

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 21 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤(C) (一般)

研究期間：2010 年 ~ 2012 年

課題番号：22591463

研究課題名（和文）

新しい胃癌の癌抑制遺伝子 RUNX3 の細胞分化・癌化機構の解明と予防・診断への応用

研究課題名（英文）

Analysis of novel tumor suppressor gene RUNX3 of gastric cancer and clinical application for the diagnosis and prevention of gastric cancer

研究代表者

京都府立医科大学・医学研究科・准教授 阪倉 長平 (SAKAKURA CHOUHEI)

研究者番号：10285257

研究成果の概要（和文）：

RUNX3はTGFβ依存性アポトーシスに重要な役割を果たしており、放射線化学療法の感受性に関与していることが明らかになった (Oncogene, Sakakura et al., 2007)。また我々はRUNX3ノックアウトマウスとAPCノックアウトマウスの掛け合せにより大腸病変の発生を確認している。大腸癌の発癌シグナル伝達系(Wntシグナル系)とRUNX3-TGFβシグナル伝達系のオーバーラップする分子(TCF4)も同定されており (Cancer Cell, Ito et al, 2009)、今後更なる発展が期待しうる。我々は日立ソフトLuminexシステムにより、多数の検体における複数遺伝子のメチル化を定量的に短時間で測定しうる迅速血清診断システムを確立し、実地臨床に応用可能しつつある。

研究成果の概要（英文）：

Based on the analysis result of RUNX3 knockout mouse as well as clinical samples of gastric cancer, the following was developed aiming at the functional analysis of RUNX3, and gene diagnosis and the application to carcinogenic prevention and medical treatment.

We have already identified several kinds of markers of a gastric cancer precursor cell, and are looking for a stomach cancer precursor cell in the background membrane of an early frequent occurrence stomach cancer excision specimen. Moreover, clinical application of novel HDAC inhibitor FK228, SAHA, etc. has being carried out.

We are examining a carcinogenic inhibiting effect with a mouse chemical carcinogenesis model, and considered that it can applied for the cancer prevention using RUNX3 as the molecular target.

Furthermore, RUNX3 has played the role important for TGFbeta dependence apoptosis, and participating in the susceptibility of a radiation chemistry treatment became clear (Oncogene, Sakakura et al., 2007).

Moreover, we are checking generating of a large intestine pathological change by crossing of RUNX3 knockout mouse and an APC knockout mouse. The molecule (TCF4) which the carcinogenic signal transfer system (Wnt signal system) of colorectal cancer and a RUNX3-TGFbeta signal transfer system overlap is also identified (Cancer Cell, Ito et al, 2009), and the further development can expect from now on.

With Luminex system, we establish the quick serological-diagnosis system which can measure quantitatively methylation of two or more genes in many samples in a short time, and are trying for clinical application.

交付決定額

(金額単位：円)

|          | 直接経費      | 間接経費    | 合計        |
|----------|-----------|---------|-----------|
| 平成 22 年度 | 1,600,000 | 480,000 | 2,080,000 |
| 平成 23 年度 | 800,000   | 240,000 | 1,040,000 |
| 平成 24 年度 | 800,000   | 240,000 | 1,040,000 |
| 年度       |           |         |           |
| 年度       |           |         |           |
| 総計       | 3,200,000 | 960,000 | 4,160,000 |

研究分野：外科

科研費の分科・細目：消化器外科学

キーワード：胃癌、癌抑制遺伝子、RUNX3

1. 研究開始当初の背景

これまでに我々は、世界に先駆けて Runx3 ノックアウトマウスを作製し、その解析より RUNX3 遺伝子が胃粘膜の発生や分化に重要な役割をはたしており、この異常が胃粘膜の脱分化や異常増殖や癌化に関連することを示した。

2. 研究の目的

前年度までの RUNX3 ノックアウトマウスや胃癌細胞株、胃癌臨床検体での解析結果に基づき、より詳細な RUNX3 の機能解析と遺伝子診断や発癌予防・治療への応用を目指す。

