

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月17日現在

機関番号：15401
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23790402
 研究課題名（和文） 消化管癌転移巣の網羅的トランスクリプトーム解析と転移における癌幹細胞の意義
 研究課題名（英文） Transcriptome analysis of gastrointestinal metastasis tissues and the significance of cancer stem cells in metastasis
 研究代表者
 仙谷 和弘（SENTANI KAZUHIRO）
 広島大学・医歯薬保健学研究院・助教
 研究者番号：30508164

研究成果の概要（和文）：本研究では、トランスクリプトーム解析等を用いて、特に消化管腫瘍の転移に関連する遺伝子に焦点を当てて検討を行った。まず、転移形成において重要な役割を果たしていると考えられる3種類の癌幹細胞マーカー(ALDH1, CD44, CD133)の胃癌原発巣と転移巣における発現と臨床病理学的意義についての解析を行い、特にALDH1はdiffuse type胃癌において有意に転移巣での発現が亢進することが明らかとなった。次にマイクロアレイによって得られた候補分子であるHOXA10の胃癌における臨床病理学的解析を行った。HOXA10は749例の胃癌のうち221例(30%)に発現上昇を認め、特に深達度の浅い症例や分化度の高い組織型に多く発現していることが明らかとなった。またHOXA10は腸上皮化生や腸型粘液形質胃癌で高い頻度で陽性を示し、CDX2やMUC2の発現と有意な正の相関関係を示した。さらにHOXA10陽性胃癌は陰性胃癌と比較して有意に予後良好であったが、この理由としてHOXA10が癌細胞の細胞増殖活性や細胞運動能を制御していることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：In the present study, we searched for novel genes associated with tumor metastasis by comprehensive gene expression methods. We immunohistochemically examined expression and distribution of representative cancer stem cells (CSCs) markers ALDH1, CD44 and CD133 in primary tumors and lymph node metastasis of GC. ALDH1 positivity in diffuse-type GC was significantly higher in lymph node metastasis than in the primary tumor. Next, we screened for genes upregulated in GC from microarray and identified the HOXA10 gene. Immunohistochemically, 221 (30%) of 749 GCs were positive for HOXA10, and its expression showed a significant inverse correlation with the depth of invasion and was observed more frequently in the differentiated type of GC. HOXA10 expression was associated with GC with the intestinal mucin phenotype and correlated with CDX2 and MUC2 expression. Furthermore, the prognosis of patients with positive HOXA10 expression was significantly better than in the negative cases. MTT assay and wound healing assay using HOXA10 siRNA indicated that HOXA10 expression inhibits cell growth and motility. These results suggest that expression of HOXA10 may be a key regulator for GC with the intestinal mucin phenotype.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：診断病理学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：胃癌、癌幹細胞マーカー、粘液形質

1. 研究開始当初の背景

がんの転移機構の解明にあたって、がん幹細胞

胞の存在が注目されている。消化管癌の転移には、数多くの遺伝子の発現異常が関与しているが、特に癌幹細胞に共通して高発現する遺伝子を同定することができれば、癌の病態解明に大きく貢献できるものと思われる。

2. 研究の目的

本研究では、網羅的トランスクリプトーム解析 (SAGE 法、マイクロアレイ、CAST 法) によって得られたデータを基盤として、特に転移に関連する遺伝子の新規同定とがん幹細胞との関係に焦点を当てて解析を行った。多数の臨床検体を用いた候補分子の臨床病理学的意義の解析や既知の癌幹細胞マーカーとの関連、細胞生物学的機能の解析などを通じて、転移における役割を明らかにし、最終的には、その成果を診断、治療へ応用することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、網羅的遺伝子発現解析等を用いて得られた消化管癌関連遺伝子のうち、特に転移に関連する遺伝子に焦点を当てて解析を行った。抽出された遺伝子について、利用可能な抗体を購入し、外科的に切除された胃癌組織および大腸癌組織サンプルを用いて免疫染色を行い、臨床病理学的な因子・予後との関連を解析した。さらに胃癌原発巣と転移巣における癌幹細胞の発現の比較および形態像の変化についての検討も行った。

