

令和 5 年 4 月 13 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16952

研究課題名（和文）胃底腺型胃癌を含む胃癌の発症機序の解明：ゲノムと遺伝子発現

研究課題名（英文）Mechanism of development of gastric adenocarcinoma of fundic-gland type: Gene Expression Analysis

研究代表者

坂口 賀基 (Sakaguchi, Yoshiki)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20791445

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：胃底腺型胃癌に特異的にNKX2-1/TTF-1が発現していることを初めて示した。また網羅的遺伝子発現解析を施行した胃底腺型胃癌とは独立した胃底腺型胃癌群に対する免疫組織学的検討によりNKX2-1/TTF-1および下流のSFTPB, SFTPC, SCGB3A2を評価し、NKX2-1/TTF-1およびSFTPBが胃底腺型胃癌で有意に高発現していることを改めて示した。また胃癌細胞株にNKX2-1/TTF-1をtransductionし、SFTPB, SFTPC, SCGB3A2のtransactivationを誘導し、NKX2-1/TTF-1が胃細胞においても肺同様の機能を呈することも示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

NKX2-1/TTF-1は今まで肺・甲状腺の分化を特異的に担う転写因子と報告されており、肺癌における予後規定因子であると報告されている。一方で、他臓器の正常組織での発現や、他臓器癌の発生に関与しているという既報がない。本研究でNKX2-1/TTF-1が肺癌以外の癌組織において高発現することを初めて示したことは意義が大きい。またNKX2-1/TTF-1および下流のSFTPBなどの遺伝子群が胃底腺型胃癌の発生において重大な役割を担うことを初めて示したことも重要な知見であり、今後の胃癌発生研究に大きく貢献すると思われる。

研究成果の概要（英文）：Comprehensive gene expression analysis identified 1410 up-regulated and 1395 down-regulated gene probes; two-fold difference in expression. Among the top 30 up-regulated genes in GA-FG, we identified transcription factor NKX2-1/TTF-1, a master regulator of lung/thyroid differentiation, together with surfactant protein B (SFTPB), SFTPC, and secretoglobin family 3A member 2(SCGB3A2), which are regulated by NKX2-1/TTF-1. Immunohistochemical analysis of GA-FG specimens demonstrated significantly higher NKX2-1/TTF-1 and SFTPB levels, as compared to that in adjacent normal mucosa ( $P < 0.05$ ), while SCGB3A2 levels did not differ ( $P = 0.341$ ). Transduction of NKX2-1/TTF-1 into AGS and NUGC4 cells induced transactivation of SFTPB and SFTPC, indicating that NKX2-1/TTF-1 can function as normally in gastric cells as it can in the lung cells.

研究分野：消化器内科

キーワード：胃底腺型胃癌 NKX2-1/TTF-1 SFTPB

#### 1. 研究開始当初の背景

胃底腺型胃癌は2007年に初めて報告された概念であり、現在までに世界で111症例の報告がある。本疾患は胃底腺領域に発生する病変であるという点以外に臨床学的リスク因子・分子生物学的特徴が一切明らかになっておらず、また悪性化リスクや通常臨床経過などがまだ明らかになっていない。本疾患に対する今後の取り扱い、治療方針決定のためには臨床的特徴及び分子生物学的背景を解明することが急務である。

#### 2. 研究の目的

今回の研究の第一の目的は、ハイボリューム施設として豊富な臨床検体が得られる利点を生かし、胃底腺型胃癌に対する網羅的遺伝子発現解析(コード遺伝子、miRNAを含む非コード遺伝子)を行い、その結果を踏まえた胃底腺型胃癌特異的マーカー遺伝子の同定、遺伝子解析(変異、メチル化、microsatellite instability等の評価)を行い、本疾患の悪性化リスクを明らかにすることである。

#### 3. 研究の方法

(1) 本研究は2017年5月に東京大学医学部倫理委員会の承認を得て、症例エントリー集積を開始。胃底腺型胃癌は稀少性の高い疾患であるが、消化器癌内視鏡治療のハイボリューム施設としての特徴を生かし16例の早期胃底腺型胃癌検体を取得した。胃底腺型胃癌からのmRNA抽出を抽出し、網羅的遺伝子発現解析を施行した。Gene Set Enrichment Analysis(GSEA)及びNIHのDatabase for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID)によるPathway解析を施行し、胃底腺型胃癌の遺伝子・遺伝子発現パターンから発症機序を明らかにした。  
(2) 遺伝子発現で得られた結果を元に、胃底腺型特異的 Biomarker を胃癌細胞株に transduction し、下流遺伝子への影響を検証した。