3. 研究の方法

- a. 胃癌発生母地、特に腸上皮化生や残胃粘膜、残胃癌での RUNX3 の発現変化の検討
- b. 胃癌臨床検体及び周囲背景粘膜における胃癌前駆細胞のスクリーニング
- c. 胃癌発生リスク評価への応用・胃癌前駆細胞の探索とその追跡調査（コホート研究）
- d. 複数遺伝子MSPによる遺伝子診断、定量的検査の自動化・血清診断への応用
- e. ラット・マウス化学発癌モデルを用いた RUNX3 遺伝子発現誘導による発癌予防実験

などを行った。

4. 研究成果

既に我々は、胃癌前駆細胞のマーカーを数種類同定しており、早期多発胃癌切除標本の背景粘膜において胃癌前駆細胞を探索しつつある。また新しい HDAC 阻害

剤FK228やSAHAなどが開発され臨床応用されつつある。我々はこれらの薬剤が RUNX3 を発現誘導し、マウス化学発癌モデルにて発癌抑制効果を示すことを確認しており、RUNX3 を分子標的とした発癌予防や癌治療に応用しようと考えている。さらに RUNX3 は TGFβ 依存性アポトーシスに重要な役割を果たしており、放射線化学療法感受性に関与していることが明らかになった (Oncogene, Sakakura et al., 2007)。また我々は RUNX3 ノックアウトマウスと APC ノックアウトマウスの掛け合せにより大腸病変の発生を確認している。大腸癌の発癌シグナル伝達系(Wntシグナル系)と RUNX3-TGFβシグナル伝達系のオーバーラップする分子(TCF4)も同定されており (Cancer Cell, Ito et al, 2009)、今後更なる発展が期待しうる。我々は日立ソフト Luminex システムにより、多数の検体における複数遺伝子のメチル化を定量的に短時間で測定しうる迅速血清診断システムを確立し、実地臨床に応用可能しつつある。

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 16 件)

1. Total pancreatectomy for pancreatic carcinoma: evaluation of safety and efficacy.

Kitagawa M, Ikoma H, Ochiai T, Ishii H, Shiozaki A, Kuriu Y, Nakanishi M, Ichikawa D, Okamoto K, Fujiwara H, Sakakura C, Kokuba Y, Sonoyama T, Otsuji E. Hepatogastroenterology,

- 59:907-910 (2012) (査読有)
2. Use of Multidetector-row computed tomography to evaluate branch duct type intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: influence on surgical decision-making.  
Ishii H, Taniguchi H, Shiozaki A, Kuriu Y, Ikoma H, Nakanishi M, Ichikawa D, Fujiwara H, Okamoto K, Ochiai T, Kokuba Y, Sakakura C, Sonoyama T, Otsuji E. *Hepatogastroenterology*, 59:115-116 (2011) (査読有)
  3. REGIV as a potential biomarker for peritoneal dissemination in gastric adenocarcinoma.  
Moon JH, Fujiwara Y, Nakamura Y, Okada K, Hanada H, Sakakura C, Takiguchi S, Nakajima K, Miyata H, Yamasaki M, Kurokawa Y, Mori M, Doki Y. *J Surg Oncol*, 10: 1002/JSO 22021 (2011) (査読有)
  4. Prognostic impact of microscopic positive margin in gastric cancer patients.  
Nagata T, Ichikawa D, Komatsu S, Inoue K, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Sakakura C, Otsuji E. *J Surg Oncol*, 104:592-597 (2011)  
(査読有)
  5. OSNA-based novel molecular testing for lymph node metastases in colorectal cancer patients: results from a multicenter clinical performance study in Japan.  
Yamamoto H, Sekimoto M, Oya M, Yamamoto N, Konishi F, Sasaki J, Yamada S, Taniyama K, Tominaga H, Tsujimoto M, Akamatsu H, Yanagisawa A, Sakakura C, Kato Y, Matsuura N. *Ann Surg Oncol*, 18:1891-1898 (2011)  
(査読有)
  6. Expression of Cancer Stem Cell Markers CD133 and CD44 in Locoregional Recurrence of Rectal Cancer  
Nagata T, Sakakura C, Komiyama S, Miyashita A, Nishio M, Murayama Y, Komatsu S, Shiozaki A, Kuriu Y, Ikoma H, Nakanishi M, Ichikawa D, Fujiwara H, Okamoto K, Ochiai T, Kokuba Y, Sonoyama T and Otsuji E  
*Anticancer Res*, 31:495-500 (2011)  
(査読有)
  7. Gastrointestinal Stromal Tumor in a Patient with Neurofibromatosis: Abscess Formation in the Tumor Leading to Bacteremia and Seizure.  
Kitagawa M, Koh T, Nakagawa N, Kondo Y, Nishio M, Oguro A, Sakakura C, Nanri M, Otsuji E. *Case Rep Gastroenterol*, 4:435-442, (2010)  
(査読有)
  8. Salvage surgery for uncontrollable hepatocellular carcinoma treated with repeated non-surgical therapies.  
Ochiai T, Sonoyama T, Ikoma H, Kuriu Y, Nakanishi M, Kubota T, Kikuchi S, Ichikawa D, Fujiwara H, Okamoto K, Sakakura C, Kokuba Y, Otsuji E. *Hepatogastroenterology*, 57:858-864 (2010) (査読有)

