

- 13) 馬場秀夫、掛地吉弘、前原喜彦:
胃癌に対する標準的術後補助化学療法の確立に
向けた取り組み.
消化器病セミナー・93/ガイドライン時代の
胃癌の治療
へるす出版 139-151,2003
 - 14) Masuda T, Inoue H, Nishida K, Sonoda H,
Yoshikawa Y, Kakeji Y, Utsunomiya T, and
Mori M.
Cyclin-Dependent Kinase 1 Gene
Expression Is Associated with Poor
Prognosis in Gastric Carcinoma.
Clin Cancer Res, 9: 5693-5698, 2003
 - 15) 掛地吉弘、前原喜彦
患者用胃癌治療ガイドラインの意義と問題点
臨床消化器内科 18:229-233, 2003
 - 16) 掛地吉弘、櫻井真人、古賀 聡、馬場秀夫、
前原喜彦:
胃切除術のクリニカルパス.
消化器外科 26(4): 407-414, 2003
 - 17) 掛地吉弘、徳永えり子、沖 英次、馬場秀夫、
前原喜彦:
Tumor Dormancy Therapy: 胃癌.
癌の臨床 49(4): 297-301, 2003
 - 18) 掛地吉弘、織田信弥、櫻井真人、増田隆明、
木村和恵、徳永えり子、沖 英次、後 信、
渡邊雅之、馬場秀夫、前原喜彦:
高精度マイクロサテライト不安定性解析法の確
立と胃癌・大腸癌における検討.
Cytometry Research 13(1): 59-63, 2003
 - 19) 掛地吉弘、前原喜彦
患者用胃癌治療ガイドラインの意義と問題点
臨床消化器内科 18:229-233, 2003
- 5) 第12回日本がん転移学会
(平成15年6月27,28日、金沢)
ワークショップ 血管新生
胃癌細胞における hypoxia inducible factor
(HIF) および p53 異常蛋白の発現と血管新生
掛地吉弘、櫻井真人、米村祐輔、木村和恵、
佐伯浩司、大賀丈史、馬場秀夫、前原喜彦
 - 6) TS・DPD研究会2003
(平成15年7月5日、東京)
食道癌患者における末梢単核球中 DPD 活性測
定の意義
掛地吉弘、佐伯浩司、木村和恵、沖 英次、
後 信、渡邊雅之、馬場秀夫、前原喜彦
 - 7) 第14回日本消化器癌発生学会総会
(平成15年9月11日~12日、金沢)
一般演題
胃癌組織の血管新生における hypoxia
inducible factor (HIF) および p53 異常蛋白発
現の臨床的意義
掛地吉弘、迫口太郎、増田隆明、沖 英次、
後 信、渡邊雅之、馬場秀夫、前原喜彦、
家入里志、橋爪 誠
 - 8) 第41回日本癌治療学会総会
(平成15年10月22日~24日、札幌)
ポスターセッション
胃癌における Hypoxia inducible Factor (HIF)
による血管新生誘導の機序と分子標的治療への
応用
掛地吉弘、櫻井真人、木村和恵、沖 英次、
徳永えり子、渡邊雅之、馬場秀夫、前原喜彦

2. 学会発表

- 1) 第3回山陰BCM研究会
(平成15年1月24日、米子)
血管新生阻害剤と抗癌剤の併用による腫瘍増殖
抑制効果
掛地吉弘
- 2) 第75回日本胃癌学会総会
(平成15年2月6日~8日、東京)
ワークショップ
胃癌における p53 異常蛋白および hypoxia
inducible factor (HIF) の発現と浸潤転移
掛地吉弘、櫻井真人、米村祐輔、木村和恵、
沖 英次、織田信弥、前原喜彦
- 3) 第1回日本臨床腫瘍学会
(平成15年2月28日~3月1日、福岡)
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臨床的意義
掛地吉弘、櫻井真人、米村祐輔、木村和恵、
佐伯浩司、大賀丈史、前原喜彦
- 4) 第103回日本外科学会定期学術集会
(平成15年6月4日~6日、札幌)
サージカルフォーラム

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

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 ;
田中 真二
九州大学病院 講師

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同一性を持つ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。

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

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。

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) Tanaka S, Sugimachi K, Maehara Si, Shimada M, Maehara Y:
A loss of function mutation in WISP3 derived from microsatellite unstable gastric carcinoma. *Gastroenterology*, 125(5): 1563-4, 2003
- 2) Tanaka S, Sugimachi K, Kameyama T, Maehara Si, Shirabe K, Shimada M, Wands

