

令和 6 年 5 月 17 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15959

研究課題名（和文）胃癌粘膜下層浸潤の網羅的遺伝子発現解析を用いた検討

研究課題名（英文）Comprehensive Gene Expression Analysis of Submucosal Invasion in Early Gastric Cancer

研究代表者

永尾 清香（NAGAO, Sayaka）

東京大学・医学部附属病院・届出研究員

研究者番号：30908299

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：早期胃癌の粘膜下層浸潤メカニズムを解明するため、マイクロアレイ解析と免疫組織染色を行った。その結果、粘膜下層浸潤胃癌では、抗菌ペプチドDEFA5の発現が顕著に低下していた。一方、JAK-STAT経路下流のpSTAT3は粘膜下層浸潤胃癌で亢進しており、DEFA5低下部位でpSTAT3が高発現していた。DEFA5は腸内細菌叢の恒常性維持に重要であり、その発現低下が腸内環境を変化させ、STAT3を活性化して癌浸潤を促進する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、網羅的遺伝子発現解析により、早期胃癌の粘膜下層浸潤に関与する分子機構として、DEFA5発現低下とSTAT3活性化が関与している可能性が示唆された。DEFA5は腸内細菌叢制御に重要だが、癌浸潤への関与を示唆する知見が得られた点は学術的に意義深い。

本研究結果は、早期胃癌の進行機構解明に寄与する可能性を秘めており、早期胃癌の治療方針決定の精度向上とさらなる治療成績の改善につながる事が期待される。

研究成果の概要（英文）：To elucidate the mechanism of submucosal invasion in early gastric cancer, we performed microarray analysis and immunohistochemical staining. As a result, the expression of the antimicrobial peptide DEFA5 was significantly decreased in gastric cancers with submucosal invasion. On the other hand, pSTAT3, a downstream component of the JAK-STAT pathway, was upregulated in gastric cancers with submucosal invasion, and pSTAT3 was highly expressed in the areas where DEFA5 was downregulated. DEFA5 is important for maintaining intestinal microbiota homeostasis, and its downregulation could alter the intestinal environment, activating STAT3 and promoting cancer invasion.

研究分野：早期胃癌

キーワード：胃癌 粘膜下層浸潤 DEFA5 STAT3

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

胃癌は世界でも本邦においても罹患者数・死亡者数ともに多いが、遠隔転移やリンパ節転移のない、早期胃癌では予後良好とされており、胃癌の予後改善には早期診断・早期治療が重要である。早期胃癌に対しては、内視鏡的粘膜下層剥離術(ESD)が低侵襲かつ根治性が高い治療法として世界的に普及している。ESDの根治度は病理組織学的評価に基づいて下され、基準を満たさない症例では、転移リスクから追加治療が推奨されている。根治度を定める病理所見の一つに粘膜下層浸潤距離が挙げられ、500 $\mu$ m以上の粘膜下層浸潤などを認める症例では追加外科切除が推奨されている。

粘膜下層への浸潤は胃癌の進展と深く関与しているが、どのような分子機構で浸潤能を獲得し、進行胃癌へと進展するのかについては、依然として不明な点が多い。

### 2. 研究の目的

早期胃癌から進行胃癌へ進展していく過程において、浸潤能の獲得は非常に重要な役割を果たすと考えられている。

本研究では、粘膜内癌と粘膜下層浸潤癌の遺伝子発現解析を行い、粘膜下層浸潤に関わる遺伝子や経路を同定することを目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究では、倫理委員会の承認を得て、まず粘膜内癌と500 $\mu$ m以上の粘膜下層浸潤癌の生検サンプルを用いて、マイクロアレイによる遺伝子発現解析(Platform: SurePrint G3 Human Gene Expression 8x60K v3 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA))を行った。

腫瘍部位と正常な背景粘膜の両方の生検が行われ、個々の遺伝子の発現レベルは、正常粘膜における各遺伝子の発現値を、対応する腫瘍部位における発現値から差し引くことによって決定された。

