

平成21年3月31日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007年～2008年
 課題番号：19591473
 研究課題名（和文） 新規のがん抑制遺伝子マコリンの固形癌における診断・治療への応用
 研究課題名（英文） Application research of a novel tumor suppressor gene,
 makorin, for diagnosis and therapy of solid tumors

研究代表者

白鳥 享 (TOORU SHIRATORI)
 千葉大学・医学部附属病院・講師
 研究者番号：80361434

研究成果の概要：

食道扁平上皮癌の腫瘍マーカーを SEREX 法によりスクリーニングし、新規 SEREX 抗原としてマコリン (MKRN1) を同定した。血清 MKRN1 抗体 (s-NKRN1-Abs) の陽性率は食道癌患者血清において 25%、健常者血清において 0%であった。また癌の分化度に対応して増加した。s-NKRN1-Abs は特異度の高い食道扁平上皮癌の新しい腫瘍マーカーであると考えられた。MKRN1 cDNA を ras-NIH3T3 細胞に導入したところ、顕著な形態変化が認められた。その時にユビキチン化が亢進しているタンパク質を認め、質量分析した結果、L-FILIP であると判明した。これらことから、MKRN1 は高分化型の食道癌の発生に L-FILIP のユビキチン化を介して関わっていると推定された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：食道扁平上皮癌、SEREX、makorin、腫瘍マーカー、ユビキチン

1. 研究開始当初の背景

食道扁平上皮癌は最も予後の悪い癌の一種であり、予後の改善のためには新規の腫瘍マーカーを用いた早期診断が不可欠である。SEREX 法は癌抗原の大規模スクリーニングに適しており、これまで多くのヒトがんに対して適用されてきた。

2. 研究の目的

食道扁平上皮癌の新規腫瘍マーカーを

SEREX法によりスクリーニングし、同定する。

3. 研究の方法

食道扁平上皮癌の腫瘍マーカーを SEREX 法によりスクリーニングした。血清 makorin 1 抗体 (s-MKRN1-Abs) の存在は大腸菌で発現させた makorin 1 (MLRN1) タンパク質を用いるウエスタンブロット法で判定した。組織における MLRN1 の発現は RT-PCR 法で調べた。MLRN1 の生物活性は ras-NIH3T3

マウス線維芽細胞に MLRN1 cDNA を導入して解析した。MLRN1 導入細胞における主なユビキチン化タンパク質は抗ユビキチン抗体で免疫した後、質量分析により同定した。

4. 研究成果

MLRN1 が食道扁平上皮癌の新規の SEREX 抗原として同定された。食道癌患者血清における s-MKRN1-Abs は 73 例中 18 例 (25%) で陽性であったが、健常者血清では 43 例すべて陰性であった。臨床病理学的諸因子との相関関係を検討した結果、s-MKRN1-Abs の有無は食道癌の分化度と正の相関を示したが、病期、予後その他の因子とは無関係であった。MKRN1 mRNA 発現レベルは食道癌組織において周辺の正常粘膜上皮より高かった。ras-NIH3T3 細胞の MKRN1 安定発現株は対照細胞より扁平で大きくなり、増殖が遅くなる等、正常細胞の形質を示した。MKRN1 安定発現株においては 80 と 82kDa のユビキチン化タンパク質が増加しており、質量分析の結果、このタンパク質は L-FILIP (filamin A interacting protein 1) であると判明した。

MKRN1 は新規の食道扁平上皮癌 SEREX 抗原である。s-NKRN1-Abs は特異度の高い食道扁平上皮癌の新しい腫瘍マーカーである。MKRN1 は高分化型の食道癌の発生前に L-FILIP のユビキチン化を介して関わっていると推定された。

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 18 件)

