においてはTFF1の発現がDNAのメチル化によって抑制されていることが明らかとなった。これらの結果により、TFF1は食道腺癌の発生を抑制する癌抑制遺伝子として作用していることが示唆された。今後はTFF1を用いた食道腺癌新規治療法の開発が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

集学的治療が発達した現在においても食道癌は致死率の高い悪性腫瘍であり、組織学的分類としては世界的には圧倒的に腺癌の割合が高い。食道腺癌は食道の慢性炎症と関連し、食道胃逆流症およびBarrett上皮と密接な関係がある。近年のプロトンポンプインヒビターなどの強力な制酸剤の発達やヘリコバクターピロリ除菌などの治療効果の発展にも関わらず、食道腺癌の症例数は世界的に増加しつつあり、新たな治療方針の開発が急務である。今回の研究成果によりBarrett上皮からの腺癌発生におけるTFF1の役割が明らかとなり、TFF1が今後の食道腺癌治療戦略に対して有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：The risk factor for esophageal adenocarcinoma is Barrett's epithelium and it is of great importance to clarify the mechanisms of its carcinogenesis to invent novel therapeutic treatment for esophageal adenocarcinoma. We evaluated surgically resected human esophageal cancer specimen and TFF-deficient mice to investigate the role of TFF in Barrett's epithelial carcinogenesis. We found that adenocarcinoma developed from Barrett's epithelium in TFF1-deficient mice, and that transcription of TFF1 gene was suppressed by DNA methylation in human esophageal adenocarcinoma. These results suggest that TFF1 functions as tumor suppressor to inhibit the development of esophageal adenocarcinoma. The novel treatment for esophageal adenocarcinoma by TFF1 can be anticipated.

研究分野：腫瘍外科

キーワード：Barrett上皮 TFF1 食道癌

1. 研究開始当初の背景

化学療法や手術療法を用いた集学的治療が発達した現在においても食道癌は致死率の高い悪性腫瘍であり、その病態の解明や新たな治療戦略が必須である。食道癌の組織学的分類は、本邦では扁平上皮癌の比率が高いが、世界的には圧倒的に腺癌の割合が高い。食道腺癌は食道の慢性炎症と関連し、食道胃逆流症 (GERD; gastroesophageal reflux disease) と密接な関係がある。近年のプロトンポンプインヒビターなどの強力な制酸剤の発達やヘリコバクターピロリ除菌などの治療効果の発展にも関わらず、食道腺癌の症例数は世界的に増加しつつあり、新たな治療方針の開発が急務である。食道腺癌のリスクファクターとして最も重要なものは Barrett 食道 (Barrett 上皮) であり、Barrett 食道から low-grade dysplasia、high-grade dysplasia を経て腺癌へと進行するものと考えられるため、この発癌過程の詳細を明らかにすることにより食道腺癌に対する新規治療法の開発につながる可能性が高い。

2. 研究の目的

本研究は Barrett 食道と食道腺癌の発生メカニズムを解明し、さらには新たな治療戦略の確立を目指すことを目的とする。Barrett 食道は食道肛門側扁平上皮が化生性変化により円柱上皮へと置換される現象であり、この円柱上皮は TFF、NOTCH、KRT18、KRT20、CDX2、KLF4 などの発現が特徴的である。このうち、特に Trefoil Factor Family (TFF) の発現が Barrett 食道に特徴的であり、TFF は Barrett 上皮のマーカーとして用いられてきた。TFF は消化管粘膜に発現する分泌型タンパクであり、3 つの subtype が存在する (TFF1、TFF2 および TFF3)。TFF の消化管粘膜における意義として粘膜上皮再生作用を持つことが従来より指摘されており、また近年では胃癌に対する癌抑制遺伝子として機能しているとする報告がある。我々はこれまでの研究で TFF 欠損マウスでは膵癌および肝細胞癌の発生が促進することを発見し、TFF の universal な臓器における癌抑制作用が示唆されている。Barrett 食道における TFF 発現の意義はこれまでに明らかにされていないが、同様の作用があるとするならば、TFF は食道腺癌に対する癌抑制遺伝子として作用していると考えられる。一方で、TFF による癌抑制効果はその作用機序が未だ明らかではない。すなわち食道における TFF 発現機構とその作用機序を解明することは、食道腺癌のみならず他の消化器癌に対する新たな治療戦略の発展につながる可能性が見込まれる。我々は TFF ノックアウトマウスモデル (TFF1-KO、TFF2-KO) に対して Barrett 上皮発生モデルを導入し、Barrett 上皮形成と Barrett 腺癌発生に対する TFF の影響を検討し、さらには食道癌に対する TFF を用いた治療戦略の確立を目標とした。