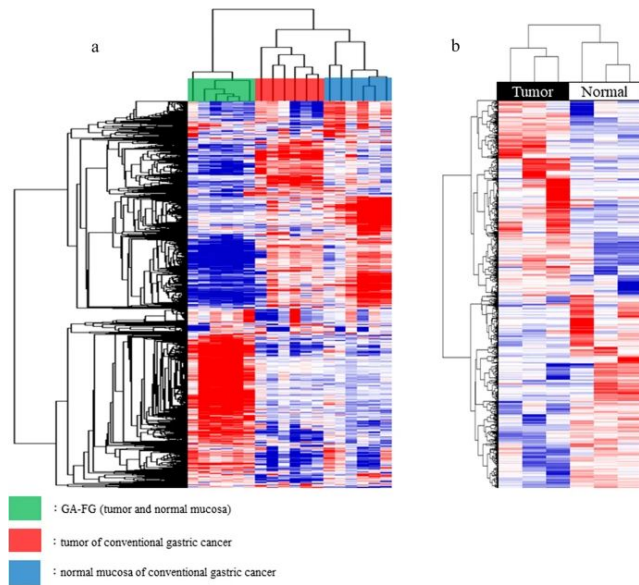
#### 4. 研究成果

胃底腺型胃癌に対して世界で初めて網羅的遺伝子発現解析を施行し、胃底腺型胃癌に特異的な遺伝子発現プロファイルを明らかにした。胃底腺型胃癌と正常胃粘膜の遺伝子発現プロファイル比較で、胃底腺型胃癌に特異的に発現上昇しているプローブの中にNKX2-1/TTF-1が含まれていた。NKX2-1/TTF-1は今まで肺・甲状腺の分化を特異的に担う転写因子と報告されており、肺癌における予後規定因子であると報告されている。一方で、他臓器の正常組織での発現や、他臓器癌の発生に関与しているという既報はない。本研究でNKX2-1/TTF-1が肺癌以外の癌組織において高発現することを初めて示したことは意義が大きい。また網羅的遺伝子発現解析を施行した胃底腺型胃癌とは独立した胃底腺型胃癌群に対する免疫組織学的検討によりNKX2-1/TTF-1および下流のSFTPB, SFTPC, SCGB3A2を評価し、NKX2-1/TTF-1およびSFTPBが胃底腺型胃癌で有意に高発現していることを改めて示した。また胃癌細胞株であるAGS・NUGC4細胞株にNKX2-1/TTF-1をtransductionし、SFTPB, SFTPC, SCGB3A2のtransactivationを誘導し、NKX2-1/TTF-1が胃細胞においても肺同様の機能を呈することも示した。これらの結果をもってNKX2-1/TTF-1および下流のSFTPBなどの遺伝子群が胃底腺型胃癌の発生において重大な役割を担うことを初めて示したことも重要な知見であり、今後の胃癌発生研究に大きく貢献すると思われる。