- JR, Maehara Y:
Human WISP1v, a member of CCN family, is associated with invasive cholangiocarcinoma. *Hepatology*, 37(5):1122-9, 2003
- 3) Tanaka S, Sugimachi K, Yamashita Yi, Shirabe K, Shimada M, Wands JR, Sugimachi K:
Angiogenic switch as a molecular target of malignant tumors. *Journal of Gastroenterology*, 38 (Suppl. 15):93-7, 2003
- 4) Tanaka S, Shimada Y, Shirabe K, Maehara Si, Harimoto N, Tsujita E, Sugimachi K, Maehara Y:
A novel intrahepatic arterial chemotherapy after radical resection for advanced hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology*, in press
- 5) Sugimachi K, Tanaka S, Kameyama T, Taguchi Ki, Aishima Si, Shimada M, Sugimachi K, Tsuneyoshi M:
The Transcriptional Repressor Snail and Progression of Human Hepatocellular Carcinoma.
- 6) Sugimachi K, Tanaka S, Taguchi Ki, Shimada M, Sugimachi KJ Tsuneyoshi M:
Angiopoietin switching regulates angiogenesis and progression of human hepatocellular carcinoma. *Clin Pathol* 56 (11):854-60, 2003
- 7) Hamatsu T, Rikimaru T, Yamashita Y, Aishima S, Tanaka S, Shirabe K, Shimada M, Toh Y, Sugimachi K:
The role of MTA1 gene expression in human hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep*, 10(3):599-604, 2003
- 8) Yamashita Yi, Shimada M, Harimoto N, Rikimaru T, Shirabe K, Tanaka S, Sugimachi K:
Histone deacetylase inhibitor Trichostatin A induces cell cycle arrest/apoptosis and hepatocyte differentiation in human hepatoma cells. *Int J Cancer*, 103(5):572-6, 2003
- 9) Shirabe K, Shimada M, Tsujita E, Aishima S, Maehara S, Tanaka S, Takenaka K, Maehara Y:
Prognostic factors in node-negative intrahepatic cholangiocarcinoma with special reference to angiogenesis. *Am J Surg*, in press
- 10) Itoh S, Maeda T, Shimada M, Shirabe K, Tanaka S, Maehara Y:
Role of Expression of Focal Adhesion Kinase on Progression in Hepatocellular Carcinoma. *Clin Cancer Res*, in press
- pathway 1 variant (WISP1v) is associated with invasive cholangiocarcinoma. Tanaka S, Sugimachi K, Ohga T, Shimada M, Maehara Y, Sugimachi K. April 8, 2003, Tronto, Canada
- 2) 第89回日本消化器病学会総会
DNAチップを用いた新しい抗癌剤治療指標の開発と分子標的の同定 (シンポジウム)
田中真二、高橋和彦、前原喜彦
2003年4月26日、大宮
2003年6月6日、札幌
- 3) 日本消化器病学会中国支部第5回教育講演会
消化器癌関連遺伝子のクローニングとその臨床応用 (招待講演)
田中真二、島田光生、前原喜彦
2003年6月22日、出雲
- 4) 第12回日本癌病態治療研究会
癌病態からみた治療戦略：分子標的治療と治療個別化 (シンポジウム招待講演)
田中真二、島田光生、森 正樹、Jack R. Wands、前原喜彦
2003年7月3日、広島
- 5) 第19回福岡がん懇話会
分子機序に基づく癌の治療戦略 (シンポジウム招待講演)
田中真二、島田光生、森 正樹、Jack R. Wands、前原喜彦
2003年10月3日、福岡
- 6) 第39回日本医学放射線学会秋季臨床大会
脱分化課程と血管新生発現の機序 (シンポジウム招待講演)
田中真二、島田光生、前原喜彦
2003年10月10日、神戸
- 7) 54th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver diseases,
Wnt-inducible signaling pathway 1 variant (WISP1v), a novel oncogenic molecule, mediates cholangiocarcinoma invasion. Tanaka S, Sugimachi K, Maehara Si, Shirabe K, Mitsuo Shimada M, Wands JR, Maehara Y:
October 28, 2003, Boston, USA
- 8) 第26回日本分子生物学会、
Wnt-inducible signaling pathway (WISP)ファミリーと消化器癌 (シンポジウム招待講演)
田中真二、島田光生、前原喜彦
2003年12月12日、神戸

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) 94th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research,
A novel gene Wnt-induced signaling