3. 研究の方法

生後 2 か月齢の野生型 (WT; wild-type) マウスと TFF 欠損マウス (TFF1-KO、TFF2-KO) に対して Barrett 上皮発生モデルである胃空腸吻合術を施行した。マウスにおける胃粘膜は噴門側が扁平上皮であり、これがヒトで言うところの食道扁平上皮に相当するものと考え、空腸はこの部位に吻合した。術後 15 か月および 20 か月の時点で食道および胃を摘出し、組織学的に検索することで Barrett 上皮形成と Barrett 腺癌発生に対する TFF の影響を検討した。また、ヒト食道腺癌切除標本を用いて免疫染色により TFF の発現および関連する Wnt 経路の活性化状況、ならびに DNA メチル化の有無を検討した。

4. 研究成果

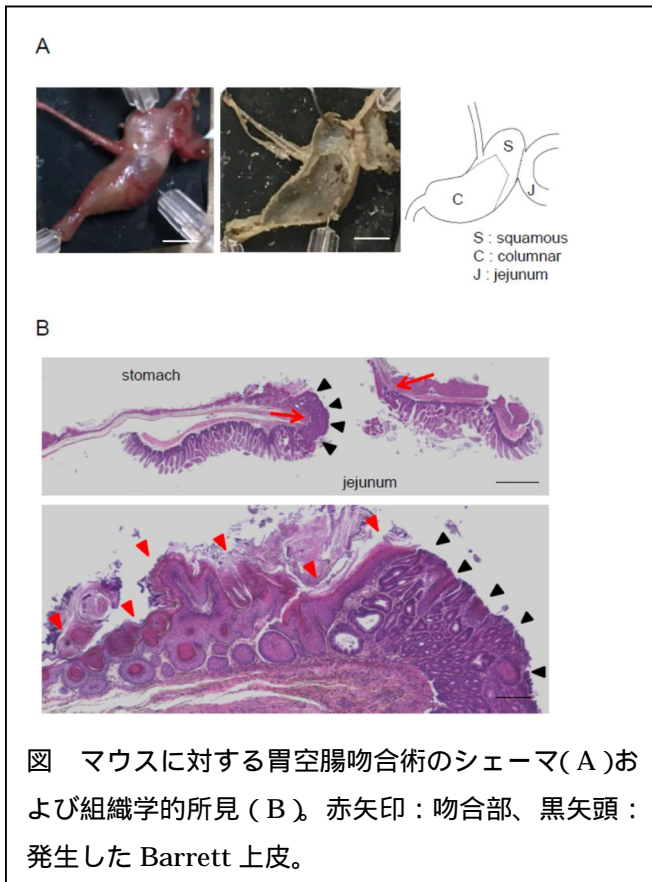


図 マウスに対する胃空腸吻合術のシーム(A)および組織学的所見(B)。赤矢印：吻合部、黒矢頭：発生した Barrett 上皮。

WT マウスに胃食道吻合術を施行したところ、その吻合部周辺に異型性を伴う化生性変化を示す円柱上皮が発生した(図)。この円柱上皮は周囲の扁平上皮や腸粘膜上皮とは明らかに異なっており、また部分的に TFF1 の発現が認められたため、Barrett 上皮が発生したものと考えられた(図)。

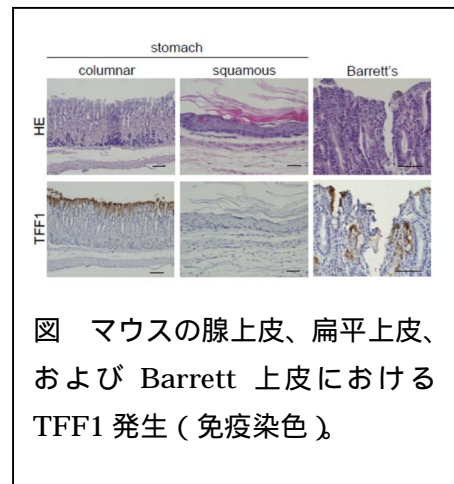


図 マウスの腺上皮、扁平上皮、および Barrett 上皮における TFF1 発生(免疫染色)。

次に、TFF1 欠損マウスおよび TFF2 欠損マウスに対して同様の胃食道吻合術を施行した。結果、両者に WT と同様の Barrett 上皮の発生が認められた。このうち、TFF2 欠損マウスでは WT と比較して特別な変化は認められなかったものの、TFF1 欠損マウスでは吻合部周辺に巨大な腫瘍の発生が認められた(15 カ月において 30% (n=3/10)、20 カ月において 67% (n=6/9))(図)。この腫瘍は組織学的には異型細胞が不整な腺管構造をとまって増殖しており、腺癌であると考えられた。これらの結果より、TFF1 欠損マウスでは扁平上皮が化生して Barrett 上皮となり、さらにそこから Barrett 腺癌が発生したものと考えられる。

