

学位論文の要旨

Impact of Overexpression of *Sushi Repeat-Containing Protein*

X-linked 2 Gene on Outcomes of Gastric Cancer

(胃癌における *SRPX2* 遺伝子過剰発現の臨床的意義)

Takanobu Yamada

山田貴允

Yokohama City University Department of surgery

横浜市立大学 外科治療学

(Doctoral Supervisor: Munetaka Masuda)

(指導教員: 益田 宗孝 教授)

Impact of Overexpression of *Sushi Repeat-Containing Protein X-linked 2* Gene on Outcomes of Gastric Cancer

(胃癌における SRPX2 遺伝子過剰発現の臨床的意義)

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jso.23602/full>

【背景と目的】

本邦において 2015 年現在, 胃癌による死亡は全がん死亡の中で男女ともに肺癌について第 2 位である(直腸癌と結腸癌を大腸癌とまとめた場合は, 女性は第 3 位). 手術を中心とした集学的治療によりその治療成績は向上しつつあるが, 切除不能胃癌もしくは再発胃癌の治療成績は未だ不良であると言わざるを得ない. 従来さまざまな予後を規定する因子が判明しているが, 近年分子生物学的因子の報告が多くされるようになった. さらにそれらを用いた個別化治療へ期待が高まっている.

われわれは本研究に先立ち, Biomarker 候補の検索目的で DNA マイクロアレイを用いて胃癌組織で高発現する遺伝子を検索した結果, SRPX2 遺伝子は intestinal type の胃癌組織で近接正常粘膜と比較して 7.99 倍高発現している遺伝子として同定された. SRPX2 はこれまでに, 腫瘍細胞において細胞の移動能力と接着性を亢進させ, さらに MAPK 経路を介して EMT を促進することが報告されている.

そこで我々は SRPX2 遺伝子に着目し, 胃癌における臨床的意義を検討した.

【対象と方法】

対象は, 2002 年から 2010 年の間に横浜市立大学附属市民総合医療センターと横浜市立大学附属病院で手術をうけた未治療胃癌患者のうち, 十分にインフォームドコンセントを行い同意が得られた者の原発腫瘍組織およびその近傍の正常粘膜各々 227 検体を対象とした.

方法は, 胃癌組織と隣接正常粘膜の mRNA を抽出して, 逆転写反応を用い cDNA を作成し, real-time PCR を用いて SRPX2 遺伝子の発現量を測定し, 臨床病理学的因子および生存との関係を検討した.

【結果】

SRPX2 遺伝子の発現量は, 近接正常粘膜と比較して, 胃癌組織で有意に高かった ($p < 0.001$). また SRPX2 遺伝子発現は, 年齢, 性別, 腫瘍径, 遠隔転移と有意な関連を認められた.

さらに, SRPX2 遺伝子発現と全生存率の関係では, SRPX2 遺伝子高発現で不良だった ($p = 0.003$). さらに多変量解析において, SRPX2 遺伝子は独立予後予測因子として選択された ($HR = 0.566, 95\% CI = 0.351-0.912$).

【考察】

近年 SRPX2 遺伝子は, てんかんや血管新生に関与し, 癌細胞においては細胞遊走や細胞接着を活発化させていることが報告されているが, 臨床的意義については解明され

ていない。そこでわれわれは、胃癌患者の臨床検体を用いて *SRPX2* 遺伝子発現を測定し、その臨床的意義を検討した。

SRPX2 遺伝子は、3つの Sushiドメインと1つのヒアリンドメインを有しており、Sushiドメインはタンパク同士ないしタンパク炭水化物間の相互反応を仲介し、ヒアリンドメインは細胞接着に役割を果たしているとされている(O'Leary et al., 2004, Callebaut et al., 2000)。*SRPX2* タンパクには消化管がんにおける機能解析の結果、プロテオグリカンとしての機能があると報告されている(Tanaka et al., 2012)。

われわれは、胃癌組織における *SRPX2* 遺伝子発現が近接正常粘膜と比較して有意に高発現であることを示した。これまでも胃癌組織において同様の報告は見られたが検体数は20例余であった(Tanaka et al., 2009)。今回われわれは、200例を超える検討で胃癌組織における *SRPX2* 遺伝子の高発現を確認した。