1. Akutsu, Y., Matsubara, H., Shuto, K., Uesato, M., Mori, M., Hoshino, I., Shiratori, T., Miyazawa, Y., Ito, H. and Uno, T. (2009) Clinical and pathologic evaluation of the effectiveness of neoadjuvant chemoradiation therapy in advanced esophageal cancer patients. World J. Surg. in press. 有
2. Shimada, H., Okazumi, S., Shiratori, T., Akutsu, Y. and Matsubara, H. (2009) Mode of lymphadenectomy and surgical outcome of upper thoracic esophageal squamous cell carcinoma. J. Gastrointest. Surg. in press. 有
3. Matsushita, K., Tomonaga, T., Kajiwara, T., Shimada, H., Itoga, S., Hiwasa, T., Kubo, S., Ochiai, T., Matsubara, H. and Nomura, F. (2009) c-myc suppressor FBP-interacting repressor for cancer diagnosis and therapy. Front. Biosci. 14, 3401-3408. 有
4. Shimada, H., Shiratori, T., Takeda, A., Matsushita, K., Okazumi, S., Akutsu, Y., Matsubara, H., Nomura, F. and Ochiai, T. (2009) Perioperative changes of serum p53 antibody titer is a predictor for survival in patients with esophageal squamous cell carcinoma. World J. Surg. 33, 272-277. 有
5. Hiwasa, T., Shimada, H., Kuboshima, M., Shiratori, T., Kagaya, A., Nabeya, Y., Sugano, S., Ochiai, T., Matsubara, H. and Takiguchi, M. (2009) Decrease in chemosensitivity against anticancer drugs by an esophageal squamous cell carcinoma SEREX antigen, AISEC. Int. J. Oncol. 34, 641-648. 有
6. Dong, M., Chen, S.-P., Kita, K., Ichimura, Y., Guo, W.-Z., Lu, S., Sugaya, S., Hiwasa, T., Takiguchi, M., Mori, N., Kashima, A., Morimura, K., Hirota, M. and Suzuki, N. (2009) Anti-proliferative and apoptosis-inducible activity of Sarcodonin G from Sarcodon scabrosus in HeLa cells. Int. J. Oncol. 34, 201-207. 有
7. Akutsu, Y., Matsubara, H., Okazumi, S., Shimada, H., Shuto, K., Shiratori, T. and Ochiai, T. (2008) Impact of preoperative dental plaque culture for predicting postoperative pneumonia in esophageal cancer patients. Dig. Surg. 25: 93-97. 有
8. Shimada, H., Okazumi, S., Matsubara, H., Shiratori, T., Akutsu, Y., Nabeya, Y., Tanizawa, T., Matsushita, K., Hayashi, H., Isono, K. and Ochiai, T. (2008) Long-term results after dissection of positive thoracic lymph nodes in patients with esophageal squamous cell carcinoma. World J. Surg. 32: 255-261. 有
9. Shimada, H., Shiratori, T., Okazumi, S., Matsubara, H., Nabeya, Y., Shuto, K., Akutsu, Y., Hayashi, H., Isono, K. and Ochiai, T. (2008) Have surgical outcomes of pathologic T4 esophageal squamous cell carcinoma really improved? Analysis of 268 cases during

- 45 years of experience. *J. Am. Coll. Surg.* 206: 48-56. 有
10. Iwadate, Y., Hayama, M., Adachi, A., Matsutani, T., Nagai, Y., Hiwasa, T. and Saeki, N. (2008) High serum level of plasminogen activator inhibitor-1 predicts histological grade of intracerebral gliomas. *Anticancer Res.* 28, 415-418. 有
 11. Shiratori, T., Shimada, H., Kagaya, A., Kuboshima, M., Nabeya, Y., Machida, T., Goto, K., Takiguchi, M., Ochiai, T. and Hiwasa, T. (2007) Sensitization against anticancer drugs by transfection with UBE2I variant gene into ras-NIH3T3 mouse fibroblasts. *Anticancer Res.* 27, 3227-3234. 有
 12. Kumazawa, T., Hiwasa, T., Takiguchi, M., Suzuki, O. and Sato, K. (2007) Activation of Ras signaling pathways by pyrroloquinoline quinone in NIH3T3 mouse fibroblasts. *Int. J. Mol. Med.* 19, 765-770. 有
 13. Shimada, H., Okazumi, S., Matsubara, H., Nabeya, Y., Shiratori, T., Hayashi, H., Shuto, K., Akutsu, Y. and Ochiai, T. (2007)
Is the surgical stress associated with worse survival in patients with esophageal cancer?--Analysis of colon substitution for 37 patients with remnant stomach. *Hepatogastroenterology* 54: 791-795. 有
 14. Uno, T., Isobe, K., Kawakami, H., Ueno, N., Shimada, H., Matsubara, H., Okazumi, S., Nabeya, Y., Shiratori, T., Kawata, T., Ochiai, T. and Ito H. (2007) Concurrent chemoradiation for patients with squamous cell carcinoma of the cervical esophagus. *Dis. Esophagus* 20: 12-18. 有
 15. Shimada, H., Shiratori, T., Okazumi, S., Matsubara, H., Shuto, K., Akutsu, Y., Narushima, K., Nabeya, Y., Hayashi, H. and Ochiai, T. (2007) Surgical outcome of elderly patients 75 years of age and older with thoracic esophageal carcinoma. *World J. Surg.* 31: 773-779. 有
 16. Shimada, H., Okazumi, S., Matsubara, H., Shiratori, T., Shuto, K., Akutsu, Y., Nabeya, Y., Hayashi, H. and Ochiai, T. (2007) Surgical outcome after the clearance of abdominal metastatic lymph nodes in 138 patients with thoracic esophageal carcinoma. *Am. J. Surg.* 193: 448-452 有
 17. Shimada, H., Shiratori, T., Okazumi, S., Matsubara, H., Nabeya, Y., Shuto, K., Shimizu, T., Hayashi, H. and Ochiai, T. (2007) Surgical outcome of patients with thoracic esophageal cancer positive for cervical lymph nodes. *Hepatogastroenterology* 54: 100-103. 有
 18. Shimada, H., Kuboshima, M., Shiratori, T., Nabeya, Y., Takeuchi, A., Takagi, H., Nomura, F., Takiguchi, M., Ochiai, T. and Hiwasa, T. (2007) Serum anti-myomegalin antibodies in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Int. J. Oncol.* 30, 97-103. 有
- [学会発表] (計 27 件)
1. 松本絵里子、玉井咲貴、石原顕紀、岩瀬克郎、日和佐隆樹、柴田重信、瀧口正樹 (2008) マウス肝臓における SREBP-1c 遺伝子発現の概日時計と栄養因子による制御. 第 30 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2008) (2008.12.9-12、神戸) (講演要旨集 p. 796)
 2. 吉村俊太郎、岩瀬克郎、松本絵里子、日和佐隆樹、瀧口正樹 (2008) cAMP response element binding protein (CREB) Ser133 の脱リン酸化機構の解析. 第 30 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2008) (2008.12.9-12、神戸) (講演要旨集 p. 369)
 3. 日和佐隆樹、大塚健三、岩瀬克郎、瀧口正樹 (2008) CAPN1、VDAC1、HSP90、CCNL2 による p53 レポーターの活性化. 第 30 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2008) (2008.12.9-12、神戸) (講演要旨集 p. 299)
 4. 白鳥享、島田英昭、加賀谷暁子、松原久裕、瀧口正樹、日和佐隆樹 (2008) Decrease in chemosensitivity against anticancer drugs by an esophageal squamous cell carcinoma SEREX antigen, AISEC (食道扁