4. 研究成果

平成23年度は、転移形成において重要な役割を果たしていると考えられる3種類の癌幹細胞マーカー(ALDH1, CD44, CD133)の胃癌原発巣における発現と臨床病理学的意義についての解析を行い、ALDH1とCD44は原発巣よりも転移巣で陽性率が高く、特にALDH1はdiffuse type胃癌において有意に転移巣での発現が亢進することが明らかとなり、転移機構におけるこれらのマーカーの重要性が明らかとなった。次に、様々な原発不明癌の鑑別に有用とされるサイトケラチン(CK)パターンと癌関連分子の関係について胃癌870例を用いて検討したところ、CK7は胃型粘液マーカーであるMUC5ACやMUC6の発現と相関し、CK20は腸型粘液マーカーあるいは分子であるMUC2やCDX2と相関した。一方、CK7とCK20をいずれも発現しない胃癌は組織型として低分化型に多いことが明らかとなったが、既存の癌関連分子であるp53, EGFR, β -cateninとの相関は認められなかった。平成24年度はトランスクリプトーム解析によって得られた候補分子であるHOXA10の胃癌における臨床病理学的解析を行った。

HOXA10は749例の胃癌のうち221例(30%)に発現上昇を認め、特に深達度の浅い症例や分化度の高い組織型に多く発現していることが明らかとなった。またHOXA10は腸上皮化生粘膜や腸型粘液形質を示す胃癌で高い頻度で陽性を示し、腸分化を制御する分子であるCDX2の発現と有意な正の相関関係を示した。さらにHOXA10陽性胃癌は陰性胃癌と比較して有意に予後良好であったが、この理由としてHOXA10が癌細胞の細胞増殖活性や細胞運動能を制御していることが明らかとなった。

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17件)

以下は全て査読有り

1. Sentani K, Sakamoto N, Shimamoto F, Anami K, Oue N and Yasui W: Expression of olfactomedin 4 and claudin-18 in serrated neoplasia of the colorectum: A characteristic pattern is associated with sessile serrated lesion. *Histopathology* (in press)
2. Shinmei S, Sakamoto N, Goto K, Sentani K, Anami K, Hayashi T, Teishima J, Matsubara A, Oue N, Kitadai Y and Yasui W: MicroRNA-155 is a predictive marker for survival in patients with clear cell renal cell carcinoma. *Int J Urol* (in press)
3. Goto K, Oue N, Shinmei S, Sentani K, Sakamoto N, Naito Y, Hayashi T, Teishima J, Matsubara A and Yasui W: Expression of miR-486 is a potential prognostic factor after nephrectomy in advanced renal cell carcinoma. *Mol Clin Oncol* 1:235-240, 2013
4. Hayashi T, Sentani K, Oue N, Ohara S, Teishima J, Anami K, Sakamoto N, Matsubara A and Yasui W: The search for secreted protein in prostate cancer by the Escherichia coli ampicillin secretion trap: Expression of NBL1 is highly restricted in prostate and related in progression. *Pathobiology* 80:60-69, 2013
5. Anami K, Sentani K, Sakamoto N, Uraoka N, Oue N and Yasui W: Infantile adenomyoma subclinically excreted in the diaper. *Pathol Int* 62:532-537, 2012
6. Sentani K, Tashiro T, Uraoka N, Aosaki Y, Yano S, Takaeko F and Yasui W: Primary mammary mucinous cystadenocarcinoma: cytological and histological findings. *Diagn Cytopathol* 40:624-628, 2012
7. Naito Y, Oue N, Hinoi T, Sakamoto N, Sentani K, Ohdan H, Yanagihara K, Sasaki H and Yasui W: Reg IV is a direct target of