#### [雑誌論文]

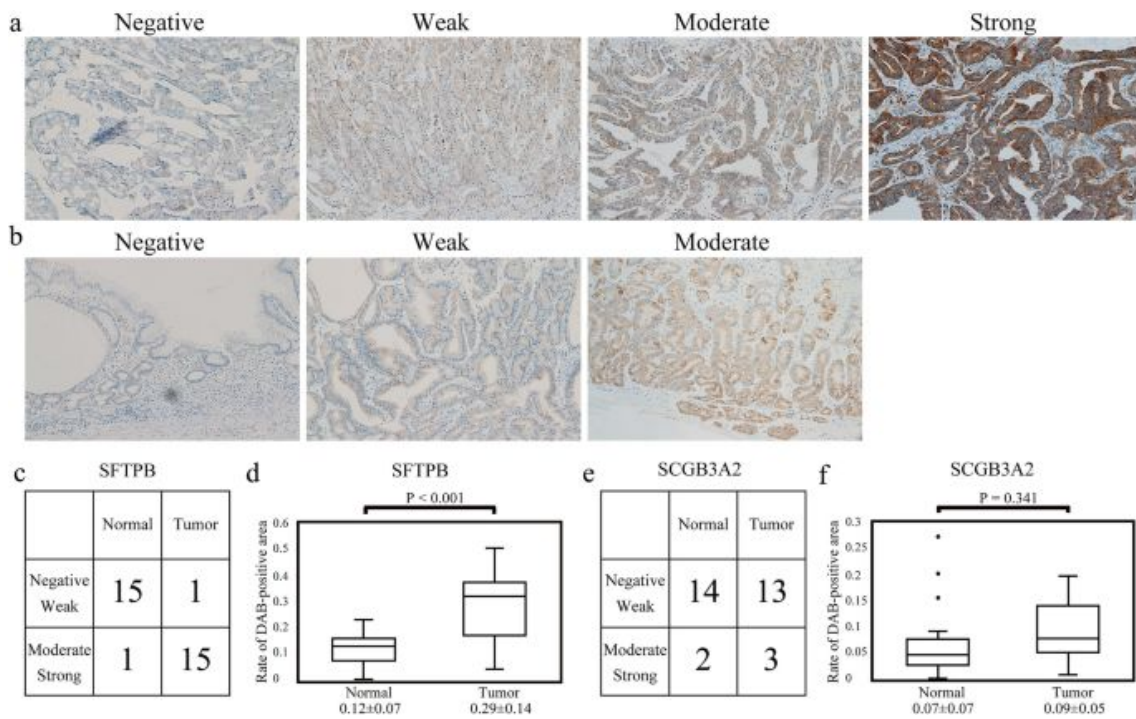
Transcriptome analysis reveals the essential role of NK2 homeobox 1/thyroid transcription factor 1 (NKX2-1/TTF-1) in gastric adenocarcinoma of fundic-gland type. Fukagawa K, Takahashi Y, Yamamichi N, Kageyama-Yahara N, Sakaguchi Y, Obata M, Cho R, Sakuma N, Nagao S, Miura Y, Tamura N, Ohki D, Mizutani H, Yakabi S, Minatsuki C, Niimi K, Tsuji Y, Yamamichi M, Shigi N, Tomida S, Abe H, Ushiku T, Koike K, Fujishiro M. Gastric Cancer. 2023 Jan;26(1):44-54. doi: 10.1007/s10120-022-01334-5. Epub 2022 Sep 12.  
PMID: 36094595

Fig.1



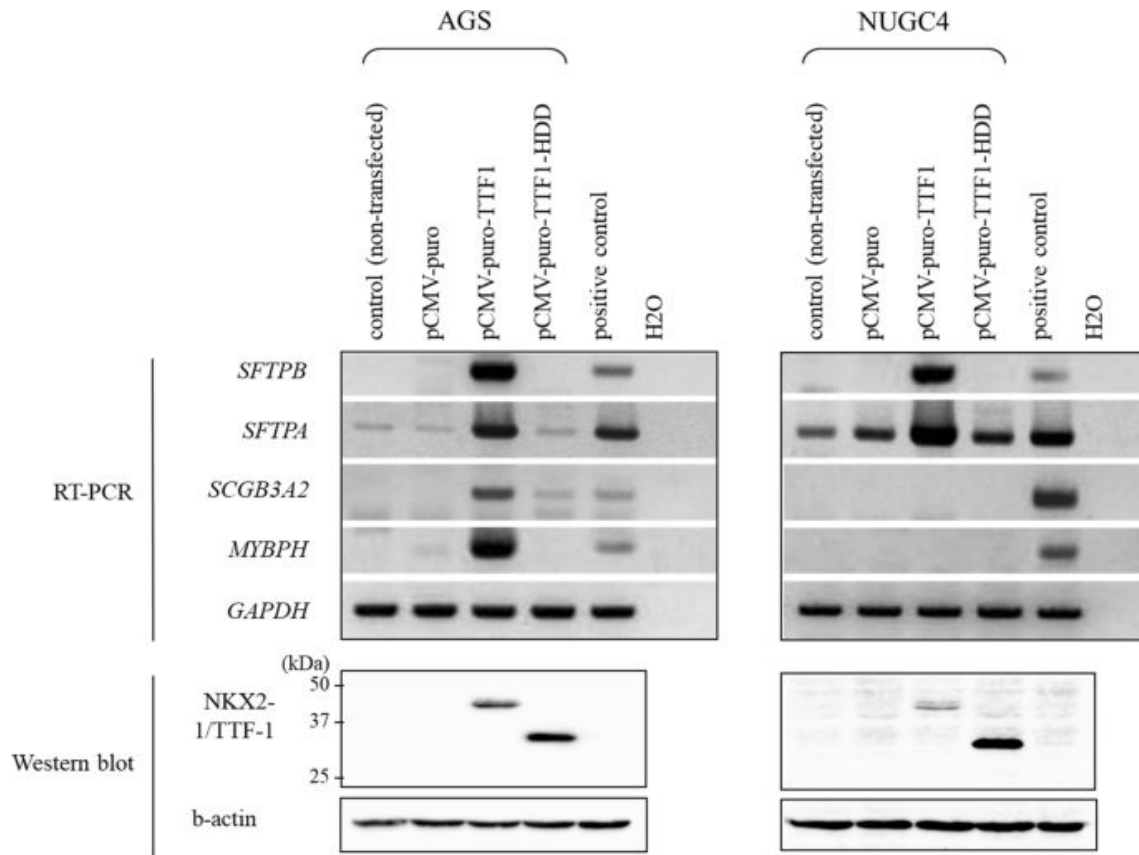
Gene expression analysis of gastric adenocarcinoma of fundic-gland type and well-differentiated adenocarcinoma of conventional gastric cancer. **a** A hierarchical cluster tree of unsupervised 2390 probes satisfying mean + 2 standard deviation criterion. **b** A hierarchical cluster tree of the 2805 probes (1410 up-regulated, 1395 down-regulated) which demonstrated over a two-fold expression difference between tumor and normal mucosa of gastric adenocarcinoma of fundic-gland type