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・主任研究官)

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。

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。

F. 健康危険情報

当該事項なし。

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。

G. 研究発表

1. 発表論文

1) Kimura Y, Oda S, Egashira A, Kakeji Y, Baba H, Nakabeppu Y, Maehara Y:
A variant form of *hMTH1*, a human homologue of *E. coli mutT* gene, correlates with somatic mutation in *p53* tumour suppressor gene in gastric cancer patients.
J. Med. Genet., in press.,2003

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。

2) Araki K, Wang B, Miyashita K, Cui Q, Ohno S, Baba H, Zhang R-G, Sugimachi K, Maehara Y, Oda S:
Frequent Loss of Heterozygosity but rare Microsatellite Instability in Oesophageal Cancer in Japanese and Chinese Patients.
Oncology (Basel), in press,2003

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

3) Oda S, Maehara Y:
Microsatellite instability in cancer: Assessment by High Resolution Fluorescent Microsatellite Analysis. In *Handbook for Immunohistochemistry and In situ Hybridization of Human Carcinomas, Volume 2: Molecular Pathology; Colorectal Carcinoma and Prostate Carcinoma.* in press,2003

- 4) 前原喜彦、織田信弥
ゲノム変化と発がん-マイクロサテライト不安
定性の新しい展開
福岡医学雑誌 94: 217-224, 2003

2. 学会発表

- 1) 7th International Symposium on Predictive
Oncology and Intervention Strategies (7. – 10. Feb.,
Nice, France)
Oda S
Complex relationship between defective DNA
mismatch repair and microsatellite instability in
human cancer.
- 2) 第62回日本癌学会総会、シンポジウム「DNA
複製とがん」(平成15年9月25-27日、名古屋)
織田信弥、前原喜彦
ヒト腫瘍にみられるゲノム変化と複製エラー

H. 知的財産の出願・登録状況(予定を含む)
当該事項なし。

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍 なし

雑誌

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Maehara Y	S-1 in gastric cancer: a comprehensive review.	Gastric Cancer	6(S1)	2-8	2003
Takahashi I, Kakeji Y, Emi Y, Sakurai M, Yonemura Y, Kimura Y, Maehara Y	S-1 in the treatment of advanced and recurrent gastric cancer: current state and future prospects.	Gastric Cancer	6(S1)	28-33,	2003
Baba H, Yamamoto M, Endo K, Ikeda Y, Toh Y, Kohnoe S, Okamura T	Clinical efficacy of S-1 combined with cisplatin for advanced gastric cancer.	Gastric Cancer	6(S1)	45-49	2003
前原喜彦、掛地吉弘、増田隆明、迫口太朗、今村公一、大垣吉平、谷口浩二、櫻井真人、二木元典、木村和恵、中村俊彦、徳永えり子、沖英次、後信、渡邊雅之、織田信弥、田中真二、馬場秀夫	胃癌治療の現況と展開	福岡医学雑誌	94(10)	285-295	2003
高橋郁雄、江見泰徳、渡邊雅之、沖英次、徳永えり子、後信、掛地吉弘、馬場秀夫、前原喜彦	進行再発胃癌に対するTS-1 単独療法の位置づけと taxotere 併用療法の展望	癌の臨床	49(7)	595-598	2003
馬場秀夫、掛地吉弘、沖英次、徳永えり子、後信、渡邊雅之、前原喜彦	胃癌に対する化学療法	癌と化学療法	30(12)	1881-1888	2003
馬場秀夫、掛地吉弘、迫口太朗、中村俊彦、沖英次、徳永えり子、後信、渡邊雅之、岡村健、前原喜彦	胃癌治療における新規抗癌剤の評価と位置付け	癌の臨床	49(7)	589-593	2003
馬場秀夫、櫻井真人、二木元典、木村和恵、増田隆明、沖英次、後信、渡邊雅之、掛地吉弘、前原喜彦	胃癌化学療法の変遷と現状	臨床と研究	80(7)	1216-1220	2003
馬場秀夫、沖英次、徳永えり子、後信、渡邊雅之、掛地吉弘、前原喜彦	進行再発胃癌の化学療法	消化器外科	26(9)	1337-1344	2003
掛地吉弘、織田信弥、櫻井真人、増田隆明、徳永えり子、沖英次、後信、渡邊雅之、馬場秀夫、前原喜彦	高精度マイクロサテライト不安定性解析法の確立と胃・大腸癌における検討	Cytometry Research	13(1)	59-63	2003