- intestinal transcription factor CDX2 in gastric cancer. *PLoS One* 7(11):e47545, 2012
8. Kumamoto T, Sentani K, Oka S, Tanaka S and Yasui W: Clinicopathologic features of minute pharyngeal lesions diagnosed by narrow banding imaging endoscopy and biopsy. *World J Gastroenterol* 18:6468-6474, 2012
 9. Sakamoto N, Oue N, Sentani K, Anami K, Uraoka N, Oo HZ, Naito Y, Hinoi T, Ohdan H, Yanagihara K, Aoyagi K, Sasaki H and Yasui W: Liver-intestine cadherin induction by epidermal growth factor receptor is associated with intestinal differentiation of gastric cancer. *Cancer Sci* 103:1744-1750, 2012
 10. Sentani K, Oue N, Naito Y, Sakamoto N, Anami K, Oo HZ, Uraoka N, Aoyagi K, Sasaki H and Yasui W: Upregulation of HOXA10 in gastric cancer with the intestinal mucin phenotype: Reduction during tumor progression and favorable prognosis. *Carcinogenesis* 33:1081-1088, 2012
 11. Takami H, Sentani K, Matsuda M, Oue N, Sakamoto N and Yasui W: Cytokeratin expression profiling in gastric carcinoma: clinicopathologic significance and comparison with tumor-associated molecules. *Pathobiology* 79:154-161, 2012
 12. Oue N, Noguchi T, Anami K, Kitano S, Sakamoto N, Sentani K, Uraoka N, Aoyagi K, Yoshida T, Sasaki H and Yasui W: Cytokeratin 7 is a predictive marker for survival in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 19:1902-1910, 2012
 13. Hayashi D, Tamura A, Tanaka H, Yamazaki Y, Watanabe S, Suzuki K, Suzuki K, Sentani K, Yasui W, Rakugi H, Isaka Y and Tsukita S: Deficiency of claudin-18 causes paracellular H⁺ leakage, up-regulation of interleukin-1beta, and atrophic gastritis in mice. *Gastroenterology* 142:292-304, 2012
 14. Wakamatsu Y, Sakamoto N, Oo HZ, Naito Y, Uraoka N, Anami K, Sentani K, Oue N and Yasui W: Expression of cancer stem cell markers ALDH1, CD44 and CD133 in primary tumor and lymph node metastasis of gastric cancer. *Pathol Int* 62:112-119, 2012
 15. Hayashi T, Oue N, Sakamoto N, Anami K, Oo HZ, Sentani K, Ohara S, Teishima J, Matsubara A and Yasui W: Identification of transmembrane protein in prostate cancer by the Escherichia coli ampicillin secretion trap: Expression of CDON is involved in tumor cell growth and invasion. *Pathobiology* 78:277-284, 2011
 16. Hayashi T, Sentani K, Oue N, Anami K, Sakamoto N, Ohara S, Teishima J, Noguchi T, Nakayama H, Taniyama, Matsubara A and Yasui W: Desmocollin 2 is a new immunohistochemical marker indicative of squamous cell carcinoma differentiation in urothelial carcinoma. *Histopathology* 59:710-721, 2011
 17. Oue N, Noguchi T, Anami K, Sentani K, Sakamoto N, Uraoka N, Wakamatsu Y, Sasaki H and Yasui W: Serum concentration and expression of Reg IV in patients with esophageal cancer: age-related elevation of serum Reg IV concentration. *Oncol Lett* 2:235-239, 2011
- [学会発表] (計 6 9 件)
1. 仙谷和弘, 坂本直也, 大上直秀, 嶋本文雄, 安井 弥: 大腸鋸歯状病変における olfactomedin 4 と claudin-18 の発現パターンの検討. 第 71 回日本癌学会学術総会, 9 月 19-21 日, 札幌, 2012
 2. 仙谷和弘, 浦岡直礼, 田代 敬, 坂本直也, 大上直秀, 安井 弥: 乳腺原発 mucinous cystadenocarcinoma の一例. 第 101 回日本病理学会総会, 4 月 26-28 日, 東京, 2012
 3. Sentani K, Oue N, Sakamoto N, Naito Y, Anami K, Oo HZ, Uraoka N and Yasui W: Upregulation of HOXA10 in intestinal phenotype gastric cancer: Reduction during tumor progression and favorable prognosis. The 21st International Symposium of the Hiroshima Cancer Seminar "Recent Progress in Carcinogenesis, Progression and Management of Upper GI Cancer", Hiroshima (Japan), November 6, 2011
 4. 仙谷和弘, 大上直秀, 坂本直也, 阿南勝宏, 安井 弥: 大腸鋸歯状病変における olfactomedin4 と claudin-18 の発現パターンの検討. 第 70 回日本癌学会学術総会, 10 月 3-5 日, 名古屋, 2011
 5. 仙谷和弘, 大上直秀, 坂本直也, 浦岡直礼, 安井 弥: 遺伝子発現プロファイルで同定した HOXA10 は胃癌の予後良好因子である. 第 20 回日本がん転移学会学術集会・総会, 6 月 30 日-7 月 1 日, 浜松, 2011
 6. 仙谷和弘, 大上直秀, 坂本直也, 阿南勝宏, 安井 弥: 大腸鋸歯状病変における olfactomedin4 と claudin-18 の発現と臨床病理学的意義. 第 100 回日本病理学会総会, 4 月 28-30 日, 横浜, 2011
- [図書] (計 1 件)
- Yasui W, Oue N and Sentani K: Chapter 33:

Molecular diagnostics of esophageal and gastric cancer. In: Principle of molecular diagnostics and personalized cancer therapy, ed. By Dongfeng Tan, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (in press)

[その他]

ホームページ等

<http://home.hiroshima-u.ac.jp/byori1/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

仙谷 和弘 (SENTANI KAZUHIRO)

広島大学・医歯薬保健学研究院・

助教

研究者番号：30508164

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：