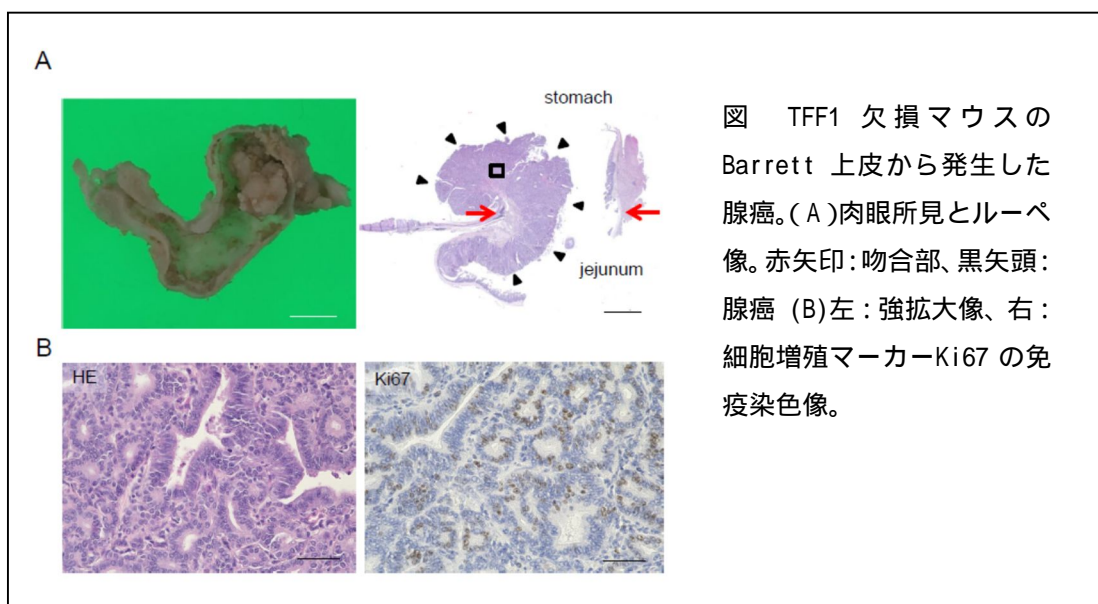


図 TFF1 欠損マウスの Barrett 上皮から発生した腺癌。(A)肉眼所見とルーペ像。赤矢印：吻合部、黒矢頭：腺癌 (B)左：強拡大像、右：細胞増殖マーカーKi67 の免疫染色像。

またヒト食道腺癌切除標本を検討したところ、Barrett 腺癌の約半数（55%， n=6/11）においては TFF1 の発現が失われていることが判明した。また TFF1 陰性例においては TFF1 プロモーター領域がメチル化されていることが確認され、epigenetic 機構による TFF1 発現抑制が誘導されていることが示唆された（図 ）。