得られた遺伝子発現データから、両者間で発現に有意な変動を示す遺伝子を探索した。さらにその中から、粘膜下層浸潤癌で特に顕著な発現変化を示す遺伝子セットを探索した。

また、発現変動が顕著であった遺伝子のうち、抗菌ペプチド DEFA5 やシグナル伝達分子 pSTAT3 については、免疫組織化学染色によりタンパク質レベルでも発現を検証した。2015年から2018年までの間に内視鏡治療を施行された症例のうち、分化型優位であった症例を粘膜内癌と500 $\mu$ m以上の粘膜下層浸潤癌それぞれ50症例ランダムに選定した。

### 4. 研究成果

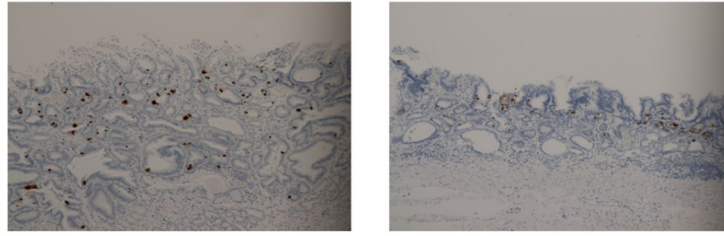
(1) 粘膜内癌と粘膜下層浸潤癌を比較したところ、通常小腸や十二指腸で高発現する遺伝子群が粘膜下層浸潤癌で発現低下していた。本研究ではすべての症例が分化型であり、小腸特異的遺伝子の発現低下は粘膜内癌と粘膜下層浸潤癌の分化度の違いによるものではないと考えられた。小腸特異的遺伝子の中でも DEFA5 および DEFA6 は粘膜下層浸潤癌で最も顕著に発現低下していた。

(2) 早期胃癌の病理検体100例を用いて DEFA5 の免疫組織化学染色を行った。粘膜内癌では DEFA5 の染色を認めたが、粘膜下層浸潤癌では DEFA5 の発現はほとんど認めなかった。さらに、高分化型腺癌に限定し、粘膜内癌と粘膜下層浸潤癌の DEFA5 陽性細胞を比較したところ、高分化型腺癌においても、粘膜下層浸潤癌では有意に DEFA5 陽性細胞が少なかった。

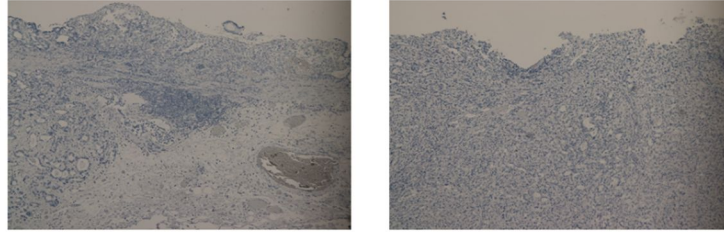
この結果から、分化度によらず、粘膜内癌と粘膜下層浸潤癌の間で DEFA5 発現に有意な差が依然として存在することが示唆された。

