

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 21 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23501295

研究課題名(和文) 胃癌バイオマーカーとしての血清TFF3の起源の検討

研究課題名(英文) Analysis of the origin of serum TFF3 as a biomarker for gastric cancer

研究代表者

野村 幸世 (Nomura, Sachiyo)

東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：70301819

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト胃癌発見のバイオマーカーとして、血清TFF3が高いことがわかったが、胃切除をしても血清TFF3は低下せず、その起源は胃でないことが想定された。これを調べるべく、マウス、ラットに化学発癌を施し、胃癌を作成した。担胃癌動物の血清TFF3は高値であった。ラットでは胃切除をしても血清TFF3は低下しなかった。マウス、ラットで各種臓器を摘出し、担胃癌動物でTFF3タンパク、TFF3 mRNAが上昇している臓器を同定したところ、肝臓であった。小腸、大腸では逆にTFF3の発現は低下しており、正常発現部位ではネガティブフィードバックがかかっているものと思われた。がん誘導され、肝がTFF3の起源であった。

研究成果の概要(英文)：We found that serum TFF3 was a good biomarker for human gastric cancer. However resection of stomach never made it down and the origin of high serum TFF3 was unknown. To analyze it, we made mouse and rat gastric cancer with chemical carcinogen. Serum TFF3 was high in gastric cancer bearing animals, and gastrectomy for rat never made it down. Each organ of the animals was taken out and TFF3 protein expression and mRNA expression were analyzed. As a result, the origin of high TFF3 was liver. TFF3 protein and mRNA were down-regulated in intestine and colon, the normal origin of TFF3 expression, speculated to be negative feedback. Gastric cancer is inducing TFF3 expression from liver.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：腫瘍学 バイオマーカー

キーワード：胃癌早期発見 バイオマーカー 胃癌検診 スクリーニング

1. 研究開始当初の背景

我が国においては、40歳以上の成人に胃癌検診プログラムが存在する。検診方法は自治体、事業所により、まちまちではあるが、主にバリウム透視、胃内視鏡、血清ペプシノゲン法が用いられている。血清ペプシノゲン法はその感度の低さから、血清ペプシノゲン法のみで胃癌検診を行っている自治体は少なく、バリウム透視の併用が推奨されている。これら胃癌検診にもかかわらず、胃癌治療目的に当科を訪れる患者の半数はいまだ進行がんである。この理由の一つには検診受診率の低さがある。胃癌検診を受診しない理由の一つに、バリウム透視の煩雑さ、胃内視鏡の苦痛があげられる。もっと簡便で苦痛の少ない方法で胃癌のスクリーニングが行えたら、検診受診率は向上するものと考えられる。

我々は以前から胃癌の発生母地となる背景胃粘膜について研究をすすめてきた。ヘリコバクター・ピロリ感染により惹起された萎縮性胃炎、さらにすすむと腸上皮化生は胃癌の発生母地であることはよく知られている。萎縮性胃炎においては、腺窩上皮の過形成、幽門腺化生 (Spasmplytic Polypeptide Expressing Metaplasia とほぼ同義。(SPEM)) が組織学的には存在する。腺窩上皮は TFF1 を発現し、SPEM は TFF2 を発現、また、腸上皮化生は TFF3 を発現している。

TFF (Trefoil Factor Family) は MW12-20 kD の小タンパクでその分子内 S-S 結合により、タンパク分解酵素に対しても非常に安定な三つ葉型構造をとっている。その役割はムチンの安定化であると言われているが、まだよくは解明されていない。血清 TFF は尿中に排泄さ

れ、その半減期は短い。我々は胃癌に伴う背景胃粘膜よりこれら TFF が高発現していることに着目し、血清 TFF が胃癌のバイオマーカーになりうるかを胃癌患者 183 名、健常者 280 名の血清により探った。その結果、TFF3>TFF1>TFF2>ペプシノゲン法 の順で胃癌のよきバイオマーカーであるという結果を得た。TFF はすべて現行のペプシノゲン法に勝っていたが、得に TFF3 はヘリコバクター感染の有無にかかわらず胃癌のよきバイオマーカーであった。(投稿中)