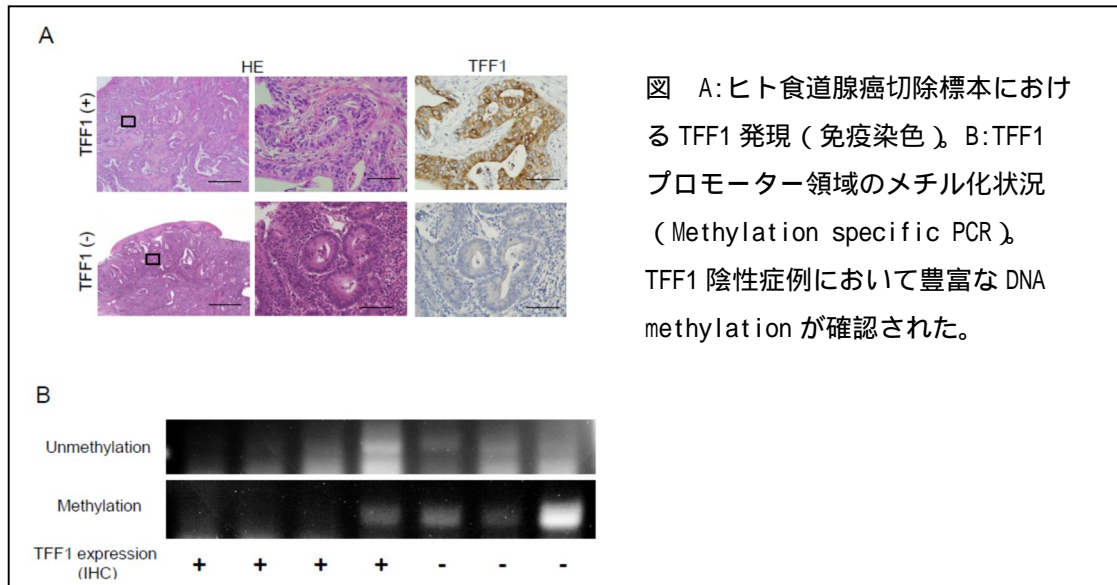


図 A:ヒト食道腺癌切除標本における TFF1 発現（免疫染色）。B:TFF1 プロモーター領域のメチル化状況（Methylation specific PCR）。TFF1 陰性症例において豊富な DNA methylation が確認された。

さらに、Wnt 経路の活性化状態を検討するため、マウスの切除標本においてβ-catenin の免疫染色を行った。結果、TFF1 欠損マウスに発生した Barrett 腺癌では約半数(44%， n=4/9)でβ-catenin の核内移行が認められ、TFF1 による Wnt 経路抑制作用が示唆された（図 ）。

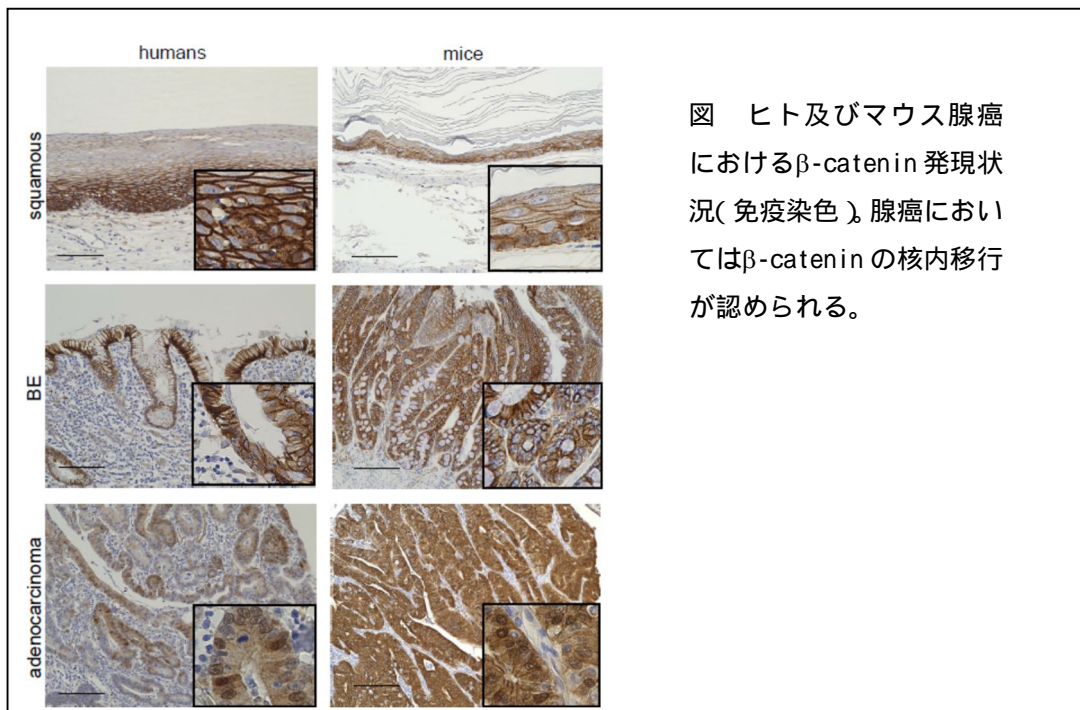


図 ヒト及びマウス腺癌におけるβ-catenin 発現状況(免疫染色)。腺癌においてはβ-catenin の核内移行が認められる。

以上より、TFF1 は Barrett 上皮において Wnt 経路を制御することで食道腺癌の発生を抑制する癌抑制遺伝子として作用していることが示唆された。今後は TFF1 を用いた食道腺癌新規治療法の開発が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	榑野 正人 (Nagino Masato) (20237564)	名古屋大学・医学系研究科・教授 (13901)	
研究分担者	國料 俊男 (Kokuryo Toshio) (60378023)	名古屋大学・医学部附属病院・講師 (13901)	
研究分担者	山口 淳平 (Yamaguchi Junpei) (00566987)	名古屋大学・医学部附属病院・講師 (13901)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関