DEFA5

粘膜内癌



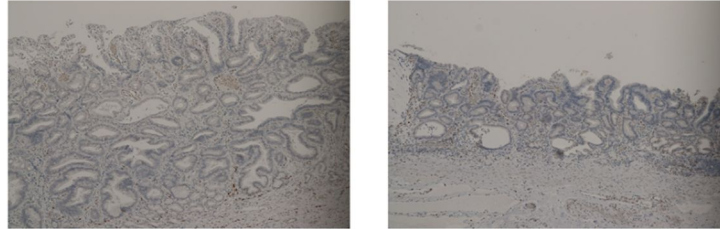
粘膜下層浸潤癌



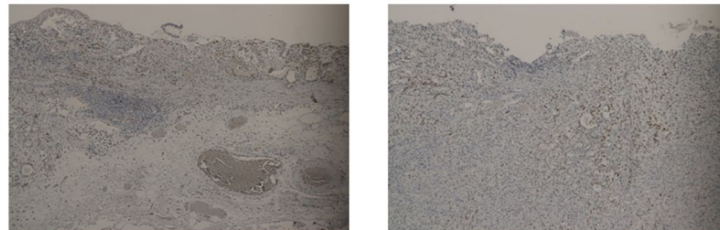
(3) GSEA 解析により、STAT3 経路が粘膜下層浸潤癌で活性化していることが示唆された。実際に pSTAT3 の発現を免疫組織化学染色で評価したところ、pSTAT3 タンパク質の発現が粘膜下層浸潤癌で顕著に増加していた。

pSTAT3

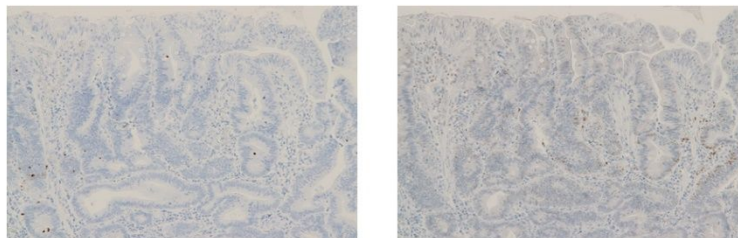
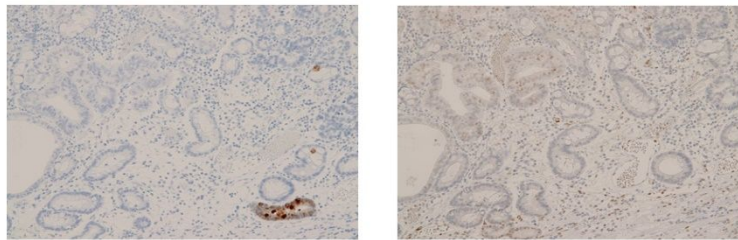
粘膜内癌



粘膜下層浸潤癌



(4) さらに DEFA5 と pSTAT3 の発現分布を比較したところ、DEFA5 発現が低下している領域で pSTAT3 は高発現しており、DEFA5 発現と pSTAT3 発現に負の相関が認められた。



DEFA5

pSTAT3

以上のように、本研究は粘膜内癌と粘膜下層浸潤癌の遺伝子発現変化をマイクロアレイと免疫組織化学染色により包括的に解析し、DEFA5 の発現低下および STAT3 経路が活性化している可能性を見出した。

DEFA5 は、通常小腸のパネート細胞から分泌される抗菌ペプチドであり、腸内細菌叢のホメオスタシスの維持に重要な役割を果たしている。粘膜下層浸潤癌における DEFA5 発現の低下により異常な腸内細菌叢が形成され、さまざまなケモカインやサイトカインの異常発現を引き起こし、その結果 JAK-STAT 経路が活性化される可能性などが考えられる。しかしながら、DEFA5 発現の低下と細菌叢の異常および腫瘍細胞浸潤との関係は、未だ完全には理解されていない。DEFA5 が腫瘍細胞浸潤にどのように影響するかについては、さらなる研究が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nagao Sayaka, Takahashi Yu, Denda Tamami, Tanaka Yukihisa, Miura Yuko, Mizutani Hiroya, Ohki Daisuke, Sakaguchi Yoshiki, Yakabi Seiichi, Tsuji Yosuke, Niimi Keiko, Kakushima Naomi, Yamamichi Nobutake, Ota Yasunori, Koike Kazuhiko, Fujishiro Mitsuhiro	4. 巻 104
2. 論文標題 Reduced DEFA5 Expression and STAT3 Activation Underlie the Submucosal Invasion of Early Gastric Cancers	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Digestion	6. 最初と最後の頁 480 ~ 493
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000531790	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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