- 平上皮癌SEREX抗原AISECによる抗癌剤感受性の低下). 第 67 回日本癌学会学術総会 (2008.10.28-30、名古屋) (講演要旨集 p. 441)
5. 松谷智郎、岩立康男、瀧口正樹、日和佐隆樹 (2008) Search for glioma biomarkers by SEREX (グリオーマ特異抗原の検索). 第 67 回日本癌学会学術総会 (2008.10.28-30、名古屋) (講演要旨集 p. 440)
 6. 日和佐隆樹、森居真史、関直彦、水地智基、日野祐太郎、新免奈津子、瀧口正樹 (2008) Inhibition of cell growth and transactivation of decorin by nuclear receptor COUP-TFI (核内レセプター COUP-TFI による細胞増殖阻害と decorin の転写活性化). 第 67 回日本癌学会学術総会 (2008.10.28-30、名古屋) (講演要旨集 p. 408)
 7. 新免奈津子、松谷智郎、岩立康男、瀧口正樹、日和佐隆樹 (2008) Effects of Thioredoxin-2 on the chemosensitivity against anti-cancer drugs (抗癌剤感受性に及ぼす Thioredoxin-2 の影響). 第 67 回日本癌学会学術総会 (2008.10.28-30、名古屋) (講演要旨集 p. 123)
 8. Shimada, H. and Hiwasa, T. Serological Identification of antigens by recombinant cDNA expressin cloning (SEREX) using antibodies from patients with esophageal squamous cell carcinoma
11th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus, September 10-13, 2008, Budapest, Hungary.
 9. 日和佐隆樹 (2008) セリン・プロテアーゼ・インヒビター ONO-3403 による cAMP シグナルの制御. 第 13 回病態と治療におけるプロテアーゼとインヒビター学会学術集会 (2008.8.22-23、大阪)
 10. 白鳥享、島田英昭、岡住慎一、宮澤幸正、鍋谷圭宏、首藤潔彦、清水孝典、坂田治人、阿久津泰典、松原久裕
p53 遺伝子治療後 6 年間生存中の食道癌の 1 例. 第 69 回日本消化器外科学会 (2008.7.16-18、札幌) 総会記事 p. 447
 11. 白鳥享、島田英昭、鍋谷圭宏、阿久津泰典、松原久裕、瀧口正樹、日和佐隆樹 (2008) SEREX 法により同定された新規食道癌特異抗原 makorin1 の解析. 第 108 回日本外科学会定期学術集会 (2008.5.15-17、長崎)
 12. 加賀谷暁子、島田英昭、白鳥享、鍋谷圭宏、阿久津泰典、松原久裕、岡住慎一、瀧口正樹、日和佐隆樹 (2008) 患者血清抗体価が高値を示す新規食道癌 SEREX 抗原の同定. 第 108 回日本外科学会定期学術集会 (2008.5.15-17、長崎)
 13. 中村利華、富吉郷、黒田英行、町田利生、瀧口正樹、日和佐隆樹 (2008) SEREX 法による新規動脈硬化症診断マーカーの同定. 第 4 回日本臨床プロテオーム研究会 (2008.5.10、大阪)
 14. 日和佐隆樹、島田英昭、加賀谷暁子、白鳥享、松原久裕、瀧口正樹 (2008) SEREX 法による新規食道扁平上皮癌抗原 ECSA の同定. 第 4 回日本臨床プロテオーム研究会 (2008.5.10、大阪)
 15. 岩瀬克郎、吉村俊太郎、日和佐隆樹、瀧口正樹 (2007) 神経伝達物質によるセクレトグラニン II 遺伝子の発現制御機構. 第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2007) (2007.12.11-15、横浜) (講演要旨集 p. 650)
 16. 加賀谷暁子、島田英昭、落合武徳、瀧口正樹、日和佐隆樹 (2007) 食道扁平上皮癌抗原の SEREX 法による同定と機能解析. 第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2007) (2007.12.11-15、横浜) (講演要旨集 p. 828)
 17. 越田敏史、日和佐隆樹、瀧口正樹 (2007) nicastrin による p53 の活性制御機構. 第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2007) (2007.12.11-15 横浜) (講演要旨集 p. 813)
 18. 日和佐隆樹、越田敏史、加賀谷暁子、松谷智郎、瀧口正樹 (2007) VDAC1 による p53 の転写誘導能の増強. 第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2007) (2007.12.11-15、横浜) (講演要旨集 p. 813)
 19. 田村裕、安達統衛、杉山肇、塩原紀之、日和佐隆樹、瀧口正樹 (2007) Computer assisted drug design: decorin like peptides as anticancer drugs. 第 66 回日本癌学会総会 (2007.10.3-5、横浜) (総会記事 p. 537)