大腸癌においては正常粘膜と比較し腫瘍組織で *SRPX2* 遺伝子が高発現であることが報告されている(Tanaka et al., 2012, Oster et al., 2013)。我々の胃癌での検討でも同様に胃癌組織では *SRPX2* 発現が、近接正常粘膜と比較して有意に高値であった。さらに免疫組織染色において、*SRPX2* タンパクは胃癌細胞の細胞質に局限していることが分かった。これらより *SRPX2* タンパクは胃癌細胞に特に高発現している事がわかった。

また、*SRPX2* 発現が高値であるグループは生存が不良であることを示した。さらに *SRPX2* 発現が高値あることは多変量解析でも独立した予後規定因子として選択された。

以上より胃癌細胞における *SRPX2* 遺伝子発現が胃癌患者の予後に関与すると考えられた。我々はそのメカニズムについて以下のように考察した。

SRPX2 タンパクはウロキナーゼタイププラスミノゲン(uPAR)のリガンドとなることが報告されており、これは細胞外プラスミノゲンタンパク分解システムの一部を担い、最終的にMMPを活性化することから(Royer-Zemmour et al., 2008)、腫瘍細胞の浸潤能に関与していると考えられる。

【結論】

胃癌切除後の胃癌組織における *SRPX2* 遺伝子発現は、近接正常粘膜と比較して有意に高発現であり、*SRPX2* 遺伝子の高発現は胃癌切除後の予後予測因子として有用である可能性が示唆された。

【引用文献】

CALLEBAUT, I., GILGES, D., VIGON, I. & MORNON, J. P. 2000. HYR, an extracellular module involved in cellular adhesion and related to the immunoglobulin-like fold. *Protein Sci*, 9, 1382-90.

O'LEARY, J. M., BROMEK, K., BLACK, G. M., UHRINOVA, S., SCHMITZ, C., WANG, X., KRYCH, M., ATKINSON, J. P., UHRIN, D. & BARLOW, P. N. 2004. Backbone dynamics of complement control protein (CCP) modules reveals mobility in binding surfaces. *Protein Sci*, 13, 1238-50.

OSTER, B., LINNET, L., CHRISTENSEN, L. L., THORSEN, K., ONGEN, H., DERMITZAKIS, E. T., SANDOVAL, J., MORAN, S., ESTELLER, M., HANSEN, T. F., LAMY, P., LAURBERG, S., ORNTOFT, T. F. & ANDERSEN, C. L. 2013. Non-CpG island promoter hypomethylation and miR-149 regulate the expression of SRPX2 in colorectal cancer. *Int J Cancer*, 132, 2303-15.

ROYER-ZEMMOUR, B., PONSOLE-LENFANT, M., GARA, H., ROLL, P., LEVEQUE, C., MASSACRIER, A., FERRACCI, G., CILLARIO, J., ROBAGLIA-SCHLUPP, A., VINCENTELLI, R., CAU, P. & SZEPETOWSKI, P. 2008. Epileptic and developmental disorders of the speech cortex: ligand/receptor interaction of wild-type and mutant SRPX2 with the plasminogen activator receptor uPAR. *Hum Mol Genet*, 17, 3617-30.

TANAKA, K., ARAO, T., MAEGAWA, M., MATSUMOTO, K., KANEDA, H., KUDO, K., FUJITA, Y., YOKOTE, H., YANAGIHARA, K., YAMADA, Y., OKAMOTO, I., NAKAGAWA, K. & NISHIO, K. 2009. SRPX2 is overexpressed in gastric cancer and promotes cellular migration and adhesion. *Int J Cancer*, 124, 1072-80.

TANAKA, K., ARAO, T., TAMURA, D., AOMATSU, K., FURUTA, K., MATSUMOTO, K., KANEDA, H., KUDO, K., FUJITA, Y., KIMURA, H., YANAGIHARA, K., YAMADA, Y., OKAMOTO, I., NAKAGAWA, K. & NISHIO, K. 2012. SRPX2 is a novel chondroitin sulfate proteoglycan that is overexpressed in gastrointestinal cancer. *PLoS One*, 7, e27922.

論文目録

I 主論文

Impact of overexpression of Sushi repeat-containing protein X-linked 2 gene on outcomes of gastric cancer.

Yamada T, Oshima T, Yoshihara K, Sato T, Nozaki A, Shiozawa M, Ota M, Yoshikawa T, Akaike M, Numata K, Rino Y, Kunisaki C, Tanaka K, Imada T, Masuda M.

