

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 6月 12日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22591465

研究課題名（和文）

新規癌遺伝子による消化器癌の早期診断と化学放射線療法の感受性予測法の開発

研究課題名（英文）

Development of the systems in early detection and prediction of chemo and/or radiation sensitivity for digestive tract cancers using a novel cancer-associated gene, SMYD2

研究代表者

園山 輝久 (Sonoyama Teruhisa)

京都府立医科大学・医学研究科・准教授

研究者番号：70171395

研究成果の概要（和文）：

新規癌関連遺伝子 SMYD2 の化学療法・放射線療法に対する感受性遺伝子としての意義を検証した。現在まで感受性遺伝子としての意義を示すことはできていない。詳細な検討を進めている。早期診断・予後予測マーカーとして、血漿中の遊離 DNA の SMYD2 コピー数を SMYD2/RUNX3 ratio で示し、有用性を明らかにした。食道癌患者のコピー数は健常人より高値であり ($p=0.16$)、予後解析では、SMYD2 高コピー数群の予後が不良であった ($p<0.05$)。肝癌、ファーター乳頭部癌での SMYD2 発現意義についても検証した。肝癌は SMYD2 の坐位する 1q32 に増幅を持つ頻度が高く、細胞株レベルでは腫瘍の増殖、悪性度との関連を示すことができた。臨床検体での解析では現在のところ発現意義を見出せていない。乳頭部癌に関しては、SMYD2 高発現症例で静脈浸潤陽性例が多く、予後不良な傾向を認めた ($p=0.07$)。今後、研究成果を更に発展させ、国内外学会、欧文誌に積極的に報告する予定である。

研究成果の概要（英文）：

We investigated the significance of cancer-related gene, SMYD2 overexpression in the chemo and/or radiation sensitivity for digestive cancers. However, until now, we have not yet obtained the data to indicate the association. Whereas, we demonstrated that clinical impact of cancer detection and prognostic prediction using plasma DNA and its plasma SMYD2/RUNX3 ratio in esophageal squamous cell carcinoma. Furthermore, we proved that overexpression of SMYD2 is related to tumor progression in hepatocellular carcinoma cell lines. Also, higher expression of SMYD2 protein is associated with venous invasion and poorer prognosis in patients with carcinoma of the papilla of Vater. We will continue to examine the detail molecular mechanism of SMYD2 and report them in near future.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：癌遺伝子 SMYD2

1. 研究開始当初の背景

食道扁平上皮癌は、極めて悪性度の高い難治性の癌であり、手術、化学放射線療法、抗癌剤及び分子標的治療等の集学的な治療が望まれる。しかし、未だ実地臨床の現場で有望な診断及び治療標的分子は少ないのが現状である。申請者らは、既に食道扁平上皮癌の1q32-41増幅領域の再評価により、細胞増殖と腫瘍の悪性度に関わる新しい癌関連遺伝子 SMYD2 を同定した (Komatsu S. et al. *Carcinogenesis* 2009)。

SMYD2 の治療感受性遺伝子としての解析は、p53 の機能が正常で SMYD2 発現株の U2OS に対して、SMYD 特異的 siRNA によりノックダウンしてアドリマイシン処理した群と、アドリマイシンのみ処理した群では、前者がよりアポトーシスが誘導されやすいことが明らかになっている (Huang J et al. *Nature*. 2006)。この傾向は放射線照射の場合でも同様であった。すなわち、SMYD2 発現の有無は、食道癌や胃癌の抗癌剤や放射線の感受性を規定する可能性が高いと考え研究を計画した。

また、早期診断マーカーとして SMYD2 の有用性を検討した。SMYD2 が増幅遺伝子であることに注目した。近年、担癌患者の血清遊離 DNA は癌細胞の genome status を反映し、極めて有用性が高いとの報告が散見される (Diehl F and Vogelstein B et al. *Nature Med* 2008)。我々は、固形癌で高頻度にみられるゲノム1次構造変化、特に増幅遺伝子に注目して血漿遊離 DNA を解析し血中の新しいバイオマーカー同定するシステムを開発し報告した (Takashita H, Komatsu S *Br J Cancer* 2010)。SMYD2 についても検証した。