9. RUNX3 promoter methylation in colorectal cancer: its relationship with microsatellite instability and its suitability as a novel serum tumor marker.  
Nishio M, Sakakura C, Nagata T, Komiyama S, Miyashita A, Hamada T, Kuryu Y, Ikoma H, Kubota T, Kimura A, Nakanishi M, Ichikawa D, Fujiwara H, Okamoto K, Ochiai T, Kokuba Y, Sonoyama T, Ida H, Ito K, Chiba T, Ito Y, Otsuji E. *Anticancer Res*, 30:2673-2682 (2010) (査読有)
10. Surgical treatment of hepatocellular carcinoma with severe intratumoral arterioportal shunt.  
Ishii H, Sonoyama T, Nakashima S, Nagata H, Shiozaki A, Kuriu Y, Ikoma H, Nakanishi M, Ichikawa D, Fujiwara H, Okamoto K, Ochiai T, Kokuba Y, Sakakura C, Otsuji E. *World J Gastroenterol*, 16:3211-3214 (2010) (査読有)
11. A case report of metastatic neuroendocrine carcinoma of the right adrenal gland successfully treated with chemotherapy and surgery.  
Ochiai T, Komiyama S, Ikoma H, Kubota T, Nakanishi M, Ichikawa D, Kikuchi S, Fujiwara H, Sakakura C, Kokuba Y, Sonoyama T, Otsuji E. *Int J Clin Oncol*, 15:423-427 (2010) (査読有)
12. Application of polyethylene glycolic acid felt with fibrin sealant to prevent postoperative pancreatic fistula in pancreatic surgery.  
Ochiai T, Sonoyama T, Soga K, Inoue K, Ikoma H, Shiozaki A, Kuriu Y, Kubota T, Nakanishi M, Kikuchi S, Ichikawa D, Fujiwara H, Sakakura C, Okamoto K, Kokuba Y, Otsuji E. *J Gastrointest Surg*, 14:884-890 (2010) (査読有)
13. Tissue factor pathway inhibitor 2 (TFPI2) is frequently silenced by aberrant promoter hypermethylation in gastric cancer.  
Takada H, Wakabayashi N, Dohi O, Yasui K, Sakakura C, Mitsufuji S, Taniwaki M, Yoshikawa T. *Cancer Genet Cytogenet*, 197:16-24 (2010) (査読有)
14. Clinicopathological Characteristics of Colorectal Cancers That Invade the Muscularis Propria  
Miyashita A, Sakakura C, Nagata T, Nishio M, Hamada T, Miyagawa K, Kuriu N, Ikoma H, Kubota T, Nakanishi M, Ichikawa D, Kikuchi S, Fujiwara H, Okamoto K, Ochiai T, Kokuba Y, Sonoyama T, Otsuji E. *J Kyoto Pref Univ Med*, 119:165-174, (2010) (査読有)
15. Epigenetic silencing of RELN in gastric cancer  
Dohi O, Dohi O, Takada H, Wakabayashi N, Yasui K, Sakakura C, Mitsufuji S, Naito Y, Taniwaki M, Yoshikawa T.