J Surg Oncol. 2014;109(8):836-40

II 副論文

なし

III 参考論文

1. Usefulness of Surgical Apgar Score on Predicting Survival After Surgery for Gastric Cancer.

Yamada T, Tsuburaya A, Hayashi T, Aoyama T, Fujikawa H, Shirai J, Cho H, Sasaki T, Rino Y, Masuda M, Yoshikawa T.

Ann Surg Oncol. 2016;(Suppl 5):757-763.

2. Easy method for fixation of the anvil using a one-handed sliding-knot technique after laparoscopic total gastrectomy.

Yamada T, Shirai J, Osaragi T, Sujishi K, Kumazu Y, Kamiya M, Sugano N, Hatori S, Yoneyama K, Kasahara A, Oshima T, Yukawa N, Rino Y, Yoshikawa T, Masuda M, Yamamoto Y. Asian

J Endosc Surg. 2015;8(4):483-6. doi: 10.1111/ases.12199.

3. Surgical Apgar score predicts postoperative complications after surgery for gastric cancer.

Yamada T, Tsuburaya A, Hayashi T, Aoyama T, Fujikawa H, Shirai J, Cho H, Rino Y, Masuda M, Yoshikawa T.

GOS. 2015;1(3):48-51.

4. The survival difference between gastric cancer patients from the UK and Japan remains after weighted propensity score analysis considering all background factors.

Yamada T, Yoshikawa T, Taguri M, Hayashi T, Aoyama T, Sue-Ling HM, Bonam K,

Hayden JD, Grabsch HI.

Gastric Cancer. 2016;19(2):479-89. doi: 10.1007/s10120-015-0480-5.

5. Feasibility of enhanced recovery after surgery in gastric surgery: a retrospective study.

Yamada T, Hayashi T, Aoyama T, Shirai J, Fujikawa H, Cho H, Yoshikawa T, Rino Y, Masuda M, Taniguchi H, Fukushima R, Tsuburaya A. BMC Surg. 2014;14:41. doi: 10.1186/1471-2482-14-41.

6. Chylorrhea following laparoscopy assisted distal gastrectomy with D1+ dissection for early gastric cancer: A case report.

Yamada T, Jin Y, Hasuo K, Maezawa Y, Kumazu Y, Rino Y, Masuda M. Int J Surg Case Rep. 2013;4(12):1173-5

7. Usefulness of enhanced recovery after surgery protocol as compared with conventional perioperative care in gastric surgery.

Yamada T, Hayashi T, Cho H, Yoshikawa T, Taniguchi H, Fukushima R, Tsuburaya A. Gastric Cancer. 2012; 15(1):34-41.

8. Overexpression of MMP-13 gene in colorectal cancer with liver metastasis.

Yamada T, Oshima T, Yoshihara K, Tamura S, Kanazawa A, Inagaki D, Yamamoto N, Sato T, Fujii S, Numata K, Kunisaki C, Shiozawa M, Morinaga S, Akaike M, Rino Y, Tanaka K, Masuda M, Imada T. Anticancer Res. 2010;30(7):2693-9.

9. Postoperative weight loss leads to poor survival through poor S-1 efficacy in patients with stage II/III gastric cancer.

Aoyama T, Sato T, Maezawa Y, Kano K, Hayashi T, Yamada T, Yukawa N, Oshima T, Rino Y, Masuda M, Ogata T, Cho H, Yoshikawa T. Int J Clin Oncol. 2017. doi: 10.1007/s10147-017-1089-y. [Epub ahead of print]

10. Risk Factors for the Loss of Lean Body Mass After Gastrectomy for Gastric Cancer.

Aoyama T, Sato T, Segami K, Maezawa Y, Kano K, Kawabe T, Fujikawa H, Hayashi T, Yamada T, Tsuchida K, Yukawa N, Oshima T, Rino Y, Masuda M, Ogata

T, Cho H, Yoshikawa T.

Ann Surg Oncol. 2016;23(6):1963-70. doi: 10.1245/s10434-015-5080-4.

11. Impact of preoperative hand grip strength on morbidity following gastric cancer surgery.Sato

T, Aoyama T, Hayashi T, Segami K, Kawabe T, Fujikawa H, Yamada T, Yamamoto N, Oshima T, Rino Y, Masuda M, Ogata T, Cho H, Yoshikawa T.