SMYD2 は、1q41 に坐位し、食道扁平上皮癌の1q32-1q41増幅領域から単離してきた癌関連遺伝子である。同じ、領域に細胞株で増幅領域を持つ癌として、肝癌、胆管癌、乳癌があり、これらの癌でも SMYD2 が細胞増殖と腫瘍の癌化に関連している可能性があり、現在解析を進めている。また、SMYD2 の増幅頻度は食道癌で約15%であるが、蛋白レベルでは約70%に発現している。この領域での増幅の報告がない他の癌種においての癌化にも関連している可能性もある。今回、肝癌、ファーター乳頭部癌においても SMYD2 高発現の意義を検証した。

2. 研究の目的

食道癌患者の化学放射線療法の治療感受性やその他消化器癌の化学療法の感受性を

予測し、治療の個別化が可能であることを検証する。SMYD2 の癌の早期診断、予後予測診断マーカーとしての可能性について検証する。また、肝癌、ファーター乳頭部癌での SMYD2 の過剰意義を検証する。

3. 研究の方法

胃癌・食道癌細胞株を用いて、siRNA による SMYD2 遺伝子ノックダウンにより治療感受性遺伝子の意義を検証する。

食道癌の血漿中の遊離 DNA を用いて TaqMan assay を用いて解析する。肝癌細胞株を用いて、SMYD2 発現の意を検証する。

また、肝癌、ファーター乳頭部癌の臨床検体を用いて SMYD2 過剰発現の臨床的意義を検証する。

4. 研究成果

新規癌関連遺伝子 SMYD2 の化学療法・放射線療法に対する感受性遺伝子としての意義を検証した。食道癌・胃癌細胞株を用いて、SMYD2 高発現細胞株に対して siRNA を用いた遺伝子ノックダウン実験による 5-FU、CDDP の抗癌剤感受性遺伝子としての評価を行った。しかし、現在まで抗癌剤感受性遺伝子としての意義を示す結果を得ることはできなかった。今後は、食道癌や胃癌の臨床検体を用いて臨床データと比較して抗癌剤・放射線感受性遺伝子としての有用性の検証を続ける予定である。

早期診断・予後予測マーカーについては、血漿中遊離 DNA を用いた SMYD2 のバイオマーカーとしての意義の検証をすすめてきた。異数性、治療・進行度による全 DNA 量の問題を回避し、単位染色体あたりの増幅コピー数を評価するために、SMYD2 (1q32) の Reference gene として同染色体腕上に存在する非増幅遺伝子である RUNX3 (1p36) を用いて、血漿遊離 DNA のコピー数を SMYD2/RUNX3 ratio で測定することとした (同研究手法は、血漿中遊離 DNA の CCND1 コピー数を CCND1/DRD2 で評価できることを報告している (Takashita H, Komatsu S *Br J Cancer* 2010))。結果、食道癌患者及び健康人の比較では、SMYD2/RUNX3 血漿遊離 DNA コピー数は健康人より高値であった ($p=0.16$)。予後解析では、SMYD2 高コピー数群の予後が不良であった ($p<0.05$)。

関連遺伝子 SMYD2 と肝癌、ファーター乳頭部癌の関連について解析を進めてきた。肝癌は SMYD2 の坐位する 1q32 に増幅を持つ頻度

が高く、細胞株レベルでは腫瘍の増殖、悪性度との関連を示すことができた。今回、国立がんセンター津田均博士の指導のもと、肝癌臨床検体においてSMYD2の生物学的意義を明らかにすべく解析を行ったが、現在のところ意義を見出せていない。今後、引き続き染色法等の検討を繰り返し行い、発現意義を明らかにする予定である。乳頭部癌に関しては、SMYD2高発現症例で静脈浸潤陽性例が多く、予後不良な傾向を認めた(p=0.07)。今後、研究成果を更に発展させ、臨床応用を目指して研究を継続する予定である。

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11件)

1: Kitagawa M, Sonoyama T, Ichikawa D, Komatsu S, Otsuji E, et al. (13 番目) Evaluation of lymph node metastasis in patients with gastric cancer: a comparison of the directionality of lymph node metastasis and the total number of metastatic lymph nodes. Surg Today. 2013; 43:130-5.