20. 松谷智郎、岩立康男、日和佐隆樹、瀧口正樹、佐伯直勝 (2007) グリオーマ特異抗原の検索. 第 66 回日本癌学会総会 (2007. 10. 3-5、横浜) (総会記事 p. 167)
21. 越田敏史、日和佐隆樹、松谷智郎、瀧口正樹 (2007) nicastrin による p53 の活性制御機構. 第 66 回日本癌学会総会 (2007. 10. 3-5、横浜) (総会記事 p. 128)
22. 島田英昭、加賀谷暁子、白鳥享、瀧口正樹、野村文夫、落合武徳、日和佐隆樹 (2007) 食道扁平上皮癌 SEREX 抗原 CU-EC-10 に対する血清抗体の臨床病理学的意義. 第 66 回日本癌学会総会 (2007. 10. 3-5、横浜) (総会記事 p. 427)
23. 加賀谷暁子、島田英昭、白鳥享、落合武徳、瀧口正樹、日和佐隆樹 (2007) 食道扁平上皮癌 SEREX 抗原サイクリン L2 の同定と機能解析. 第 66 回日本癌学会総会 (2007. 10. 3-5、横浜) (総会記事 p. 163)
24. 日和佐隆樹、越田敏史、加賀谷暁子、松谷智郎、瀧口正樹 (2007) VDAC1 と Bax による p53 の活性制御機構. 第 66 回日本癌学会総会 (2007. 10. 3-5、横浜) (総会記事 p. 128)
25. 白鳥享、島田英昭、加賀谷暁子、落合武徳、瀧口正樹、日和佐隆樹 (2007) 食道扁平上皮癌 SEREX 抗原 makorin1 の同定と機能解析. 第 66 回日本癌学会総会 (2007. 10. 3-5、横浜) (総会記事 p. 163)
26. 日和佐隆樹、越田敏史、瀧口正樹 (2007) カルパインによる p53 の転写誘導能の活性化. 第 12 回病態と治療におけるプロテアーゼとインヒビター学会 (2007. 8. 3-4、大阪) (抄録 p. 48)
27. 加賀谷暁子、島田英昭、日和佐隆樹、瀧口正樹、落合武徳 (2007) 食道扁平上皮癌における新規 SEREX 抗原の同定と血清抗体の解析. 第 61 回日本食道学会学術集会 (2007. 6. 21-22、横浜) (総会記事 p. 150)

[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]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

白鳥 享 (Shiratori Tooru)
千葉大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：80361434

(2) 研究分担者

清水 孝徳 (Shimizu Takanori)
千葉大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：78375674
松下一之 (Matsushita Kazuyuki)
千葉大学・大学院医学研究院・講師
研究者番号：98344994
日和佐 隆樹 (Hiwasa Takaki)
千葉大学・大学院医学研究院・准教授
研究者番号：37260251
島田 英昭 (Shimada Hideaki)
千葉大学・大学院医学研究院・講師
研究者番号：20292691

(3) 連携研究者