Gastric Cancer. 2016;19(3):1008-15. doi: 10.1007/s10120-015-0554-4.

12. Clinical significance of IGF1R gene expression in patients with Stage II/III gastric cancer who receive curative surgery and adjuvant chemotherapy with S-1.

Numata K, Oshima T, Sakamaki K, Yoshihara K, Aoyama T, Hayashi T, Yamada T, Sato T, Cho H, Shiozawa M, Yoshikawa T, Rino Y, Kunisaki C, Akaike M, Imada T, Masuda M.

J Cancer Res Clin Oncol. 2016;142:415-22.

13. Body composition analysis within 1 month after gastrectomy for gastric cancer.

Aoyama T, Kawabe T, Hirohito F, Hayashi T, Yamada T, Tsuchida K, Sato T, Oshima T, Rino Y, Masuda M, Ogata T, Cho H, Yoshikawa T.

Gastric Cancer. 2016;19(2):645-50. doi: 10.1007/s10120-015-0496-x.

14. Loss of Lean Body Mass as an Independent Risk Factor for Continuation of S-1 Adjuvant Chemotherapy for Gastric Cancer.

Aoyama T, Kawabe T, Fujikawa H, Hayashi T, Yamada T, Tsuchida K, Yukawa N, Oshima T, Rino Y, Masuda M, Ogata T, Cho H, Yoshikawa T.

Ann Surg Oncol. 2015;22(8):2560-6.

15. Exploratory Analysis to Find Unfavorable Subset of Stage II Gastric Cancer for Which Surgery Alone Is the Standard Treatment; Another Target for Adjuvant Chemotherapy.

Aoyama T, Yoshikawa T, Fujikawa H, Hayashi T, Ogata T, Cho H, Yamada T, Hasegawa S, Tsuchida K, Yukawa N, Oshima T, Rino Y, Masuda M.

Int Surg. 2014; 99(6): 835-41.

16. Prognostic factors in stage IB gastric cancer.

Aoyama T, Yoshikawa T, Fujikawa H, Hayashi T, Ogata T, Cho H, Yamada T,

Hasegawa S, Tsuchida K, Yukawa N, Oshima T, Oba MS, Morita S, Rino Y, Masuda M.

World J Gastroenterol. 2014; 20(21): 6580-5

17. Matched Pair Analysis to Examine the Effects of a Planned Preoperative Exercise Program in Early Gastric Cancer Patients with Metabolic Syndrome to Reduce Operative Risk: The Adjuvant Exercise for General Elective Surgery (AEGES) Study Group.

Cho H, Yoshikawa T, Oba MS, Hirabayashi N, Shirai J, Aoyama T, Hayashi T, Yamada T, Oba K, Morita S, Sakamoto J, Tsuburaya A.

Ann Surg Oncol. 2014; 21:2044-2050

18. Impact of infectious complications on gastric cancer recurrence.

Hayashi T, Yoshikawa T, Aoyama T, Hasegawa S, Yamada T, Tsuchida K, Fujikawa H, Sato T, Ogata T, Cho H, Oshima T, Rino Y, Masuda M.

Gastric Cancer. 2014; 18: 368-374

19. Randomized Comparison of Surgical Stress and the Nutritional Status Between Laparoscopy-Assisted and Open Distal Gastrectomy for Gastric Cancer. Aoyama T, Yoshikawa T, Hayashi T, Hasegawa S, Tsuchida K, Yamada T, Cho H, Ogata T, Fujikawa H, Yukawa N, Oshima T, Rino Y, Masuda M. Ann Surg Oncol. 2014;21(6):1983-90. doi: 10.1245/s10434-014-3509-9.

20. Clinical significance of SPARC gene expression in patients with gastric cancer.

Sato T, Oshima T, Yamamoto N, Yamada T, Hasegawa S, Yukawa N, Numata K, Kunisaki C, Tanaka K, Shiozawa M, Yoshikawa T, Akaike M, Rino Y, Imada T, Masuda M.

J Surg Oncol. 2013;108(6):364-8.

21. Body weight loss after surgery is an independent risk factor for continuation of S-1 adjuvant chemotherapy for gastric cancer.

Aoyama T, Yoshikawa T, Shirai J, Hayashi T, Yamada T, Tsuchida K, Hasegawa S, Cho H, Yukawa N, Oshima T, Rino Y, Masuda M, Tsuburaya A.