この研究において、血清 TFF の胃癌患者における上昇の起源が胃であることを確かめるために、胃切除術前後における血清 TFF の変化を調べた。その結果、血清 TFF1、TFF2 は胃切除により劇的に低下するが、最もすぐれたバイオマーカーであった血清 TFF3 には変化がないことを観察した。TFF1, 2, 3 の上昇、TFF3 の非低下は胃癌の進行度とは無関係であった。TFF3 の起源として考えられる可能性の一つ目は手術による分泌部位の変化である。手術前は胃粘膜腸上皮化生より分泌されており、手術後は胃から直接食物が落下する胃と吻合した空腸からの分泌の増加である。二つ目の可能性はもとから TFF3 は胃癌患者の背景胃粘膜から分泌されているのではなく、担がん状態に起因し、体の他の部位から分泌されている可能性である。血清 TFF3 は子宮内膜癌、バレット食道、前立腺癌などで上昇することが知られており、がん全般と関連する全身の Malignant Potential を反映するマーカーである可能性がある。これらを探るために今回の研究を計画した。

2. 研究の目的

本研究の目的は同様の現象を動物実験にて

再現し、血清 TFF3 の起源を探ることにある。血清 TFF3 の起源が明らかになったら、同動物の他臓器発がんモデルを使用し、血清 TFF3 のがん全般に対するバイオマーカーとしての可能性を探る。本研究が達成されれば、がん検診の効率化、受診率の向上、がん死亡率の減少が見込まれると同時に担がん状態におけるがんの全身的動態の解明につながる。

3. 研究の方法

ラット、スナネズミに使用できる TFF3 の ELISA システムを確立する。ラット胃化学発がんモデル、スナネズミ胃・ヘリコバクター + 化学発がんモデルを使用し、胃がん動物を作成し、血清 TFF3 の上昇を確認する。胃がんラットに対し、胃切除術を施行し、TFF3 の低下が観察されないかどうか、また、担がんではないラットに対し胃切除術を施行し、再建により TFF3 の上昇がみられるかを観察する。胃がんスナネズミの全身臓器を用い、非がんスナネズミに比し、TFF3 の発現が上昇している部位を同定する。胃がんラット、さらには子宮内膜癌ラット、前立腺癌ラットを用いて、スナネズミで同定された TFF3 上昇部位において同様に TFF3 の発現が上昇しているかどうかと血清 TFF3 の上昇を観察する。

4. 研究成果

マウスでは MNU を投与し、犠死せしめた 15 匹すべてに胃癌が認められた。ラットでも発癌剤を投与した 19 匹すべてに胃癌が三留られた。マウスでもラットでも担胃癌動物において、血清 TFF3 はコントロール動物に比して有意に高値であった。ラットでは、8 匹に胃全摘術を施行したが、術後に血清 TFF3 は低下せず、ヒトと同様の現象が認められた。

マウスで、各臓器を摘出。mRNA を抽出し、担胃癌動物とコントロール動物の TFF3 mRNA の発現を比較した。脳、肺、骨髄、脾

臓、腎臓、膵臓、心臓では担胃癌動物とコントロール動物と TFF3 mRNA に差はなかったが、肝臓において、担胃癌マウスで有意に TFF3 mRNA の発現が高値であった。空腸、回腸、大腸においては、逆に、担胃癌マウスにおいて TFF3 mRNA は低値であった。

担癌状態での血清高 TFF3 の起源は肝臓であった。通常の TFF3 の発現部位である、小腸、大腸では negative feedback がかかっているものと思われた。細胞レベルの話ではあるが、TFF3 の発現は IL-4, IL-13 で誘導されることが報告されており、ともに Th2 サイトカインであり、担癌状態の免疫抑制状態に起因して、TFF3 が高値になっている可能性が考えられた。切除にてすぐに低下しないことより、担癌状態から免疫能が回復するためには、癌を切除しても年単位の時間を要することが想定された。

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 1 件)

野村 幸世 膵癌の早期診断マーカーとしての TFF 肝胆膵 68(3)2014 特集企画 肝胆膵腫瘍のバイオインフォマティクス アークメディア

[学会発表](計 10 件)

野村幸世、愛甲丞、大本安一、郡司俊昭、松橋信行、大津洋、三浦洋菜、窪田賢輔、山形幸徳、瀬戸泰之、中島淳、上西紀夫 血清 TFF を用いた胃癌スクリーニングの可能性の検討 第 71 回日本癌学会学術総会 English Oral Sessions Molecular marker (1) 2012 年 9 月 20 日 札幌

