

「テーラーメイド医療を目指したゲノム情報活用基盤技術」
平成 16 年度採択研究代表者

森 正樹

(九州大学生体防御医学研究所 教授)

「大腸癌の発生、進展および治療感受性に関わる因子の解析」

1. 研究実施の概要

日本人の癌の生存率向上は重要な課題である。本研究の目的は発生頻度が急増している大腸癌の発生、進展および治療感受性に関わる因子を明らかにすることで、大腸癌のテーラーメイド医療を具現化し、もって予後改善に寄与することである。解析は腫瘍側因子、宿主側因子、環境側因子の3面から多数例を用いて精密に行うことが、本研究の特徴である。腫瘍側因子には microdissection, cDNA microarray を用いた遺伝子発現解析と遺伝子変異解析を、宿主側因子には遺伝子多型解析を、環境側因子には生活習慣のアンケートによる疫学的解析を用いる。具体的には次の3つの柱を構築する：①大腸癌発生に関する疫学的要因、遺伝子多型の解明を患者 2000 例、対照 3000 例で行う。②大腸癌の予後を左右する肝転移とリンパ節転移に関わる腫瘍側因子の解析を 500 例で、宿主側因子の解析を 1000 例で行う。さらに③抗癌剤の感受性に関わる因子の解析のために、腫瘍側、宿主側および環境側因子の解析を 400 例で行う。

本研究遂行のためには、日本最高レベルの診療技術を有し、診療レベルに偏りのない施設の協力が不可欠であるため、最高レベルの患者資料を提供できる7施設を選抜した。本研究で得られる結果は大腸癌のテーラーメイド医療のエビデンス（基盤情報）になる。

本研究は①臨床研究に関する倫理指針、②疫学研究に関する倫理指針、③ヒトゲノム・遺伝子解析に関する指針に準拠し、その根幹であるヘルシンキ宣言を尊重し、厳正かつ科学的に行う。本研究は多施設共同研究であり、それぞれの機関の倫理委員会の認可・管理のもとで研究を進める。

2. 研究実施内容

研究2年度目の平成17年には研究協力7機関の研究体制を確立し、疫学的要因解析のためのアンケートおよび遺伝子多形解析用の血液サンプルを平成18年3月時点で2100例収集した。内訳はコントロール群1150例、大腸癌群950例である。予定症例数の42%の収集が完了している。このうち1700例はすでに多型解析用にDNA化が完了した。腫瘍側の因子解析のための腫瘍サンプルは200例収集した。これは予定症例数の

50%である。現時点でのサンプル収集スピードでは疫学的要因解析のためのアンケートおよび遺伝子多形解析用の血液サンプルについては平成18年度中には合計4000例収集可能である。また腫瘍サンプルについてもLMD法による腫瘍細胞のみの回収法の確立、DNA、RNAの高効率回収法、高精度の核酸品質検定等々が可能となり、マイクロアレイ発現解析、アレイCGH法によるゲノム解析を行っている。

(A) 多形解析としては対象遺伝子を100遺伝子に絞り、それぞれについては実際に平均3箇所の解析対象多形部位を決定したが、実際に多型分析を開始するにあたり、研究開始以来新たに癌と多型について最新の情報が多く報告されているため、これらの多型研究の進展を考慮して、多型解析をおおきく二つにわけて検索することとした。

(1) 機能多型解析：報告されている多くの多型の中で、その多型が蛋白機能を大きく変化させることが生化学的に報告されているもの、およびすでに様々な癌種で癌の発生や進展に関連が示唆されているものを約30種類を選択した。これらについて現在大腸癌群380例、コントロール群380例について、多型解析を実際に進めているところである。

(2) 一般の多型解析：残りの多型の中から、日本人コントロール症例で10%以上のマイナーアレル頻度が認められ、なおかつSNPs strengthが充分高いものを70種類選択しているところである。これらについては3年次以降に残りの症例を用いて大規模スクリーニングを行う予定である。

(B) 腫瘍因子解析：17年度は切除腫瘍サンプルのLMD+マイクロアレイ解析を開始している。現時点で約40例の解析が進行中である。18年度はこの解析を150例まで進めたいと考えている。