2: Iitaka D, Sonoyama T, Siozaki A, Komatsu S, Otsuji E, et al. (13 番目) A case involving long-term survival after esophageal cancer with liver and lung metastases treated by multidisciplinary therapy: report of a case. Surg Today. 2013 ;43:556-61.

3: Hatakeyama T, Sonoyama T, Siozaki A, Komatsu S, Otsuji E, et al. (13 番目) A case of a superficial carcinoma of the esophagus with isolated lymph node metastasis around the abdominal aorta. Surg Today. 2012 ;42:676-80.

4: Shiozaki A, Sonoyama T, Komatsu S, Otsuji E, et al. (12 番目) Video-assisted surgery for gastric carcinoma arising in a gastric tube reconstructed retrosternally. Surg Today. 2012; 42:209-13.

5: Tada H, Sonoyama T, Siozaki A, Komatsu S, Otsuji E, et al. (13 番目) Lymphadenectomy via a cervical approach for upper mediastinal lymph node recurrence of esophageal cancer: report of a case. Surg Today. 2011;41:1562-6.

6: Ochiai T, Sonoyama T, Komatsu S, Otsuji E, et al. (13 番目) Long-term survival of a patient with common bile duct cancer

after Virchow's node recurrence: Report of a case. Surg Today. 2011; 41:1432-5.

7: Kawaguchi T, Sonoyama T, Komatsu S, Otsuji E, et al. (13 番目) Clinical evaluation of JCGC and TNM staging on multidetector-row computed tomography in preoperative nodal staging of gastric cancer. Hepatogastroenterology. 2011; 58:838-41.

8: Okamura S, Sonoyama T, Komatsu S, Otsuji E, et al. (13 番目) Long-term survivors of esophageal carcinoma with distant lymph node metastasis. Hepatogastroenterology. 2011;58:421-5.

9: Ishii H, Sonoyama T, Ochiai T, Komatsu S, Otsuji E, et al. (13 番目) Risk factors and management of postoperative bile leakage after hepatectomy without bilioenteric anastomosis. Dig Surg. 2011; 28:198-204.

10: Kosuga T, Sonoyama T, Ichikawa D, Komatsu S, Otsuji E, et al. (13 番目) Prognostic impact of cancer-related symptoms in recurrent gastric cancer patients. Hepatogastroenterology. 2011 ;58:213-7.

11: Harada K, Sonoyama T, Ochiai T, Komatsu S, Otsuji E, et al. (15 番目) Optimal surgical treatment for patients with pT2 gallbladder cancer. Hepatogastroenterology. 2011; 58:14-9.

12: Nagata T, Sonoyama T, Sakakura C, Komatsu S, Otsuji E, et al. (17 番目) Expression of cancer stem cell markers CD133 and CD44 in locoregional recurrence of rectal cancer. Anticancer Res. 2011; 31:495-500.

[学会発表] (計0件)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況（計 0-件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
特になし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

園山 輝久 (Sonoyama Teruhisa)
京都府立医科大学・医学研究科・准教授
研究者番号：70171395

(2) 研究分担者

大辻 英吾 (Eigo Otsuji)
京都府立医科大学・医学研究科・教授
研究者番号：20244600

小松 周平 (Komatsu Shuhei)
京都府立医科大学・医学研究科・助教
研究者番号：40578978

(3) 連携研究者

該当なし ()

研究者番号：