野村幸世、愛甲丞、大本安一、多田稔、郡司俊秋、松橋信行、大津洋、三浦洋菜、窪田賢輔、山形幸徳、瀬戸泰之、中島淳、James R Goldenring、上西紀夫 胃癌、膵癌早期発見バイオマーカーとしての血清 TFF の検討 第 2 3 回日本消化器癌発生学会総会 女性研究者のセッション「悪しき古い慣習を破る研究者のセッション」WRS-1-3 2012 年 11 月 16 日 徳島

野村 幸世、愛甲 丞、大本 安一、多田 稔、大津 洋、三浦 洋菜、山形 幸徳、瀬戸 泰之、上西 紀夫 胃癌、膵癌早期発見バイオマーカーとしての血清 TFF の検討 ワークショップ 1: 消化器癌個別化治療に向けた次世代への試み WS-1-2 第 6 8 回日本消化器外科学会総会 2013 年 07 月 18 日 宮崎

野村 幸世 **血清、血漿 TFF による癌スクリーニングへの応用とその機序の解明：胃癌、膵臓がんを中心に 大原毅賞受賞講演 第 2 4 回日本消化器癌発生学会総会 2013.9.5 金沢**

野村 幸世、愛甲 丞、多田 稔、伊地知秀明、窪田 賢輔、大津 洋、中島 淳、小池 和彦、瀬戸 泰之 膵癌早期発見バイオマーカーとしての血清 TFF の検討 シンポジウム 2 発がんとかん予防の科学と実践 **第 2 4 回日本消化器癌発生学会総会 2013.9.5 金沢**

愛甲 丞、大本 安一、郡司 俊秋、松橋 信行、山形 幸徳、野村 幸世、瀬戸 泰之 胃癌発生リスクとしての血清 TFF 値・ペプシノゲン ABC 法の検討 **一般口演 4 胃がんの生物学 第 2 4 回日本消化器癌発生学会総会 2013.9.5 金沢**

野村 幸世、豊田 武士、大本 安一、大

津 洋、瀬戸 泰之 動物胃癌モデルにおける血清 TFF の検討 **ワークショップ 2 ヒトがんを外挿する動物モデル 第 2 4 回日本消化器癌発生学会総会 2013.9.6 金沢**

野村 幸世、豊田 武士、大本 安一、多田 稔、長田 梨比人、市田 晃彦、大津 洋、愛甲 丞、菅原 寧彦、國土 典宏、瀬戸 泰之 胃癌、膵癌のバイオマーカーとしての血清 TFF と動物モデルを用いたその評価 English Oral Session E15-2 バイオ・腫瘍マーカーによる診断 (3) E-2031 第 7 2 回日本癌学会学術総会 2013.10.04 横浜

Sachiyo Nomura, Takeshi Toyoda, Yasukazy Ohmoto, Minoru Tada, Rihito Nagata, Akihiko Ichida, Hiroshi Ohtsu, Susumu Aikou, Yasuhiko Sugawara, Norihiro Kokudo, James R Goldenring, Yasuyuki Seto Evaluation of Serum TFF Levels as Biomarkers for Gastric and Pancreas Cancer and Their Ascertainment in Animal Models, Poster Session, The Latest Advances in Gastric Cancer Research: From Basic Science to Therapeutics, The 4th JCA-AACR Special Joint Conference, 2013. 12. 17 Chiba

野村 幸世¹、愛甲 丞¹、郡司 俊秋²、松橋 信行²、三浦 洋菜¹、窪田 賢輔³、山形 幸徳¹、瀬戸 泰之¹、中島 淳³、上西 紀夫⁴ S4-6. 血清 Trefoil Factor Family (TFF) を用いた胃癌検診の可能性の検討 シンポジウム 4 これからの胃癌検診のあり方 第 8 6 回日本胃癌学会総会 2014. 3. 21 横浜

〔図書〕(計 件)

()

〔産業財産権〕

研究者番号：

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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野村 幸世 (NOMURA Sachiyo) (東京大学・医学部附属病院・准教授)

研究者番号：70301819

(2) 研究分担者

豊田 武士 (TOYODA Takeshi) (国立医薬品食品衛生研究所・病理部・研究員)

研究者番号：50443453

(3) 連携研究者