Ann Surg Oncol. 2013;20(6):2000-6.

22. Esophagus or stomach? The seventh TNM classification for Siewert type II/III

junctional adenocarcinoma. Hasegawa S, Yoshikawa T, Aoyama T, Hayashi T, Yamada T, Tsuchida K, Cho H, Oshima T, Yukawa N, Rino Y, Masuda M, Tsuburaya A.

Ann Surg Oncol. 2013;20:773-9.

23. Laparoscopic esophagojejunostomy using the EndoStitch and a circular stapler under a direct view created by the ENDOCAMELEON.

Yoshikawa T, Hayashi T, Aoyama T, Cho H, Fujikawa H, Shirai J, Hasegawa S, Yamada T, Oshima T, Yukawa N, Rino Y, Masuda M, Ogata T, Tsuburaya A.

Gastric Cancer. 2013;16(4):609-14. doi: 10.1007/s10120-012-0211-0.

24. A prospective feasibility and safety study of laparoscopy-assisted distal gastrectomy for clinical stage I gastric cancer initiated by surgeons with much experience of open gastrectomy and laparoscopic surgery.

Yoshikawa T, Cho H, Rino Y, Yamamoto Y, Kimura M, Fukunaga T, Hasegawa S, Yamada T, Aoyama T, Tsuburaya A.

Gastric Cancer. 2013;16(2):126-32.

25. Small bud of probable gastrointestinal stromal tumor within a laparoscopically-resected gastric schwannoma.

Cho H, Watanabe T, Aoyama T, Hayashi T, Yamada T, Ogata T, Yoshikawa T, Tsuburaya A, Sekiguchi H, Nakamura Y, Sakuma Y, Kameda Y, Miyagi Y.

Int J Clin Oncol. 2012;17(3):294-8. doi: 10.1007/s10147-011-0296-1.

26. Clinical significance of STC1 gene expression in patients with colorectal cancer.

Tamura S, Oshima T, Yoshihara K, Kanazawa A, Yamada T, Inagaki D, Sato T, Yamamoto N, Shiozawa M, Morinaga S, Akaike M, Kunisaki C, Tanaka K, Masuda M, Imada T

Anticancer Res. 2011;31(1):325-9

27. Overexpression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 gene correlates with poor outcomes in colorectal cancer.

Inagaki D, Oshima T, Yoshihara K, Tamura S, Kanazawa A, Yamada T, Yamamoto N, Sato T, Shiozawa M, Morinaga S, Akaike M, Fujii S, Numata K, Kunisaki C, Rino Y, Tanaka K, Masuda M, Imada T

Anticancer Res. 2010;30(10):4127-30.

28. Relation of MT1-MMP gene expression to outcomes in colorectal cancer.

Kanazawa A, Oshima T, Yoshihara K, Tamura S, Yamada T, Inagaki D, Sato T, Yamamoto N, Shiozawa M, Morinaga S, Akaike M, Kunisaki C, Tanaka K, Masuda M, Imada T.

J Surg Oncol. 2010;102(6):571-5.

29. Phase II Study of S-1 Monotherapy as a First-line, Combination Therapy of S-1 plus Cisplatin as a Third-line Therapy in Patients with Advanced Gastric Carcinoma.

Rino Y, Yukawa N, Wada N, Suzuki M, Murakami H, Yamada T, Nakayama H, Yamamoto N, Sato T, Yamada R, Ohshima T, Masuda M, Imada T.

Clin Med Oncol. 2008;2:375-83.

30. Changes in vitamin D after gastrectomy.

Rino Y, Yamamoto Y, Wada N, Yukawa N, Murakami H, Tamagawa H, Yamada T, Ohshima T, Masuda M, Imada T.

Gastric Cancer. 2007;10(4):228-33.

31. Laparoscopy-assisted Distal Gastrectomy with 3-cm Laparotomy, Left Hepatic Lobe Compression Technique, and Selection of Automatic Anastomosis Device.

Rino Y, Ashida A, Harada H, Kawamoto M, Inagaki D, Yukawa N, Saeki H, Kanari M, Yamada T, Masuda M, Ohshima T, Yamada R, Imada T.

Hepatogastroenterology. 2007;54(73):4-9.

logy. 2007 Jan-Feb;54(73):4-9.