Fig. 2



Results of immunohistochemical staining for SFTPB and SCGB3A2 protein in GA-FG. **a** The representative immunoreactivity intensity of cytoplasmic SFTPB with negative, weak, moderate, strong ( $\times 200$ ). **b** The representative immunoreactivity intensity of cytoplasmic SCGB3A2 with negative, weak, moderate ( $\times 200$ ). **c** The comparison of SFTPB expression between GA-FG and surrounding normal mucosa by immunohistochemical staining. **d** The comparison of immunohistochemical staining positive area rate of SFTPB between GA-FG and surrounding normal mucosa. **e** The comparison of SCGB3A2 expression between GA-FG and surrounding normal mucosa by immunohistochemical staining. **f** The comparison of immunohistochemical staining positive area rate of SCGB3A2 between GA-FG and surrounding normal mucosa

Fig. 3



Results of expression in AGS (left) and NUGC4 cells (right) in vitro. Upper panel; RT-PCR detecting SFTPB, SFTPA, SCGB3A2, MYBPH, and GAPDH mRNA in AGS and NUGC4 cells transfected with empty vector (pCMV-puro), wild-type NKX2-1/TTF-1 (pCMV-puro-TTF1) or homeodomain deletion mutant NKX2-1/TTF-1 (pCMV-puro-TTF1-HDD) expression constructs. MKN-1 (for SFTPB, SCGB3A2, and GAPDH), WiDr (for SFTPA), and HepG2 (for MYBPH) cells were used as positive controls. Lower panel: NKX2-1/TTF-1 protein expression was detected by western blot analysis using anti-NKX2-1/TTF-1 antibodies

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Fukagawa Kazushi, Takahashi Yu, Yamamichi Nobutake, Kageyama-Yahara Natsuko, Sakaguchi Yoshiki, et al.	4. 巻 26
2. 論文標題 Transcriptome analysis reveals the essential role of NK2 homeobox 1/thyroid transcription factor 1 (NKX2-1/TTF-1) in gastric adenocarcinoma of fundic-gland type	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gastric Cancer	6. 最初と最後の頁 44 ~ 54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10120-022-01334-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakaguchi Yoshiki, Saito Yuki, Ando Mizuo, Yoshida Masafumi, Fukuoka Osamu, Kobayashi Kenya, Kubota Dai, Ohki Daisuke, Mizutani Hiroya, Niimi Keiko, Tsuji Yosuke, Fujishiro Mitsuhiro, Yamasoba Tatsuya	4. 巻 Online ahead of print.
2. 論文標題 Risk factors for incomplete resection with pharyngeal endoscopic submucosal dissection and long-term prognosis after resection	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Surgical Endoscopy	6. 最初と最後の頁 未定
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00464-022-09820-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

東京大学医学部附属病院 消化器内科 研究実績 <a href="https://gastro.m.u-tokyo.ac.jp/about/results.html">https://gastro.m.u-tokyo.ac.jp/about/results.html</a>
---

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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------