Int J Oncol. 36: 85-92 (2010)

(査読有)

16. 新消化管の分子生物学 (第 10 回) 胃癌の癌抑制遺伝子 RUNX3 の分子生物学 TGF- $\beta$ /Wnt シグナル伝達系と RUNX3 は消化器癌にどのようにかかわっているのか?  
阪倉長平, 大辻英吾 G.I.Research 18: 151-159 頁 (2010) (査読なし)

[学会発表] (計 7 件)

1. 胃癌の新取扱い規約ガイドラインの治療成績評価の問題点

中川登, 今村泰輔, 西村幸寿, 西尾実, 高利守, 阪倉長平, 小黒厚

岡野晋次, 山根哲郎, 安川林良

第 84 回日本胃癌学会総会 (大阪)

日本胃癌学会総会 85 巻臨時増刊号 298 頁 (2012)

2. 腹腔鏡下部分切除により切除し得た胃 glomus 腫瘍の一例

阪倉長平, 今村泰輔, 西村幸寿, 西尾実, 高利守, 小黒厚, 中川登,

第 84 回日本胃癌学会総会 (大阪) (2012)

日本胃癌学会総会 85 巻臨時増刊号 326 頁 (2012)

3. stageIV 胃癌の長期生存例 stage 規定因子から見た集学的治療

(特に手術適応条件)の検討

中川登, 今村泰輔, 西尾実, 高利守, 阪倉長平, 小黒厚, 岡野晋治, 山根哲郎,

安川林良

第 112 回日本外科学会総会

日本外科学会雑誌 113 巻, 臨時増刊号 639 頁 (2012)

4. 高度肥満症に対する減量消化管手術を安全に行うための手術手技と周術期の要点-われわれの経験から-

萩原明於, 小座本雄軌, 戸川剛, 大辻英吾, 阪倉長平, 吉田俊秀, 川村功

第 112 回日本外科学会総会

日本外科学会雑誌 113 巻, 臨時増刊号 349 頁 (2012)

5. 直腸癌 DST 吻合における縫合不全リスク因子の検討と Covering ileostomy の問題点

阪倉長平, 今村泰輔, 西尾実, 高利守, 小黒厚, 中川登

第 112 回日本外科学会総会

日本外科学会雑誌 113 巻, 臨時増刊号 288 頁 (2012)

6. 肥満症に対する腹腔鏡した襟状胃切除の手術手技・周術期管理の工夫と術後 1 年以上経過時の治療成績

阪倉長平, 小座本雄軌, 戸川剛, 大辻英吾, 萩原明於, 川村 功

第 67 回日本消化器外科学会総会 (富山) (2012)

7. 微粒子活性炭による胃リンパ流検索に基づくリンパ節廓清

中川登, 今村泰輔, 西村幸寿, 西尾実, 高利守, 阪倉長平, 小黒厚

岡野晋次, 山根哲郎, 安川林良

第 67 回日本消化器外科学会総会 (富山) (2012)

[図書] (計 0 件)

〔その他〕  
ホームページ等  
大学ホームページにて本研究内容を紹介し  
ている  
<http://www.kpu-m.ac.jp/k/dgstv-surg/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

阪倉長平 (SAKAKURA CHOUHEI)  
京都府立医科大学・医学研究科・准教授  
阪倉 長平

研究者番号：10285257

### (2) 研究分担者

奥田 司 (OKUDA TSUKASA)  
京都府立医科大学・医学研究科・教授

研究者番号：30291587

千葉 勉 (CHIBA TSUTOMU)  
京都大学医学部・医学研究科・教授

研究者番号：30188487