(C) 生活習慣アンケート解析：アンケートはすでに2100例収集している。17年度は統計解析用のソフトウェアを独自に外注・作成したが、これによりアンケート内容のデジタル化を効率よく進めることが可能になった。18年度には、各種因子解析を開始する予定である。

3. 研究実施体制

九州大学生体防御医学研究所 細胞機能制御学部門グループ

①研究分担グループ長：森 正樹（九州大学、教授）

②研究項目：

1. 大腸癌 DNA・RNA 標本の蒐集・データベース作成
2. 大腸癌患者における SNPs 解析
3. 大腸癌患者におけるDNAマイクロアレイ法による発現プロファイル・データベース作成

九州大学生体防御医学研究所 ゲノム機能制御学部門グループ

①研究分担グループ長：山本 健（九州大学、助教授）

②研究項目：

1. 大腸がん患者、検診被検者検体を対象とした候補遺伝子 SNP 解析とデータベース構築
2. 新しい診断用 SNP 解析システムの開発

北里大学外科グループ

①研究分担グループ長：渡邊 昌彦（北里大学、教授）

②研究項目：

1. 日本人 SNPs データベースの作成
2. 大腸癌患者における SNPs 解析

国立がんセンター中央病院外科グループ

①研究分担グループ長：森谷 亘皓（国立がんセンター中央病院、医長）

②研究項目：

1. 日本人 SNPs データベースの作成
2. 大腸癌患者における SNPs 解析

昭和大学横浜市北部病院消化器センターグループ

①研究分担グループ長：工藤 進英（昭和大学、教授）

②研究項目：

1. 大腸癌検診被検者による SNPs データベースの作成
2. 大腸癌患者における SNPs 解析

東京医科歯科大学外科グループ

①研究分担グループ長：杉原 健一（東京医科歯科大学、教授）

②研究項目：

1. 大腸癌検診被検者による SNPs データベースの作成
2. 大腸癌患者における SNPs 解析

防衛医科大学第1外科グループ

①研究分担グループ長：望月 英隆（防衛医科大学、教授）

②研究項目：

1. 大腸癌検診被検者による SNPs データベースの作成
2. 大腸癌患者における SNPs 解析

三重大大学第2外科グループ

①研究分担グループ長：楠 正人（三重大大学、教授）

②研究項目：

1. 大腸癌検診被検者による SNPs データベースの作成
2. 大腸癌患者における SNPs 解析

名古屋市立大学大学院医学研究科予防・社会医学専攻健康科学・ 環境生態学講座健康増進・予防医学分野グループ

①研究分担グループ長：徳留 信寛（名古屋市立大学、教授）

②研究項目：健康調査表の作成・疫学的解析・統計解析

4. 主な研究成果の発表

- Mimori, K., Ishii, H., Nagahara, H., Sudo, T., Yamashita, K., Inoue, H., Barnard, G. F., and Mori, M. FHIT is up-regulated by inflammatory stimuli and inhibits prostaglandin E2-mediated cancer progression. *Cancer Res*, 66: 2683-2690, 2006.
- Sonoda, H., Inoue, H., Ogawa, K., Utsunomiya, T., Masuda, T. A., and Mori, M. Significance of skp2 expression in primary breast cancer. *Clin Cancer Res*, 12: 1215-1220, 2006
- Ogawa, K., Utsunomiya, T., Mimori, K., Tanaka, F., Haraguchi, N., Inoue, H., Murayama, S., and Mori, M. Differential gene expression profiles of radioresistant pancreatic cancer cell lines established by fractionated irradiation. *Int J Oncol*, 28: 705-713, 2006.
- Mimori, K., Nagahara, H., Sudo, T., Ishii, H., Yamashita, K., Barnard, G. F., and Mori, M. The epidermal growth factor receptor gene sequence is highly conserved in primary gastric cancers. *J Surg Oncol*, 93: 44-46, 2006.
- Tsutsui, S., Inoue, H., Yasuda, K., Suzuki, K., Takeuchi, H., Nishizaki, T., Higashi, H., Era, S., and Mori, M. Angiopoietin 2 expression in invasive ductal carcinoma of the breast: its relationship to the VEGF expression and microvessel density. *Breast Cancer Res Treat*, 2006.
- Tsutsui, S., Inoue, H., Yasuda, K., Suzuki, K., Higashi, H., