

厚生労働科学研究費補助金研究報告書

効果的医療技術の確立推進研究事業

胃癌の分子診断に基づいた術前化学療法の確立に関する研究

平成14年度 総括研究報告書

主任研究者 前原 喜彦

平成15年（2003年）4月

目 次

I. 総括研究報告書

胃癌の分子診断に基づいた術前化学療法の確立に関する研究	1
前原喜彦	

II. 分担研究報告

1. ヒト胃癌株-ヌードラット移植モデルを用いた TS-1 と Docetaxel(TXT) 併用療法の有効性に関する基礎的研究	7
北野 正剛	
2. スキルス胃癌の特異的発現遺伝子 WISP1V に関する研究	8
森 正樹	
3. 消化器癌におけるマイクロサテライト不安定性とミスマッチ修復異常に関する研究	9
鴻江 俊治	
4. 消化器癌におけるマイクロサテライト不安定性とミスマッチ修復異常に関する研究	11
馬場 秀夫	
5. TS-1/biweekly TXT 併用療法ヒトの用量設定の為の臨床第 I 相試験	13
掛地 吉弘	
6. スキルス胃癌の特異的発現遺伝子 WISP1V に関する研究	15
田中 真二	
7. 消化器癌におけるマイクロサテライト不安定性とミスマッチ修復異常に関する研究	17
織田 信弥	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	19
---------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	21
-----------------	----

胃癌の分子診断に基づいた術前化学療法の確立に関する研究

主任研究者 前原喜彦 九州大学大学院 消化器・総合外科

研究要旨

- I 前臨床試験の結果に基づき、TS-1/biweekly TXT 併用療法ヒトの用量設定のための臨床第I相試験を遂行し、TS-1 80mg/m², TXT 30mg/m²の推奨用量が決定された。臨床第I相試験の症例のうち5例で臨床効果が評価可能で、奏効率は60%(3/5)であった。TS-1 / biweekly DOC 併用療法は進行再発胃癌の一次治療として有用性が高い可能性が示唆された。現在、推奨用量でのTS-1 / biweekly DOC 併用療法の臨床効果と安全性をさらに評価する為の臨床II相試験を準備計画中である
- II 胃癌に対するTS-1とTXT併用療法の有用性を検証するため、ヒト胃腺癌由来SC-2, St-40, 及びSC-4を移植したヌードラットを用い、併用による抗腫瘍効果及び毒性増強の有無を検討した。TS-1とTXTの併用により各々単独投与に比べ抗腫瘍効果の増強が認められ、特にTXTをDay1に併用するスケジュールでは3株とも併用効果が得られた。Day1投与ではDay8投与に比較し体重減少は軽度であった。TS-1とTXT併用療法は、臨床において有用性を検証する意義があると考えられた。
- III 我々はtargeted differential display法を用いたクローニングにより、新しい癌関連遺伝子を発表している(Tanaka et al. PNAS 1998, JCI 1998, JCI 1999)。スキルス胃癌は早期に浸潤・転移をおこすため予後が極めて悪く、新しい診断法、そして治療法の確立が急務である。今回、targeted differential display法を用いてスキルス胃癌の特異的発現遺伝子WISP1vを発見し(GenBank登録: AB034725)、WISP1v分子が分泌蛋白質であること、細胞浸潤機能を持つことを解明した(Tanaka et al. Oncogene 2001)。この新しい遺伝子の発見により、スキルス胃癌の早期診断や再発診断が可能となるばかりか、WISP1vレセプターの解析に基づくWISP1v標的治療の開発へと発展できる。このように本課題は基礎解析のみならず、臨床治療への応用をめざした画期的な研究である。
- IV DNAミスマッチ修復活性は多様な抗癌剤の感受性規定因子として知られ、その異常はマイクロサテライト不安定性により検索される。我々は従来の手法の問題点を解決した新しい解析系を確立し、胃癌を含めた多様な悪性腫瘍において網羅的に解析を行った。その結果、マイクロサテライト不安定性にはA,Bの2つのサブタイプが存在し、Aタイプがミスマッチ修復異常に直接起因する変化であることを同定した。

分担研究者；

北野正剛(大分医科大学第一外科), 森 正樹(九州大学生体防御医学研究所腫瘍外科学), 鴻江俊治(国立病院九州がんセンター消化器外科), 馬場秀夫(国立病院九州がんセンター消化器外科), 掛地吉弘(九州大学大学院医学研究院消化器外科学), 田中真二(九州大学大学院医学研究院消化器外科学), 織田信弥(国立病院九州がんセンター臨床研究部病理研究室)

A. 研究目的

- I 進行・再発胃癌症例に対して、TS-1+biweekly DOC療法の各投与量におけるDLTの発現症例を確認し、最大耐容量(MTD)を決定し、臨床第II相試験における推奨用量(RD)を探索する。
- II 胃癌に対するTS-1とTXT併用療法の有用性を検証するため、ヒト胃癌株移植ヌードラットを用いて基礎的な検討を行う。
- III スキルス胃癌は早期に浸潤・転移をおこすため予後が極めて悪く、新しい診断法、そして治療法の確立が急務である。スキルス胃癌は著しい線維性間質を特徴とする低分化型腺癌であり、転移・浸潤能が高く予後は極めて悪いことが知られているが、その転移・浸潤に関する分子生物学的機序は不明な点が多い。近年、結合組織増殖因子 connective tissue growth factor (CTGF)、血管新生因子 Cyrteine-rich 61 (CYr61)、癌遺伝子 Nephroblastoma over-expressed (Nov)、Wnt誘導遺伝子 Wnt-inducible signaling pathway (WISP)を含む新しい増殖因子ファミリーCCNが報告され、新規癌化シグナル分子群として高い注目を集めている。CCNファミリーの蛋白は、細胞外マトリックスの関連分子と相同性を持つ4つのドメインから構成されるという特徴的な分子構造を持っている。その遺伝子異常が systemic scleroderma、pseudorheumatoid dysplasiaの原因であ

ることが報告され、軟部組織の増殖、変性に機能するとされている。このように、CCNファミリーは間質-細胞相互関係に重要と考えられているが、間質に特徴を持つスキルス胃癌との関連は不明である。本研究では、我々開発したtargeted differential display法を用いて、スキルス胃癌におけるCCNファミリーの包括的遺伝子発現解析を行ない、スキルス胃癌成立における分子生物学的機序を明らかとすることを目的とした。

- IV 細胞のDNAミスマッチ修復活性は様々な抗癌剤への感受性を規定する因子としてクローズアップされている。悪性腫瘍治療において極めて重要な位置をしめる化学療法の治療ストラテジーを適正化することは急務である。しかしながら、このような重要な感受性規定因子を正確にとらえることは難しい。我々はこのミスマッチ修復異常を正確にとらえるために、独自に開発した新しい高精度マイクロサテライト不安定性解析系を用いて、ミスマッチ修復異常を与えられた切除標品において正確に同定することを研究の目的とした。

B. 研究方法

- I 進行・再発胃癌症例を対象とし、TS-1+biweekly DOC療法を行った。4週間(day1-28)を1コースとし、DOCはday1, 15に静脈内投与、TS-1はday1~14に連日経口投与して14日間休薬とする。TS-1は80mg/m²/dayに固定し、DOCは40mg/m²から開始し、以後5mg/m²ずつ60mg/m²まで増量する。
- II ヒト胃腺癌由来のSC-2, St-40, 及びSC-4腫瘍を皮下に移植したヌードラットを用い、Control, TS-1単独, TXT単独, 及びTS-1+TXT併用群を比較した。TS-1は群分け翌日(Day 1)より14日間連日経口投与(12 mg/ kg/ day)、TXTはDay1又

はDay8に静脈内投与した(2 mg/ kg)。抗腫瘍効果は腫瘍体積比(投与前の腫瘍体積に対する比)及び腫瘍増殖抑制率、毒性は体重変化率を指標としてDay15に評価した。

- III CCN consensus 配列に対する targeted differential display 法を用いて、スキルス胃癌の癌部特異的発現遺伝子を同定した。さらに、細胞への遺伝子導入による蛋白解析、機能解析を行なった。
- IV 腫瘍切除標本より抽出されたゲノムDNAを用いて、独立した染色体上に存在する2塩基繰り替えしマイクロサテライト配列を蛍光プライマーを用いたPCRにより増幅、産物を自動シーケンサーに泳動・解析、正常組織より得られたプロファイルと比較し、マイクロサテライト不安定性の有無を同定する。

C. 研究結果

- I レベル1(TS-1: 80mg/m²/day, DOC: 40mg/m²)において6例中3例にDLTが認められ、DOCをレベル1の30mg/m²に減量すると、6例中1例のみにDLTがみられた。レベル0のDOC: 35mg/m²Dで3例検討し、試験を終えた。推奨用量をTS-1 80mg/m², TXT 30mg/m²とした。

臨床第I相試験の症例のうち5例で臨床効果が評価可能であった。CR 0例、PR 3例、NC 2例、PD 0例で、奏効率は60%(3/5)であった。

- II Day1でのTXT投与では、胃癌腫瘍株3株に対する腫瘍増殖抑制率はS-1単独群38.6~55.1%、TXT単独投与群(2 mg/kg) 42.1~51.7%、TS-1 + TXT併用群68.4~72.5%と、3株全てにTS-1とTXTの併用により単独投与に比べ有意な抗腫瘍効果の増強が認められた。Day8でのTXT投与ではSC-2においてTS-1 + TXT併用は各々の単独投与より有意な抗腫瘍効果増強であった。一方毒性に関してはDay8投与した群では併用による体重減少の増強が見られたが、Day1投与では体重減少は比較的軽度であった。

- III CCNファミリーに対する targeted differential display 法により、スキルス胃癌特異的発現遺伝子として von Willebrand type Cドメインが欠損した WISP1 variant 遺伝子を同定し、WISP1vと名付けた(GenBank 登録: AB034725)。ヒトゲノムデータベースを用いたコンピューター解析によりWISP1翻訳領域は5つのexonから成立することが判明したが、第2ドメインである von Willebrand type C 配列は第3 exonに全て含まれており、WISP1vはその splicing variant であることが明らかとなった。スキルス胃癌組織の解析では splicing donor site, acceptor site にも明らかな遺伝子変異は認められなかった。また NIH3T3 細胞を用いた遺伝子導入解析により、WISP1vは強い細胞形質変換能を持つ30kDaの分泌蛋白質であることが示された。さらにWISP1vは胃癌細胞 Kato-III に対し細胞浸潤増強作用を示すことが明らかとなった。

- IV 消化器癌を中心として多様な悪性腫瘍で網羅的にマイクロサテライト不安定性を解析したところ、興味深いことに、ヒト悪性腫瘍でみられるマイクロサテライト不安定性には2種類のカテゴリーが存在することがあきらかになった。ひとつは、変化の幅が6-bp以内にとどまるAタイプであり、今ひとつは8-bp以上に達するBタイプである。

D. 考察

- I 臨床第I相試験の結果からTS-1 / biweekly DOC併用療法は進行再発胃癌の一次治療として有用性が高い可能性が示唆された。現在、推奨用量でのTS-1 / biweekly DOC併用療法の臨床効果と安全性をさらに評価する為の臨床II相試験を準備計画中である。臨床II相試験27例による臨床

効果と安全性の評価が確立できれば、TS-1単独療法との prospective randomized controlled study(RCT)ならびに、進行胃癌に対する neoadjuvant chemotherapy (NAC)としてのTS-1 / biweekly DOC併用療法の評価目的の臨床研究を計画している。

- II Taxane系薬剤と5-FUとの併用に関する in vitroでの研究は、taxane →5-FUの schedule dependencyがあるものの相加及び相乗効果が報告されている。今回の vivoの実験で day 1におけるTXT投与での併用が3腫瘍株いずれも単独に比較し有意に抗腫瘍効果が増強しており、TXT day 1投与の有用性が示された。Day 8投与でもSC-2腫瘍に於いてのみ併用療法における有意差が認められた。Day 8投与は schedule dependency に関しては相反する結果であるが、5-FUの接触時間が長時間であった場合 schedule dependency が解消されるという別の報告を考慮すると、TS-1投与による5-FU有効血中濃度持続が、併用に関して有利に働いた可能性がある。

- III CCNファミリーの分子構造は、典型的には IGF-binding proteinドメイン、von Willebrand type Cドメイン、thrombo-spondin type 1ドメイン、cysteine knotドメインの4つのドメインから構成されている。しかし、Nov蛋白の oncogenic formでは第1ドメインが欠損しており、また、最近乳癌での発現が目ざされているWISP2では、もともと第4ドメインが欠損した形をとっている。我々がスキルス胃癌で同定したWISP1vは第2ドメインが欠損しており、その作用機序のさらなる解析は、新たな癌化シグナル伝達の解明へと発展できる。WISP1v遺伝子の発見によりスキルス胃癌の早期診断や再発診断が可能となるばかりか、WISP1vレセプターの解析に基づくWISP1v標的治療の開発へと発展できる。このように本課題は基礎解析のみならず、臨床治療への応用をめざした画期的な研究である。

- IV これまで、マイクロサテライト不安定性は単純にミスマッチ修復異常に結び付けられていた。しかし、実際にはマイクロサテライト不安定性は2つのカテゴリーが存在し、ミスマッチ修復異常との関係も、これまで考えてこられたようには単純でないことが明らかになった。我々の研究グループによる諸解析によりAタイプのマイクロサテライト不安定性がミスマッチ修復異常を直接反映していることが明らかになりつつある。

E. 結論

- I 臨床第I相試験を遂行し、TS-1 80mg/m², TXT 30mg/m²の推奨用量が決定された。TS-1 / biweekly DOC併用療法は進行再発胃癌の一次治療として有用性が高い可能性が示唆された。

- II TS-1とTXT併用療法は、特にDay1にTXTを併用することで毒性の上昇が軽度な範囲で抗腫瘍効果の増強が認められた。臨床において有用性を検証する意義があるものと考えられた。

- III スキルス胃癌からWnt誘導遺伝子に属するWISP1vをクローニングし、癌転移・浸潤に関与することを見出した。WISP1vは分泌蛋白質であり、診断のみならず分子標的としての可能性を持つことが示唆された。

- IV 化学療法ストラテジーを適正化するためには、抗癌剤への感受性を事前に予測可能にする感受性規定因子の同定が不可欠である。多様な抗癌剤感受性を規定するとされるミスマッチ修復活性は、最も重要な感受性規定因子の一つと考えられる。しかしながら、腫瘍におけるミスマッチ修復異常を正確に同定するためには、正確なマイクロサテライト不安定性解析が必要となる。我々の研究が進捗することで、高精度なマイク

ロサテライト不安定性解析系が確立され、また観察されたマイクロサテライト不安定性の正確な意義が明らかになると結論される。

F. 健康危険情報

I TS-1+biweekly DOC 療法の最大耐容量(MTD)は TS-1: 80mg/m²/day, DOC: 40mg/m²であり、推奨用量(RD)は TS-1: 80mg/m²/day, DOC: 30mg/m²であった。

III WISP1v の発現解析により、スキルス胃癌の早期発見に貢献できる可能性がある。

G. 研究発表

I 発表論文

1. Kakeji Y, Koga T, Sumiyoshi Y, Shibahara K, Oda S, Maehara Y, Sugimachi K. Clinical significance of vascular endothelial growth factor expression in gastric cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 21:125-129, 2002.
2. Kakeji Y, Maehara Y, Sumiyoshi Y, Oda S, Emi Y. Angiogenesis as a target for gastric cancer. *Surgery*. 131:S48-S54, 2002.
3. Maehara Y, Kakeji Y, Koga T, Emi Y, Baba H, Akazawa K, Sugimachi K. Therapeutic value of lymph node dissection and the clinical outcome for patients with gastric cancer. *Surgery*. 131:S85-S91, 2002.
4. Noda H, Maehara Y, Irie K, Kakeji Y, Yonemura T, Sugimachi K. Increased proliferative activity caused by loss of p21(WAF1/CIP1) expression and its clinical significance in patients with early-stage gastric carcinoma. *Cancer*. 94:2107-2112, 2002.
5. Kabashima A, Maehara Y, Koga T, Kakeji Y, Sugimachi K. The biologic features of intramucosal gastric carcinoma with lymph node metastasis. *Surgery*. 131:S71-S77, 2002.
6. Takahashi I, Emi Y, Hasuda S, Kakeji Y, Maehara Y, Sugimachi K. Clinical application of hyperthermia combined with anticancer drugs for the treatment of solid tumors. *Surgery*. 131:S78-S84, 2002.

学会発表

1. 第74回日本胃癌学会総会(平成14年2月7-9日、東京)
ワークショップ 胃術後のフォローアップの方法
胃癌の分子診断に基づく術後フォローアップシステムと治療戦略
掛地 吉弘、木村 和恵、住吉 康史、
織田 信弥、江見 泰徳、前原 喜彦、
杉町 圭蔵
2. 第102回日本外科学会総会(平成14年4月11-13日、京都)
胃癌における低酸素による血管新生誘導の機序と Tumor dormancy therapy へのアプローチ
掛地 吉弘、住吉 康史、江見 泰徳、
前原 喜彦、溝上 賢、米村 智弘、
斉藤 貴生、杉町 圭蔵
3. TS・DPD研究会2002(平成14年6月15日、東京)
TP および DPD 活性からみた胃癌術後補助化学療法の効果
掛地 吉弘、桜井 真人、米村 祐輔、
木村 和恵、前原 喜彦
4. 第57回大腸癌研究会(平成14年7月12日、仙台)
大腸癌におけるマイクロサテライト不安定性の実態
掛地 吉弘、織田 信弥、桜井 真人、米村 祐輔、
木村 和恵、佐伯 浩司、大賀 丈史、
前原 喜彦

5. 第57回日本消化器外科学会総会(平成14年7月27-30日、京都)
血管新生に関する転写因子 HIF-1, ETS-1 の胃癌における発現メカニズムと抗血管新生療法
掛地 吉弘、木村 和恵、住吉 康史、前原 喜彦、杉町 圭蔵
6. 第12回日本サイトメトリー学会・学術集会(平成14年8月2-3日、名古屋)
胃癌・大腸癌における高精度マイクロサテライト不安定性解析法の確立
掛地 吉弘、織田 信弥、桜井 真人、米村 祐輔、
木村 和恵、佐伯 浩司、大賀 丈史、前原 喜彦
7. 第13回日本消化器癌発生学会総会(平成14年9月5-6日、大阪)
パネルディスカッション
消化器癌における抗癌剤、放射線感受性胃癌組織における DPD および dThdPase 活性からみた効果的な補助化学療法に関する研究
掛地 吉弘、桜井 真人、米村 祐輔、木村 和恵、前原 喜彦
8. 第61回日本癌学会総会(平成14年10月1-3日、東京)
胃癌組織における hypoxia inducible factor (HIF) および p53 の発現と血管新生
掛地 吉弘、溝上 賢、桜井 真人、米村 祐輔、
木村 和恵、前原 喜彦
9. 第40回日本癌治療学会総会(平成14年10月16-18日、東京)
プレナリーセッション 胃 手術療法
胃癌における微小転移の定量化とリンパ節郭清手術の意義
掛地 吉弘、桜井 真人、米村 祐輔、木村 和恵、
佐伯 浩司、大賀 丈史、前原 喜彦
10. The 3rd international symposium on cancer research and therapy
(平成14年11月22-23日、東京)
Expression of transcription factors, HIF-1 and Ets-1, as molecular targets for angiogenesis in gastric cancer.
Kakeji Y., Mizokami K., Kimura Y., Sumiyoshi Y., Oda S., Maehara Y., Sugimachi K.

II

G. 研究発表

発表論文

1. Clinical outcome of proximal versus total gastrectomy for proximal gastric cancer. *World Journal of Surgery*. 26(9):1150-4, 2002 Shiraishi N, Adachi Y, Kitano S, Kakisako K, Inomata M, Yasuda K.
2. Laparoscopy-assisted Billroth-I gastrectomy (LADG) for cancer: our 10 years' experience. *Surgical Laparoscopy, Endoscopy & Percutaneous Techniques*. 12(3):204-7, 2002 Kitano S, Shiraishi N, Kakisako K, Yasuda K, Inomata M, Adachi Y.
3. Superficially spreading cancer of the stomach. *Annals of Surgical Oncology*. 9(2):192-6, 2002 Yasuda K, Inomata M, Fujii K, Shiraishi N, Adachi Y, Kitano S.
4. A randomized controlled trial comparing open vs laparoscopy-assisted distal gastrectomy for the treatment of early gastric cancer: an interim report. *Surgery*. 131(1 Suppl):S306-11, 2002 Kitano S, Shiraishi N, Fujii K, Yasuda K, Inomata M, Adachi Y.

学会発表

1. 第1回低侵襲外科フォーラム 特別講演(2002,1.18 熊本)
胃癌に対する低侵襲治療の現状と展望
北野正剛
2. 第7回癌と遺伝子・大分外科フォーラム 特別講

演 (2002.7.8 大分)
がん分子標的治療 (座長)
北野正剛

III

1. 論文発表

1. 消化器癌における微量(微量)転移の診断とその意義
Frontiers in Gastroenterology71:68-74, 2002
森 正樹、吉永 敬士
2. Localization of thymidine phosphorylase expression in colorectal carcinoma tissues by in situ RT-PCR assay.
Oncology 62:327-332, 2002
Mimori K., Matsuyama A., Yoshinaga K., Yamashita K., Masuda T., Inoue H., Ueo H., Mori M.
3. 癌の分子診断学
-ここまで進んだ診断・治療への応用-大腸癌
日本外科学会雑誌 103:468-471, 2002
三森 功士、森 正樹

2. 学会発表

1. The 28th Annual Meeting of the Korean Association (June 21, 2002, Seoul, Korea) Symposium
Dendritic Cell Vaccination with MAGE Peptide for Gastrointestinal Cancer. Mori M.
2. 1st Gastro Intestinal Cancer symposium for Surgeons(GICSS) (2002年6月29日、名古屋市)
特別講演 消化器癌微小転移の分子生物学的診断と臨床的意義 森 正樹
3. 9th Oncology Forum(International Session) (October 5, 2002, Tokyo) Symposium Molecular development of colorectal cancer. Mori M.

1. 論文発表

1. Development of DNA microarray system-From Bench to Bed in Esophageal Cancers-
Cytometry Research12:121-129, 2002
Ohga T., Tanaka S., Maehara S., Futatsugi M., Ito S., Kimura Y., Saeki H., Kakeji Y., Maehara Y.
2. Interrelation Between Expression of Matrix Metalloproteinase 7 and β -Catenin in Esophageal Cancer Digestive Diseases and Sciences47:2738-2742, 2002
Saeki H., Tanaka S., Sugimachi K., Kimura Y., Miyazaki M., Ohga T., Sugimachi K.
3. Variant WISPs as targets for gastrointestinal carcinomas. Gastroenterology 123:392-3, 2002
Tanaka S., Sugimachi K., Shimada M., Maehara Y., Sugimachi K.
4. Tie2 vascular endothelial receptor expression and function in hepatocellular carcinoma.
Hepatology35:861-7, 2002
Tanaka S., Sugimachi K., Yamashita Yi., Ohga T., Shirabe K., Shimada M., Wands JR., Sugimachi K.
5. Electroporation-mediated tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)/Apo2L gene therapy for hepatocellular carcinoma.
Human Gene Therapy13:275-86, 2002
Yamashita Y., Shimada M., Tanaka S., Okamamoto M., Miyazaki J., Sugimachi K.
6. Minimally invasive hepatectomy: modulation of systemic reactions against operation or laparoscopic approach.
Surgery131:S312-7, 2002
Shimada M., Harimoto N., Maehara Y., Tsujita E., Rikimaru T., Yamashita Y., Tanaka S., Shirabe K.
7. 高度門脈侵襲肝癌に対する治療
福岡医学雑誌 93:197-203, 2002
調 憲、島田 光生、田中 真二、
前田 貴司、前原 喜彦

8. 肝臓

福岡医学会雑誌 93:13-19, 2002
島田 光生、調 憲、田中 真二、
前田 貴司、山下 洋市、力丸 竜也、
辻田 英司、前原伸一郎、播本 憲史、
池田 泰治、足立 英輔、宇都宮 徹、
江崎 卓弘、古田斗志也、園田 孝志、
松股 孝、竹中 賢治、兼松 隆之

2. 学会発表

1. 93rd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research (平成 14 年 4 月 10 日、San Francisco)
A novel variant of WISP1 lacking a Von Willebrand type C module is associated with cancer invasion.
Tanaka S., Sugimachi K., Ohga T., Shimada M., Maehara Y., Sugimachi K.
2. 第 102 回日本外科学会総会 (平成 14 年 4 月 11-13 日、京都) ワークショップ
我々が同定したスキルス胃癌特異的遺伝子の構造と癌転移・浸潤における機能解析
田中 真二、杉町 圭史、大賀 丈史、
佐伯 浩司、島田 光生、前原 喜彦、
杉町 圭蔵
3. 第 88 回日本消化器病学会総会
(平成 14 年 4 月 26 日、旭川) 国際シンポジウム
A novel angiogenic switch gene as a molecular target for treatment of hepatocellular carcinoma.
Tanaka S., Sugimachi K., Yamashita Yi., Shirabe K., Shimada M., Sugimachi K., Wands JR.
4. 第 57 回日本消化器外科学会総会 (平成 14 年 7 月 28-30 日、京都) シンポジウム
我々が同定した新しい血管新生遺伝子の基礎解析 から遺伝子治療への臨床応用
田中 真二、杉町 圭史、山下 洋市、
前原伸一郎、調 憲、島田 光生、
杉町 圭蔵
5. 第 13 回日本消化器癌発生学会 (平成 14 年 9 月 5-6 日、大阪) ワークショップ
新しい転移規定遺伝子のクローニングと機能解析による分子標的ペプチドの開発
田中 真二、杉町 圭史、佐伯 浩司、
大賀 丈史、島田 光生、前原 喜彦、
杉町 圭蔵
6. 第 61 回日本癌学会 (平成 14 年 10 月 2 日、東京) ワークショップ
新たに同定した Wnt-inducible signaling pathway (WISP) variants の解析
田中 真二、杉町 圭史、佐伯 浩司、
大賀 丈史、島田 光生、前原 喜彦
7. 53rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver diseases (平成 14 年 11 月 3 日、Boston) Angiopoietin/Tie2 signaling in progression of hepatocellular carcinoma.
Tanaka S, Sugimachi K, Yamashita Yi, Maehara Si, Shirabe K, Mitsuo Shimada M, Wands JR, Maehara Y.
8. 第 64 回日本臨床外科学会 (平成 14 年 11 月 13 日、東京) シンポジウム
「補助療法：胆道癌」
切除不能胆道癌に対する新しい化学療法戦略：
GFP 療法
田中 真二、島田 光生、調 憲、前原伸一郎、
前田 貴司、前原 喜彦

IV

1. 発表論文

1. Histone H4 acetylation and histone deacetylase 1 expression in esophageal squamous cell carcinoma
Oncology Reports (in press)

- Toh Y., Yamamoto M., Endo K., Ikeda Y., Baba H., Kohnoe S., Yonemasu H., Hachitanda Y., Okamura T., Sugimachi K.
2. Protracted hepatic arterial infusion with low-dose cisplatin plus 5-fluorouracil for unresectable liver metastases from colorectal cancer *Surgery* 131: S128-34, 2002
Kohnoe S., Endo K., Yamamoto M., Ikeda Y., Toh Y., Baba H., Okamura T.
 3. Clinical efficacy of S-1 combined with cisplatin for advanced gastric cancer *Gastric Cancer* (in press)
Baba H., Yamamoto M., Endo K., Ikeda Y., Toh Y., Kohnoe S., Okamura T.
 4. Postoperative morbidity / mortality and survival rates after total gastrectomy with splenectomy / pancreaticosplenectomy for patients with advanced gastric cancer *Hepatogastroenterology* (in press)
Yamamoto M., Baba H., Kakeji Y., Endo K., Ikeda Y., Toh Y., Kohnoe S., Okamura T., Machara Y.
 5. Low-Dose 5-FU/CDDP 療法が著効を示し長期生存した進行胃癌の1例 *癌と化学療法* 29(9): 1627-1630, 2002
石尾 哲也、鴻江 俊治、遠藤 和也、山本学、池田 泰治、藤 也寸志、馬場 秀夫、岡村 健、川元 健二
 6. 食道癌に対する化学放射線療法と維持化学療法-tumor dormancy therapy としての意義- *Biotherapy* 16(4): 390-395, 2002
合川 公康、馬場 秀夫、遠藤 和也、山本学、池田 泰治、藤 也寸志、鴻江 俊治、岡村 健
 7. 大腸癌補助療法の進歩 *癌と化学療法* 29(13): 2488-2497, 2002
鴻江 俊治、掛地 吉弘、前原 喜彦
2. 学会発表
1. 第102回日本外科学会（平成14年4月11-13日、京都）
局所再発直腸癌の手術成績（非切除例と比較して）
鴻江 俊治、遠藤 和也、山本 学、馬場 秀夫、藤 也寸志、池田 泰治、織田 信弥、岡村 健
 2. 第50回日本化学療法学会総会（平成14年5月9-11日、神戸）
進行・再発胃癌および大腸癌に対する Second Line Chemotherapy としての CPT-11+MMC 併用療法
鴻江 俊治
 3. 第57回大腸癌研究会（平成14年7月11日、仙台）
大腸癌治療切除後のフォローアップ：画像診断と腫瘍マーカーの有用性について
鴻江 俊治、遠藤 和也、山本 学、池田 泰治、藤 也寸志、馬場 秀夫、岡村 健
 4. 平成14年度がん研究助成金 齋藤班第1回班会議（平成14年9月27日、千葉）
低位直腸がんに対する直腸反転切除術式に関する研究
鴻江 俊治
 5. 第64回日本臨床外科学会総会（平成14年11月13-14日、東京）シンポジウム8 進行・再発大腸癌に対する CPT-111 併用化学療法：Tailor-made 治療のための active dose modification による外来治療
鴻江 俊治、遠藤 和也、山本 学、池田 泰治、藤 也寸志、馬場 秀夫、岡村 健
1. 発表論文
1. Protracted hepatic arterial infusion with low-dose cisplatin plus 5-fluorouracil for unresectable liver metastases from colorectal cancer *Surgery* 131: S128-34, 2002
Kohnoe S., Endo K., Yamamoto M., Ikeda Y., Toh Y., Baba H., Okamura T.
 2. DNA ploidy and its clinical implications in gastric cancer *Surgery* 131: S63-70, 2002
Baba H., Korenaga D., Kakeji Y., Haraguchi M., Okamura T., Maehara Y.
 3. Clinical efficacy of S-1 combined with cisplatin for advanced gastric cancer *Gastric Cancer* (in press)
Baba H., Yamamoto M., Endo K., Ikeda Y., Toh Y., Kohnoe S., Okamura T.
 4. Low-Dose 5-FU/CDDP 療法が著効を示し長期生存した進行胃癌の1例 *癌と化学療法* 29(9): 1627-1630, 2002
石尾 哲也、鴻江 俊治、遠藤 和也、山本学、池田 泰治、藤 也寸志、馬場 秀夫、岡村 健、川元 健二
 5. 食道癌に対する化学放射線療法と維持化学療法-tumor dormancy therapy としての意義- *Biotherapy* 16(4): 390-395, 2002
合川 公康、馬場 秀夫、遠藤 和也、山本学、池田 泰治、藤 也寸志、鴻江 俊治、岡村 健
 6. 胃癌術後補助化学療法の標準化は可能か？ *臨床外科* 57(13): 1657-1662, 2002
前原 喜彦、掛地 吉弘、馬場 秀夫
2. 学会発表
1. Annual meeting of the society of colon and rectal surgeons, Special Lecture (December 8, 2002, Taiwan)
Japanese classification of colorectal cancer and the current therapeutic strategy
Baba H.
 2. 第56回大腸癌研究会ランチョンセミナー（平成14年1月25日、新潟）
EBM からみた大腸癌治療の現況と展望
馬場 秀夫
 3. 第74回日本胃癌学会パネルディスカッション（平成14年2月8日、東京）
胃癌における TS-1 および TS-1+CDDP 療法の臨床的意義
馬場 秀夫、遠藤 和也、山本 学、織田 信弥、池田 泰治、藤 也寸志、鴻江 俊治、岡村 健
 4. 平成14年度厚生労働省がん研究助成金 坂班第1回班会議（平成14年7月20日、名古屋）
消化器がんの外来通院治療の安全性とその評価法に関する研究
馬場 秀夫
 5. 第57回日本消化器外科学会総会（平成14年7月28-30日、京都）
EBM からみた胃癌、大腸癌の化学療法の現況と今後の方向性
馬場 秀夫、山本 学、遠藤 和也、池田 泰治、藤 也寸志、鴻江 俊治、岡村 健
 6. 第5回千葉癌化学療法研究会 特別講演（平成14年9月13日、浦安）
消化器癌化学療法の進歩
馬場 秀夫
 7. 第40回日本癌治療学会総会（平成14年10月16-18日、東京）
胃癌治療における新規抗癌剤の効果と今後の展望
馬場 秀夫、遠藤 和也、山本 学、池田 泰治、藤 也寸志、鴻江 俊治、岡村 健

8. 平成14年度厚生労働省がん研究助成金
坂班第2回班会議（平成14年10月30日、名古屋）
当院における外来化学療法の現状
馬場 秀夫
9. 第7回消化器外科フォーラム 特別講演
（平成14年11月2日、大阪）
進行胃癌に対する治療戦略
馬場 秀夫
10. 第4回徳島消化器癌化学療法研究会 特別講演
（平成14年11月8日、徳島）
消化器癌化学療法における最近の知見
馬場 秀夫
11. 第64回日本臨床外科学会総会
（平成14年11月13-14日、東京）
胃癌治療における化学療法の現状と今後の方向性
馬場 秀夫、遠藤 和也、山本 学、
池田 泰治、藤 也寸志、鴻江 俊治、
岡村 健
1. 発表論文
1. Micosatellite instability in cancer: What problems remain unanswered? *Surgery* 131: S55-62, 2002
Oda S., Maehara Y., Sumiyoshi Y., Sugimachi K.
 2. Concurrent overexpression of Ets-1 and c-Met correlates with a phenotype of high cellular motility in human oesophageal cancer *International Journal of Cancer* 98:8-13, 2002
Saeki H., Oda S., Kawaguchi H., Ohno S., Kuwano H., Maehara Y., Sugimachi K.
 3. Clinical significance of Vascular endothelial growth factor expression in gastric cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 21:125-129, 2002
Kakeji Y., Koga T., Sumiyoshi Y., Shibahara K., Oda S., Maehara Y., Sugimachi K.
 4. Angiogenesis as a target for gastric cancer. *Surgery* 131:S48-54, 2002
Kakeji Y., Maehara Y., Sumiyoshi Y., Oda S., Emi Y., Sugimachi K.
 5. ミスマッチ修復機構と遺伝的不安定性
放射線生物研究 37:53-66, 2002
江頭 明典、織田 信弥、前原 喜彦、
続 輝久
 6. 家族性腫瘍をめぐる諸問題—家族性腫瘍の診断と治療—
家族性胃癌の診断と治療
癌と化学療法 29:523-531, 2002
前原 喜彦、馬場 秀夫、織田 信弥、
掛地 吉弘、江見 泰徳、杉町 圭蔵
 7. 家族性胃癌の診断と治療
癌と化学療法 29:523-530, 2002
前原 喜彦、馬場 秀夫、織田 信弥、
掛地 吉弘、江見 泰徳、杉町 圭蔵

2. 学会発表

1. 第61回日本癌学会総会（平成14年10月1-3日、東京）
ミスマッチ修復異常によってもたらされるゲノム変化の包括的検討—*Msh2* 遺伝子欠損マウスを用いた解析
江頭 明典、織田 信弥、真木 寿治、
関口 睦夫、前原 喜彦、続 輝久
2. 6th International Symposium on Predictive Oncology & Intervention Strategies (2002年2月9-12日、Paris)
Realities of microsatellite instability in human cancer
Oda S., Maehara Y., Sugimachi K.

- H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
I 特記すべき事項なし
III 1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 GenBank 登録: AB034725

ヒト胃癌株-ヌードラット移植モデルを用いた TS-1 と Docetaxel(TXT) 併用療法の有効性に関する基礎的研究
(主任) 研究者 前原喜彦 九州大学大学院消化器・総合外科 (第二外科)

研究要旨

胃癌に対する TS-1 と TXT 併用療法の有用性を検証するため、ヒト胃腺癌由来 SC-2, St-40, 及び SC-4 を移植したヌードラットを用い、併用による抗腫瘍効果及び毒性増強の有無を検討した。TS-1 と TXT の併用により各々単独投与に比べ抗腫瘍効果の増強が認められ、特に TXT を Day1 に併用するスケジュールでは3株とも併用効果が得られた。Day1 投与では Day 8 投与に比較し体重減少は軽度であった。TS-1 と TXT 併用療法は、臨床において有用性を検証する意義があると考えられた。

分担研究者

北野 正剛

(大分医科大学・第一外科)

A. 研究目的

胃癌に対する TS-1 と TXT 併用療法の有用性を検証するため、ヒト胃癌株移植ヌードラットを用いて基礎的な検討を行う。

B. 研究方法

ヒト胃腺癌由来の SC-2, St-40, 及び SC-4 腫瘍を皮下に移植したヌードラットを用い、Control, TS-1 単独、TXT 単独、及び TS-1+ TXT 併用群を比較した。TS-1 は群分け翌日 (Day 1) より 14 日間連日経口投与 (12 mg/ kg/ day)、TXT は Day1 又は Day8 に静脈内投与した (2 mg/ kg)。抗腫瘍効果は腫瘍体積比 (投与前の腫瘍体積に対する比) 及び腫瘍増殖抑制率、毒性は体重変化率を指標として Day15 に評価した。

C. 研究結果

Day 1 での TXT 投与では、胃癌腫瘍株 3 株に対する腫瘍増殖抑制率は S-1 単独群 38.6~55.1%、TXT 単独投与群 (2 mg/kg) 42.1~51.7%、TS-1 + TXT 併用群 68.4~72.5% と、3 株全てに TS-1 と TXT の併用により単独投与に比べ有意な抗腫瘍効果の増強が認められた。Day 8 での TXT 投与では SC-2 において TS-1 + TXT 併用は各々の単独投与より有意な抗腫瘍効果増強であった。一方毒性に関しては Day8 投与した群では併用による体重減少の増強が見られたが、Day1 投与では体重減少は比較的軽度であった。

D. 考察

Taxane 系薬剤と 5-FU との併用に関する in vitro での研究は、taxane →5-FU の schedule dependency があるものの相加及び相乗効果が報告されている。今回の vivo の実験で day 1 における TXT 投与での併用が 3 腫瘍株いずれも単独に比較し有意に抗腫瘍効果が増強しており、TXT day 1 投与の有用性が示された。Day 8 投与でも SC-2 腫瘍に於いてのみ併用療法における有意差が認められた。Day 8 投与は schedule dependency に関しては相反する結果であるが、5-FU の接触時間が長時間であった場合 schedule dependency が解消されるという別の報告を考慮すると、TS-1 投与による 5-FU 有効血中濃度持続が、併用に関して有利に働いた可能性がある。

E. 結論

TS-1 と TXT 併用療法は、特に Day1 に TXT を併用することで毒性の上昇が軽度な範囲で抗腫瘍効果の増強が認められた。臨床において有用性を検証する意義があるものと考えられた。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし

G. 研究発表

発表論文

1. Clinical outcome of proximal versus total gastrectomy for proximal gastric cancer. World Journal of Surgery. 26(9):1150-4, 2002 Shiraishi N. Adachi Y. Kitano S. Kakisako K. Inomata M. Yasuda K.
2. Laparoscopy-assisted Billroth-I gastrectomy (LADG) for cancer: our 10 years' experience. Surgical Laparoscopy, Endoscopy & Percutaneous Techniques. 12(3):204-7, 2002 Kitano S. Shiraishi N. Kakisako K. Yasuda K. Inomata M. Adachi Y.
3. Superficially spreading cancer of the stomach. Annals of Surgical Oncology. 9(2):192-6, 2002 Yasuda K. Inomata M. Fujii K. Shiraishi N. Adachi Y. Kitano S.
4. A randomized controlled trial comparing open vs laparoscopy-assisted distal gastrectomy for the treatment of early gastric cancer: an interim report. Surgery. 131(1 Suppl):S306-11, 2002 Kitano S. Shiraishi N. Fujii K. Yasuda K. Inomata M. Adachi Y.

学会発表

1. 第 1 回低侵襲外科フォーラム 特別講演 (2002,1.18 熊本)
胃癌に対する低侵襲治療の現状と展望
北野正剛
2. 第 7 回癌と遺伝子・大分外科フォーラム 特別講演 (2002,7.8 大分)
がん分子標的治療 (座長)
北野正剛

H. 知的財産権の出願・登録状況

特記すべき事項なし

スキルス胃癌の特異的発現遺伝子 WISP1V に関する研究

主任研究者 前原喜彦 九州大学大学院 消化器・総合外科

研究要旨

我々は targeted differential display 法を用いたクローニングにより、新しい癌関連遺伝子を発表している (Tanaka et al. PNAS 1998, JCI 1998, JCI 1999)。スキルス胃癌は早期に浸潤・転移をおこすため予後が極めて悪く、新しい診断法、そして治療法の確立が急務である。今回、targeted differential display 法を用いてスキルス胃癌の特異的発現遺伝子 WISP1v を発見し (GenBank 登録: AB034725)、WISP1v 分子が分泌蛋白質であること、細胞浸潤機能を持つことを解明した (Tanaka et al. Oncogene 2001)。この新しい遺伝子の発見により、スキルス胃癌の早期診断や再発診断が可能となるばかりか、WISP1v レセプターの解析に基づく WISP1v 標的治療の開発へと発展できる。このように本課題は基礎解析のみならず、臨床治療への応用をめざした画期的な研究である。

分担研究者 ;

森 正樹

生体防御医学研究所腫瘍外科 教授

分担研究者 田中真二との共同研究

A. 研究目的

スキルス胃癌は早期に浸潤・転移をおこすため予後が極めて悪く、新しい診断法、そして治療法の確立が急務である。スキルス胃癌は著しい線維性間質を特徴とする低分化型腺癌であり、転移・浸潤能が高く予後は極めて悪いことが知られているが、その転移・浸潤に関する分子生物学的機序は不明な点が多い。近年、結合組織増殖因子 connective tissue growth factor (CTGF)、血管新生因子 Cyrteine-rich 61 (CYr61)、癌遺伝子 Nephroblastoma over-expressed (Nov)、Wnt 誘導遺伝子 Wnt-inducible signaling pathway (WISP) を含む新しい増殖因子ファミリー CCN が報告され、新規癌化シグナル分子群として高い注目を集めている。CCN ファミリーの蛋白は、細胞外マトリックスの関連分子と相同性を持つ4つのドメインから構成されるという特徴的な分子構造を持っている。その遺伝子異常が systemic scleroderma、pseudorheumatoid dysplasia の原因であることが報告され、軟部組織の増殖、変性に機能するとされている。このように、CCN ファミリーは間質-細胞相互関係に重要と考えられているが、間質に特徴を持つスキルス胃癌との関連は不明である。本研究では、我々開発した targeted differential display 法を用いて、スキルス胃癌における CCN ファミリーの包括的遺伝子発現解析を行ない、スキルス胃癌成立における分子生物学的機序を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

CCN consensus 配列に対する targeted differential display 法を用いて、スキルス胃癌の癌部特異的発現遺伝子を同定した。さらに、細胞への遺伝子導入による蛋白解析、機能解析を行なった。

C. 研究結果

CCN ファミリーに対する targeted differential display 法により、スキルス胃癌特異的発現遺伝子として von Willebrand type C ドメインが欠損した WISP1 variant 遺伝子を同定し、WISP1v と名付けた (GenBank 登録: AB034725)。ヒトゲノムデータベースを用いたコンピューター解析により WISP1 翻訳領域は5つの exon から成立することが判明したが、第2ドメインである von Willebrand type C 配列は第3 exon に全て含まれており、WISP1v はその splicing variant であることが明らかとなった。スキルス胃癌組織の解析では splicing donor site, acceptor site にも明らかな遺伝子変異は認められなかった。また NIH3T3 細胞を用いた遺伝子導入解析により、WISP1v は強い細胞形質変換能を持つ 30kDa の分泌蛋白質であることが示された。さらに WISP1v は胃癌細胞 Kato-III に対し細胞浸潤増強作用を示すことが明らかとなった。

D. 考察

CCN ファミリーの分子構造は、典型的には IGF-binding protein ドメイン、von Willebrand type C ドメイン、

thrombo-spondin type 1 ドメイン、cysteine knot ドメインの4つのドメインから構成されている。しかし、Nov 蛋白の oncogenic form では第1ドメインが欠損しており、また、最近乳癌での発現が注目されている WISP2 では、もともと第4ドメインが欠損した形をとっている。我々がスキルス胃癌で同定した WISP1v は第2ドメインが欠損しており、その作用機序のさらなる解析は、新たな癌化シグナル伝達の解明へと発展できる。WISP1v 遺伝子の発見によりスキルス胃癌の早期診断や再発診断が可能となるばかりか、WISP1v レセプターの解析に基づく WISP1v 標的治療の開発へと発展できる。このように本課題は基礎解析のみならず、臨床治療への応用をめざした画期的な研究である。

E. 結論

スキルス胃癌から Wnt 誘導遺伝子に属する WISP1v をクローニングし、癌転移・浸潤に関与することを見出した。WISP1v は分泌蛋白質であり、診断のみならず分子標的としての可能性を持つことが示唆された。

F. 健康危険情報

WISP1v の発現解析により、スキルス胃癌の早期発見に貢献できる可能性がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 消化器癌における微量(微量)転移の診断とその意義
Frontiers in Gastroenterology 71:68-74, 2002
森 正樹, 吉永 敬士

2. Localization of thymidine phosphorylase expression in colorectal carcinoma tissues by in situ RT-PCR assay.
Oncology 62:327-332, 2002
Mimori K., Matsuyama A., Yoshinaga K., Yamashita K., Masuda T., Inoue H., Ueo H., Mori M.

3. 癌の分子診断学

-ここまで進んだ診断・治療への応用-大腸癌
日本外科学会雑誌 103:468-471, 2002
三森 功士, 森 正樹

2. 学会発表

1. The 28th Annual Meeting of the Korean Association (June 21, 2002, Seoul, Korea) Symposium Dendritic Cell Vaccination with MAGE Peptide for Gastrointestinal Cancer. Mori M.
2. 1st Gastro Intestinal Cancer symposium for Surgeons(GICSS) (2002年6月29日、名古屋市) 特別講演 消化器癌微小転移の分子生物学的診断と臨床的意義 森正樹
3. 9th Oncology Forum(International Session) (October 5, 2002, Tokyo) Symposium Molecular development of colorectal cancer. Mori M.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得 なし 2. 実用新案登録 なし
3. その他 GenBank 登録: AB034725

消化器癌におけるマイクロサテライト不安定性とミスマッチ修復異常に関する研究

主任研究者 前原喜彦 九州大学大学院 消化器・総合外科

研究要旨

DNA ミスマッチ修復活性は多様な抗癌剤の感受性規定因子として知られ、その異常はマイクロサテライト不安定性により検索される。我々は従来の手法の問題点を解決した新しい解析系を確立し、胃癌を含めた多様な悪性腫瘍において網羅的に解析を行った。その結果、マイクロサテライト不安定性にはA,Bの2つのサブタイプが存在し、Aタイプがミスマッチ修復異常に直接起因する変化であることを同定した。

分担研究者；

鴻江 俊治

(国立病院九州がんセンター・消化器外科)

分担研究者 織田信弥との共同研究

A. 研究目的

細胞のDNA ミスマッチ修復活性は様々な抗癌剤への感受性を規定する因子としてクローズアップされている。悪性腫瘍治療において極めて重要な位置をしめる化学療法の治療ストラテジーを適正化することは急務である。しかしながら、このような重要な感受性規定因子を正確にとらえることは難しい。我々はこのミスマッチ修復異常を正確にとらえるために、独自に開発した新しい高精度マイクロサテライト不安定性解析系を用いて、ミスマッチ修復異常を与えられた切除標品において正確に同定することを研究の目的とした。

B. 研究方法

腫瘍切除標本より抽出されたゲノムDNAを用いて、独立した染色体上に存在する2塩基繰り返し替えしマイクロサテライト配列を蛍光プライマーを用いたPCRにより増幅、産物を自動シーケンサーに泳動・解析、正常組織より得られたプロファイルと比較し、マイクロサテライト不安定性の有無を同定する。

C. 研究結果

消化器癌を中心として多様な悪性腫瘍で網羅的にマイクロサテライト不安定性を解析したところ、興味深いことに、ヒト悪性腫瘍でみられるマイクロサテライト不安定性には2種類のカテゴリーが存在することがあきらかになった。ひとつは、変化の幅が6-bp以内にとどまるAタイプであり、今ひとつは8-bp以上に達するBタイプである。

D. 考察

これまで、マイクロサテライト不安定性は単純にミスマッチ修復異常に結び付けられていた。しかし、実際にはマイクロサテライト不安定性は2つのカテゴリーが存在し、ミスマッチ修復異常との関係も、これまで考えてこられたようには単純でないことが明らかになった。我々の研究グループによる諸解析によりAタイプのマイクロサテライト不安定性がミスマッチ修復異常を直接反映していることが明らかに

なりつつある。

E. 結論

化学療法ストラテジーを適正化するためには、抗癌剤への感受性を事前に予測可能にする感受性規定因子の同定が不可欠である。多様な抗癌剤感受性を規定するとされるミスマッチ修復活性は、最も重要な感受性規定因子の一つと考えられる。しかしながら、腫瘍におけるミスマッチ修復異常を正確に同定するためには、正確なマイクロサテライト不安定性解析が必要となる。我々の研究が進捗することで、高精度なマイクロサテライト不安定性解析系が確立され、また観察されたマイクロサテライト不安定性の正確な意義が明らかになると結論される。

F. 健康危険情報

当該事項なし。

G. 研究発表

1. 発表論文

- 1.Histone H4 acetylation and histone deacetylase 1 expression in esophageal squamous cell carcinoma
Oncology Reports (in press)
Toh Y., Yamamoto M., Endo K., Ikeda Y., Baba H., Kohnoe S., Yonemasu H., Hachitanda Y., Okamura T., Sugimachi K.
- 2.Protracted hepatic arterial infusion with low-dose cisplatin plus 5-fluorouracil for unresectable liver metastases from colorectal cancer Surgery 131: S128-34, 2002
Kohnoe S., Endo K., Yamamoto M., Ikeda Y., Toh Y., Baba H., Okamura T.
- 3.Clinical efficacy of S-1 combined with cisplatin for advanced gastric cancer Gastric Cancer (in press)
Baba H., Yamamoto M., Endo K., Ikeda Y., Toh Y., Kohnoe S., Okamura T.
- 4.Postoperative morbidity / mortality and survival rates after total gastrectomy with splenectomy / pancreaticosplenectomy for patients with advanced gastric cancer Hepatogastroenterology (in press)
Yamamoto M., Baba H., Kakeji Y., Endo K., Ikeda Y., Toh Y., Kohnoe S., Okamura T., Maehara Y.
- 5.Low-Dose 5-FU/CDDP 療法が著効を示し長期生存した進行胃癌の1例 癌と化学療法 29(9): 1627-1630, 2002
石尾 哲也、鴻江 俊治、遠藤 和也、山本 学、池田 泰治、藤 也寸志、馬場 秀夫、岡村 健、川元 健二
- 6.食道癌に対する化学放射線療法と維持化学療法

-tumor dormancy therapy としての意義-

Biotherapy 16(4): 390-395, 2002

合川 公康、馬場 秀夫、遠藤 和也、山本 学、
池田 泰治、藤 也寸志、鴻江 俊治、岡村 健

7.大腸癌補助療法の進歩

癌と化学療法 29(13): 2488-2497, 2002

鴻江 俊治、掛地 吉弘、前原 喜彦

2.学会発表

1.第102回日本外科学会（平成14年4月11-13日、京都）

局所再発直腸癌の手術成績（非切除例と比較して）

鴻江 俊治、遠藤 和也、山本 学、馬場 秀夫、
藤 也寸志、池田 泰治、織田 信弥、岡村 健

2.第50回日本化学療法学会総会（平成14年5月9-11日、 神戸）

進行・再発胃癌および大腸癌に対する Second Line

Chemotherapy としての CPT-11+MMC 併用療法

鴻江 俊治

3.第57回大腸癌研究会（平成14年7月11日、仙台）

大腸癌治療切除後のフォローアップ：画像診断と腫瘍マーカーの有用性について

鴻江 俊治、遠藤 和也、山本 学、池田 泰治、
藤 也寸志、馬場 秀夫、岡村 健

4.平成14年度がん研究助成金 斎藤班第1回班会議 （平成14年9月27日、千葉）

低位直腸がんに対する直腸反転切除術式に関する研究

鴻江 俊治

5.第64回日本臨床外科学会総会（平成14年11月13-14日、 東京）シンポジウム8 進行・再発大腸癌に対する

CPT-111 併用化学療法：Tailor-made 治療のための active
dose modification による外来治療

鴻江 俊治、遠藤 和也、山本 学、池田 泰治、
藤 也寸志、馬場 秀夫、岡村 健

H. 知的財産の出願・登録状況(予定を含む)

当該事項なし。

消化器癌におけるマイクロサテライト不安定性とミスマッチ修復異常に関する研究

主任研究者 前原喜彦 九州大学大学院 消化器・総合外科

研究要旨

DNA ミスマッチ修復活性は多様な抗癌剤の感受性規定因子として知られ、その異常はマイクロサテライト不安定性により検索される。我々は従来の手法の問題点を解決した新しい解析系を確立し、胃癌を含めた多様な悪性腫瘍において網羅的に解析を行った。その結果、マイクロサテライト不安定性にはA,Bの2つのサブタイプが存在し、Aタイプがミスマッチ修復異常に直接起因する変化であることを同定した。

分担研究者；

馬場 秀夫

(国立病院九州がんセンター・消化器外科)

分担研究者 織田信弥との共同研究

A. 研究目的

細胞のDNA ミスマッチ修復活性は様々な抗癌剤への感受性を規定する因子としてクローズアップされている。悪性腫瘍治療において極めて重要な位置をしめる化学療法の治療ストラテジーを適正化することは急務である。しかしながら、このような重要な感受性規定因子を正確にとらえることは難しい。我々はこのミスマッチ修復異常を正確にとらえるために、独自に開発した新しい高精度マイクロサテライト不安定性解析系を用いて、ミスマッチ修復異常を与えられた切除標品において正確に同定することを研究の目的とした。

B. 研究方法

腫瘍切除標本より抽出されたゲノムDNAを用いて、独立した染色体上に存在する2塩基繰り替えしマイクロサテライト配列を蛍光プライマーを用いたPCRにより増幅、産物を自動シーケンサーに泳動・解析、正常組織より得られたプロファイルと比較し、マイクロサテライト不安定性の有無を同定する。

C. 研究結果

消化器癌を中心として多様な悪性腫瘍で網羅的にマイクロサテライト不安定性を解析したところ、興味深いことに、ヒト悪性腫瘍でみられるマイクロサテライト不安定性には2種類のカテゴリーが存在することがあきらかになった。ひとつは、変化の幅が6-bp以内にとどまるAタイプであり、今ひとつは8-bp以上に達するBタイプである。

D. 考察

これまで、マイクロサテライト不安定性は単純にミスマッチ修復異常に結び付けられていた。しかし、実際にはマイクロサテライト不安定性は2つのカテゴリーが存在し、ミスマッチ修復異常との関係も、これまで考えてこられたようには単純でないことが明らかになった。我々の研究グループによる諸解析によりAタイプのマイクロサテライト不安定性がミスマッチ修復異常を直接反映していることが明らかになりつつある。

E. 結論

化学療法ストラテジーを適正化するためには、抗癌剤への感受性を事前に予測可能にする感受性規定因子の同定が不可欠である。多様な抗癌剤感受性を規

定するとされるミスマッチ修復活性は、最も重要な感受性規定因子の一つと考えられる。しかしながら、腫瘍におけるミスマッチ修復異常を正確に同定するためには、正確なマイクロサテライト不安定性解析が必要となる。我々の研究が進捗することで、高精度なマイクロサテライト不安定性解析系が確立され、また観察されたマイクロサテライト不安定性の正確な意義が明らかになると結論される。

F. 健康危険情報

当該事項なし。

G. 研究発表

1. 発表論文

1. Protracted hepatic arterial infusion with low-dose cisplatin plus 5-fluorouracil for unresectable liver metastases from colorectal cancer

Surgery 131: S128-34, 2002

Kohnoe S., Endo K., Yamamoto M., Ikeda Y.,

Toh Y., Baba H., Okamura T.

2. DNA ploidy and its clinical implications in gastric cancer

Surgery 131: S63-70, 2002

Baba H., Korenaga D., Kakeji Y., Haraguchi M.,

Okamura T., Maehara Y.

3. Clinical efficacy of S-1 combined with cisplatin for advanced gastric cancer Gastric Cancer (in press)

Baba H., Yamamoto M., Endo K., Ikeda Y., Toh Y.,

Kohnoe S., Okamura T.

4. Low-Dose 5-FU/CDDP 療法が著効を示し長期生存した進行胃癌の1例 癌と化学療法 29(9): 1627-1630,

2002 石尾 哲也、鴻江 俊治、遠藤 和也、

山本 学、池田 泰治、藤 也寸志、馬場 秀夫、

岡村 健、川元 健二

5. 食道癌に対する化学放射線療法と維持化学療法-tumor dormancy therapyとしての意義-

Biotherapy 16(4): 390-395, 2002

合川 公康、馬場 秀夫、遠藤 和也、山本 学、

池田 泰治、藤 也寸志、鴻江 俊治、岡村 健

6. 胃癌術後補助化学療法の標準化は可能か?

臨床外科 57(13): 1657-1662, 2002

前原 喜彦、掛地 吉弘、馬場 秀夫

2. 学会発表

1. Annual meeting of the society of colon and rectal surgeons, Special Lecture (December 8, 2002, Taiwan)

Japanese classification of colorectal cancer and the current therapeutic strategy Baba H.

2. 第56回大腸癌研究会ランチョンセミナー

- (平成14年1月25日、新潟)
EBMからみた大腸癌治療の現況と展望
馬場 秀夫
- 3.第74回日本胃癌学会パネルディスカッション
(平成14年2月8日、東京)
胃癌におけるTS-1およびTS-1+CDDP療法の臨床的意義
馬場 秀夫、遠藤 和也、山本 学、織田 信弥、池田 泰治、藤 也寸志、鴻江 俊治、岡村 健
- 4.平成14年度厚生労働省がん研究助成金
坂班第1回班会議(平成14年7月20日、名古屋)
消化器がんの外来通院治療の安全性とその評価法に関する研究
馬場 秀夫
- 5.第57回日本消化器外科学会総会
(平成14年7月28-30日、京都)
EBMからみた胃癌、大腸癌の化学療法の現況と今後の方向性
馬場 秀夫、山本 学、遠藤 和也、池田 泰治、藤 也寸志、鴻江 俊治、岡村 健
- 6.第5回千葉癌化学療法研究会 特別講演
(平成14年9月13日、浦安)
消化器癌化学療法 of 進歩
馬場 秀夫
- 7.第40回日本癌治療学会総会
(平成14年10月16-18日、東京)
胃癌治療における新規抗癌剤の効果と今後の展望
馬場 秀夫、遠藤 和也、山本 学、池田 泰治、藤 也寸志、鴻江 俊治、岡村 健
- 8.平成14年度厚生労働省がん研究助成金
坂班第2回班会議(平成14年10月30日、名古屋)
当院における外来化学療法の現状
馬場 秀夫
- 9.第7回消化器外科フォーラム 特別講演
(平成14年11月2日、大阪)
進行胃癌に対する治療戦略
馬場 秀夫
- 10.第4回徳島消化器癌化学療法研究会 特別講演
(平成14年11月8日、徳島)
消化器癌化学療法における最近の知見
馬場 秀夫
- 11.第64回日本臨床外科学会総会
(平成14年11月13-14日、東京)
胃癌治療における化学療法の現状と今後の方向性
馬場 秀夫、遠藤 和也、山本 学、池田 泰治、藤 也寸志、鴻江 俊治、岡村 健

H. 知的財産の出願・登録状況(予定を含む)
当該事項なし。

TS-1/biweekly TXT 併用療法ヒトの用量設定の為の臨床第 I 相試験
(主任) 研究者 前原喜彦 九州大学大学院消化器・総合外科(第二外科)

研究要旨

前臨床試験の結果に基づき、TS-1/biweekly TXT 併用療法ヒトの用量設定の為の臨床第 I 相試験を遂行し、TS-1 80mg/m², TXT 30mg/m² の推奨用量が決定された。臨床第 I 相試験の症例のうち 5 例で臨床効果が評価可能で、奏効率は 60%(3/5)であった。TS-1 / biweekly DOC 併用療法は進行再発胃癌の一次治療として有用性が高い可能性が示唆された。現在、推奨用量での TS-1 / biweekly DOC 併用療法の臨床効果と安全性をさらに評価する為の臨床 II 相試験を準備計画中である

分担研究者

掛地 吉弘

(九州大学大学院消化器・総合外科)

A. 研究目的

進行・再発胃癌症例に対して、TS-1+biweekly DOC 療法の各投与量における DLT の発現症例を確認し、最大耐容量 (MTD) を決定し、臨床第 II 相試験における推奨用量 (RD) を探索する。

B. 研究方法

進行・再発胃癌症例を対象とし、TS-1+biweekly DOC 療法を行った。4 週間 (day1-28) を 1 コースとし、DOC は day1, 15 に静脈内投与、TS-1 は day1~14 に連日経口投与して 14 日間休薬とする。TS-1 は 80mg/m²/day に固定し、DOC は 40mg/m² から開始し、以後 5mg/m² ずつ 60mg/m² まで増量する。

C. 研究結果

レベル 1 (TS-1: 80mg/m²/day, DOC: 40mg/m²) において 6 例中 3 例に DLT が認められ、DOC をレベル-1 の 30mg/m² に減量すると、6 例中 1 例のみに DLT がみられた。レベル 0 の DOC: 35mg/m² D で 3 例検討し、試験を終えた。推奨用量を TS-1 80mg/m², TXT 30mg/m² とした。

臨床第 I 相試験の症例のうち 5 例で臨床効果が評価可能であった。CR 0 例、PR 3 例、NC 2 例、PD 0 例で、奏効率は 60%(3/5)であった。

D. 考察

臨床第 I 相試験の結果から TS-1 / biweekly DOC 併用療法は進行再発胃癌の一次治療として有用性が高い可能性が示唆された。現在、推奨用量での TS-1 / biweekly DOC 併用療法の臨床効果と安全性をさらに評価する為の臨床 II 相試験を準備計画中である。臨床 II 相試験 27 例による臨床効果と安全性の評価が確立できれば、TS-1 単独療法との prospective randomized controlled study(RCT)ならびに、進行胃癌に対する neoadjuvant chemotherapy (NAC) としての TS-1 / biweekly DOC 併用療法の評価目的の臨床研究を計画している。

E. 結論

臨床第 I 相試験を遂行し、TS-1 80mg/m², TXT 30mg/m² の推奨用量が決定された。TS-1 / biweekly

DOC 併用療法は進行再発胃癌の一次治療として有用性が高い可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

TS-1+biweekly DOC 療法の最大耐容量 (MTD) は TS-1: 80mg/m²/day, DOC: 40mg/m² であり、推奨用量 (RD) は TS-1: 80mg/m²/day, DOC: 30mg/m² であった。

G. 研究発表

発表論文

1. Takeji Y., Koga T, Sumiyoshi Y, Shibahara K, Oda S, Maehara Y, Sugimachi K. Clinical significance of vascular endothelial growth factor expression in gastric cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research.* 21:125-129, 2002.
2. Takeji Y., Maehara Y, Sumiyoshi Y, Oda S, Emi Y. Angiogenesis as a target for gastric cancer. *Surgery.* 131:S48-S54, 2002.
3. Maehara Y, Takeji Y., Koga T, Emi Y, Baba H, Akazawa K, Sugimachi K. Therapeutic value of lymph node dissection and the clinical outcome for patients with gastric cancer. *Surgery.* 131:S85-S91, 2002.
4. Noda H, Maehara Y, Irie K, Takeji Y., Yonemura T, Sugimachi K. Increased proliferative activity caused by loss of p21(WAF1/CIP1) expression and its clinical significance in patients with early-stage gastric carcinoma. *Cancer.* 94:2107-2112, 2002.
5. Kabashima A, Maehara Y, Koga T, Takeji Y., Sugimachi K. The biologic features of intramucosal gastric carcinoma with lymph node metastasis. *Surgery.* 131:S71-S77, 2002.
6. Takahashi I, Emi Y, Hasuda S, Takeji Y., Maehara Y, Sugimachi K. Clinical application of hyperthermia combined with anticancer drugs for the treatment of solid tumors. *Surgery.* 131:S78-S84, 2002.

学会発表

1. 第 74 回日本胃癌学会総会 (平成 14 年 2 月 7-9 日、東京)
ワークショップ 胃術後のフォローアップの方法
胃癌の分子診断に基づく術後フォローアップシステムと治療戦略
掛地 吉弘、木村 和恵、住吉 康史、
織田 信弥、江見 泰徳、前原 喜彦、
杉町 圭蔵
2. 第 102 回日本外科学会総会 (平成 14 年 4 月 11-13 日、

- 京都)
胃癌における低酸素による血管新生誘導の機序と
Tumor dormancy therapy へのアプローチ
掛地 吉弘、住吉 康史、江見 泰徳、
前原 喜彦、溝上 賢、米村 智弘、
斉藤 貴生、杉町 圭蔵
3. TS・DPD研究会 2002 (平成14年6月15日、東京)
TP およびDPD活性からみた胃癌術後補助化学療法
の効果
掛地 吉弘、桜井 真人、米村 祐輔、
木村 和恵、前原 喜彦
4. 第57回大腸癌研究会 (平成14年7月12日、仙台)
大腸癌におけるマイクロサテライト不安定性の
実態
掛地 吉弘、織田 信弥、桜井 真人、
米村 祐輔、木村 和恵、佐伯 浩司、
大賀 丈史、前原 喜彦
5. 第57回日本消化器外科学会総会
(平成14年7月27-30日、京都)
血管新生に関与する転写因子HIF-1, ETS-1の胃癌
における発現メカニズムと抗血管新生療法
掛地 吉弘、木村 和恵、住吉 康史、
前原 喜彦、杉町 圭蔵
6. 第12回日本サイトメトリー学会・学術集会
(平成14年8月2-3日、名古屋)
胃癌・大腸癌における高精度マイクロサテライト
不安定性解析法の確立
掛地 吉弘、織田 信弥、桜井 真人、
米村 祐輔、木村 和恵、佐伯 浩司、
大賀 丈史、前原 喜彦
7. 第13回日本消化器癌発生学会総会
(平成14年9月5-6日、大阪)
パネルディスカッション
消化器癌における抗癌剤、放射線感受性胃癌組織
におけるDPDおよびdThdPase活性からみた効果的
な補助化学療法に関する研究
掛地 吉弘、桜井 真人、米村 祐輔、
木村 和恵、前原 喜彦
8. 第61回日本癌学会総会
(平成14年10月1-3日、東京)
胃癌組織におけるhypoxia inducible factor (HIF) およ
びp53の発現と血管新生
掛地 吉弘、溝上 賢、桜井 真人、
米村 祐輔、木村 和恵、前原 喜彦
9. 第40回日本癌治療学会総会
(平成14年10月16-18日、東京)
プレナリーセッション 胃 手術療法
胃癌における微小転移の定量化とリンパ節郭清手
術の意義
掛地 吉弘、桜井 真人、米村 祐輔、
木村 和恵、佐伯 浩司、大賀 丈史、
前原 喜彦
10. The 3rd international symposium on cancer research
and therapy
(平成14年11月22-23日、東京)
Expression of transcription factors, HIF-1 and Ets-1, as
molecular targets for angiogenesis in gastric cancer.
Kakeji Y., Mizokami K., Kimura Y., Sumiyoshi Y.,
Oda S., Maehara Y., Sugimachi K.

スキルス胃癌の特異的発現遺伝子 WISP1V に関する研究

主任研究者 前原喜彦 九州大学大学院 消化器・総合外科

研究要旨

我々は targeted differential display 法を用いたクローニングにより、新しい癌関連遺伝子を発表している (Tanaka et al. *PNAS* 1998, *JCI* 1998, *JCI* 1999)。スキルス胃癌は早期に浸潤・転移をおこすため予後が極めて悪く、新しい診断法、そして治療法の確立が急務である。今回、targeted differential display 法を用いてスキルス胃癌の特異的発現遺伝子 WISP1v を発見し (GenBank 登録: AB034725)、WISP1v 分子が分泌蛋白質であること、細胞浸潤機能を持つことを解明した (Tanaka et al. *Oncogene* 2001)。この新しい遺伝子の発見により、スキルス胃癌の早期診断や再発診断が可能となるばかりか、WISP1v レセプターの解析に基づく WISP1v 標的治療の開発へと発展できる。このように本課題は基礎解析のみならず、臨床治療への応用をめざした画期的な研究である。

分担研究者;

田中 真二

九州大学大学院医学研究院助手

A. 研究目的

スキルス胃癌は早期に浸潤・転移をおこすため予後が極めて悪く、新しい診断法、そして治療法の確立が急務である。スキルス胃癌は著しい線維性間質を特徴とする低分化型腺癌であり、転移・浸潤能が高く予後は極めて悪いことが知られているが、その転移・浸潤に関する分子生物学的機序は不明な点が多い。近年、結合組織増殖因子 connective tissue growth factor (CTGF)、血管新生因子 Cyrteine-rich 61 (CYR61)、癌遺伝子 Nephroblastoma over-expressed (Nov)、Wnt 誘導遺伝子 Wnt-inducible signaling pathway (WISP) を含む新しい増殖因子ファミリー CCN が報告され、新規癌化シグナル分子群として高い注目を集めている。CCN ファミリーの蛋白は、細胞外マトリックスの関連分子と相同性を持つ4つのドメインから構成されるという特徴的な分子構造を持っている。その遺伝子異常が systemic scleroderma、pseudorheumatoid dysplasia の原因であることが報告され、軟部組織の増殖、変性に機能するとされている。このように、CCN ファミリーは間質-細胞相互関係に重要と考えられているが、間質に特徴を持つスキルス胃癌との関連は不明である。本研究では、我々開発した targeted differential display 法を用いて、スキルス胃癌における CCN ファミリーの包括的遺伝子発現解析を行ない、スキルス胃癌成立における分子生物学的機序を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

CCN consensus 配列に対する targeted differential display 法を用いて、スキルス胃癌の癌部特異的発現遺伝子を同定した。さらに、細胞への遺伝子導入による蛋白解析、機能解析を行なった。

C. 研究結果

CCN ファミリーに対する targeted differential display 法により、スキルス胃癌特異的発現遺伝子として von Willebrand type C ドメインが欠損した WISP1 variant 遺伝子を同定し、WISP1v と名付けた (GenBank 登録: AB034725)。ヒトゲノムデータベースを用いたコンピューター解析により WISP1 翻訳領域は5つの exon から成立することが判明したが、第2ドメインである von Willebrand type C 配列は第3 exon に全て含まれており、WISP1v はその splicing variant であることが明らかとなった。スキルス胃癌組織の解析では splicing donor site, acceptor site にも明らかな遺伝子変異は認められなかった。また NIH3T3 細胞を用いた遺伝子導入解析により、WISP1v は強い細胞形質変換能を持つ 30kDa の分泌蛋白質であることが示された。さらに WISP1v は胃癌細胞 Kato-III に対し細胞浸潤増強作用を示すことが明らかとなった。

D. 考察

CCN ファミリーの分子構造は、典型的には IGF-binding protein ドメイン、von Willebrand type C ドメイン、thrombo-spondin type 1 ドメイン、cysteine knot ドメインの4つのドメインから構成されている。しかし、Nov 蛋白の oncogenic form では第1ドメインが欠損しており、また、最近乳癌での発現が注目されている WISP2 では、もともと第4ドメインが欠損した形をとっている。我々がスキルス胃癌で同定した WISP1v は第2ドメインが欠損しており、その作用機序のさらなる解析は、新たな癌化シグナル伝達の解明へと発展できる。WISP1v 遺伝子の発見によりスキルス胃癌の早期診断や再発診断が可能となるばかりか、WISP1v レセプターの解析に基づく WISP1v 標的治療の開発へと発展できる。このように本課題は基礎解析のみならず、臨床治療への応用をめざした画期的な研究である。

E. 結論

スキルス胃癌から Wnt 誘導遺伝子に属する WISP1v をクローニングし、癌転移・浸潤に関与することを見出した。WISP1v は分泌蛋白質であり、診断のみならず分子標的としての可能性を持つことが示唆された。

F. 健康危険情報

WISP1v の発現解析により、スキルス胃癌の早期発見に貢献できる可能性がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Development of DNA microarray system-From Bench to Bed in Esophageal Cancers-
*Cytometry Research*12:121-129, 2002

Ohga T., Tanaka S., Maehara S., Futatsugi M., Ito S., Kimura Y., Saeki H., Kakeji Y., Maehara Y.

2. Interrelation Between Expression of Matrix Metalloproteinase 7 and β -Catenin in Esophageal Cancer
*Digestive Diseases and Sciences*47:2738-2742, 2002

Saeki H., Tanaka S., Sugimachi K., Kimura Y., Miyazaki M., Ohga T., Sugimachi K.

3. Variant WISPs as targets for gastrointestinal carcinomas.
Gastroenterology 123:392-3, 2002

Tanaka S., Sugimachi K., Shimada M., Maehara Y., Sugimachi K.

4. Tie2 vascular endothelial receptor expression and function in hepatocellular carcinoma.
*Hepatology*35:861-7, 2002

Tanaka S., Sugimachi K., Yamashita Yi., Ohga T., Shirabe K., Shimada M., Wands JR., Sugimachi K.

5. Electroporation-mediated tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)/Apo2L gene therapy for hepatocellular carcinoma.

- Human Gene Therapy13:275-86, 2002
 Yamashita Y., Shimada M., Tanaka S., Okamamoto M., Miyazaki J., Sugimachi K.
6. Minimally invasive hepatectomy: modulation of systemic reactions against operation or laparoscopic approach. Surgery131:S312-7, 2002
 Shimada M., Harimoto N., Maehara Y., Tsujita E., Rikimaru T., Yamashita Y., Tanaka S., Shirabe K.
7. 高度門脈侵襲肝癌に対する治療
 福岡医学雑誌 93:197-203, 2002
 調 憲、島田 光生、田中 真二、
 前田 貴司、前原 喜彦
8. 肝臓
 福岡医学会雑誌 93:13-19, 2002
 島田 光生、調 憲、田中 真二、
 前田 貴司、山下 洋市、力丸 竜也、
 辻田 英司、前原伸一郎、播本 憲史、
 池田 泰治、足立 英輔、宇都宮 徹、
 江崎 卓弘、古田斗志也、園田 孝志、
 松股 孝、竹中 賢治、兼松 隆之

切除不能胆道癌に対する新しい化学療法戦略：GFP療法

田中 真二、島田 光生、調 憲、前原伸一郎、
 前田 貴司、前原 喜彦

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 GenBank 登録: AB034725

2. 学会発表

1. 93rd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research (平成 14 年 4 月 10 日、San Francisco)
 A novel variant of WISP1 lacking a Von Willebrand type C module is associated with cancer invasion.
 Tanaka S., Sugimachi K., Ohga T., Shimada M., Maehara Y., Sugimachi K.
2. 第 102 回日本外科学会総会 (平成 14 年 4 月 11-13 日、京都) ワークショップ
 我々が同定したスキルス胃癌特異的遺伝子の構造と癌転移・浸潤における機能解析
 田中 真二、杉町 圭史、大賀 丈史、
 佐伯 浩司、島田 光生、前原 喜彦、
 杉町 圭蔵
3. 第 88 回日本消化器病学会総会 (平成 14 年 4 月 26 日、旭川) 国際シンポジウム
 A novel angiogenic switch gene as a molecular target for treatment of hepatocellular carcinoma.
 Tanaka S., Sugimachi K., Yamashita Yi., Shirabe K., Shimada M., Sugimachi K., Wands JR.
4. 第 57 回日本消化器外科学会総会 (平成 14 年 7 月 28-30 日、京都) シンポジウム
 我々が同定した新しい血管新生遺伝子の基礎解析から遺伝子治療への臨床応用
 田中 真二、杉町 圭史、山下 洋市、
 前原伸一郎、調 憲、島田 光生、杉町 圭蔵
5. 第 13 回日本消化器癌発生学会 (平成 14 年 9 月 5-6 日、大阪) ワークショップ
 新しい転移規定遺伝子のクローニングと機能解析による分子標的ペプチドの開発
 田中 真二、杉町 圭史、佐伯 浩司、
 大賀 丈史、島田 光生、前原 喜彦、
 杉町 圭蔵
6. 第 61 回日本癌学会 (平成 14 年 10 月 2 日、東京) ワークショップ
 新たに同定した Wnt-inducible signaling pathway (WISP) variants の解析
 田中 真二、杉町 圭史、佐伯 浩司、
 大賀 丈史、島田 光生、前原 喜彦
7. 53rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver diseases (平成 14 年 11 月 3 日、Boston) Angiopoietin/Tie2 signaling in progression of hepatocellular carcinoma.
 Tanaka S, Sugimachi K, Yamashita Yi, Maehara Si, Shirabe K, Mitsuo Shimada M, Wands JR, Maehara Y.
8. 第 64 回日本臨床外科学会 (平成 14 年 11 月 13 日、東京) シンポジウム
 「補助療法：胆道癌」

消化器癌におけるマイクロサテライト不安定性とミスマッチ修復異常に関する研究

主任研究者 前原 喜彦 九州大学大学院 消化器・総合外科

研究要旨

DNA ミスマッチ修復活性は多様な抗癌剤の感受性規定因子として知られ、その異常はマイクロサテライト不安定性により検索される。我々は従来の手法の問題点を解決した新しい解析系を確立し、胃癌を含めた多様な悪性腫瘍において網羅的に解析を行った。その結果、マイクロサテライト不安定性にはA,Bの2つのサブタイプが存在し、Aタイプがミスマッチ修復異常に直接起因する変化であることを同定した。

分担研究者；

織田 信弥

(国立病院九州がんセンター

・臨床研究部・病理学研究室室長)

A. 研究目的

細胞のDNA ミスマッチ修復活性は様々な抗癌剤への感受性を規定する因子としてクローズアップされている。悪性腫瘍治療において極めて重要な位置をしめる化学療法の治療ストラテジーを適正化することは急務である。しかしながら、このような重要な感受性規定因子を正確にとらえることは難しい。我々はこのミスマッチ修復異常を正確にとらえるために、独自に開発した新しい高精度マイクロサテライト不安定性解析系を用いて、ミスマッチ修復異常を与えられた切除標品において正確に同定することを研究の目的とした。

B. 研究方法

腫瘍切除標本より抽出されたゲノムDNAを用いて、独立した染色体上に存在する2塩基繰り替えしマイクロサテライト配列を蛍光プライマーを用いたPCRにより増幅、産物を自動シーケンサーに泳動・解析、正常組織より得られたプロファイルと比較し、マイクロサテライト不安定性の有無を同定する。

C. 研究結果

消化器癌を中心として多様な悪性腫瘍で網羅的にマイクロサテライト不安定性を解析したところ、興味深いことに、ヒト悪性腫瘍でみられるマイクロサテライト不安定性には2種類のカテゴリーが存在することがあきらかになった。ひとつは、変化の幅が6-bp以内にとどまるAタイプであり、今ひとつは8-bp以上に達するBタイプである。

D. 考察

これまで、マイクロサテライト不安定性は単純にミスマッチ修復異常に結び付けられていた。しかし、実際にはマイクロサテライト不安定性は2つのカテゴリーが存在し、ミスマッチ修復異常との関係も、これまで考えてこられたようには単純でないことが明らかになった。我々の研究グループによる諸解析によりAタイプのマイクロサテライト不安定性がミスマッチ修復異常を直接反映していることが明らかになりつつある。

E. 結論

化学療法ストラテジーを適正化するためには、抗癌剤への感受性を事前に予測可能にする感受性規定因

子の同定が不可欠である。多様な抗癌剤感受性を規定するとされるミスマッチ修復活性は、最も重要な感受性規定因子の一つと考えられる。しかしながら、腫瘍におけるミスマッチ修復異常を正確に同定するためには、正確なマイクロサテライト不安定性解析が必要となる。我々の研究が進捗することで、高精度なマイクロサテライト不安定性解析系が確立され、また観察されたマイクロサテライト不安定性の正確な意義が明らかになると結論される。

F. 健康危険情報

当該事項なし。

G. 研究発表

1. 発表論文

1. Micosatellite instability in cancer: What problems remain unanswered? *Surgery* 131: S55-62, 2002
Oda S., Maehara Y., Sumiyoshi Y., Sugimachi K.
2. Concurrent overexpression of Ets-1 and c-Met correlates with a phenotype of high cellular motility in human oesophageal cancer *International Journal of Cancer* 98:8-13, 2002
Saeki H., Oda S., Kawaguchi H., Ohno S., Kuwano H., Maehara Y., Sugimachi K.
3. Clinical significance of Vascular endothelial growth factor expression in gastric cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 21:125-129, 2002
Kakeji Y., Koga T., Sumiyoshi Y., Shibahara K., Oda S., Maehara Y., Sugimachi K.
4. Angiogenesis as a target for gastric cancer. *Surgery* 131:S48-54, 2002
Kakeji Y, Maehara Y, Sumiyoshi Y, Oda S, Emi Y, Sugimachi K.
5. ミスマッチ修復機構と遺伝的不安定性
放射線生物研究 37:53-66, 2002
江頭 明典、織田 信弥、前原 喜彦、續 輝久
6. 家族性腫瘍をめぐる諸問題—家族性腫瘍の診断と治療—
家族性胃癌の診断と治療
癌と化学療法 29:523-531, 2002
前原 喜彦、馬場 秀夫、織田 信弥、掛地 吉弘、江見 泰徳、杉町 圭蔵
7. 家族性胃癌の診断と治療
癌と化学療法 29:523-530, 2002
前原 喜彦、馬場 秀夫、織田 信弥、掛地 吉弘、江見 泰徳、杉町 圭蔵

2. 学会発表

1. 第61回日本癌学会総会(平成14年10月1-3日、東京) ミスマッチ修復異常によってもたらされるゲノム変化の包括的検討-*Msh2*遺伝子欠損マウスを用いた解析
江頭 明典、織田 信弥、真木 寿治、
関口 睦夫、前原 喜彦、続 輝久
2. 6th International Symposium on Predictive Oncology & Intervention Strategies (2002年2月9-12日、Paris)
Realities of microsatellite instability in human cancer
Oda S., Maehara Y., Sugimachi K.

H. 知的財産の出願・登録状況(予定を含む)
当該事項なし。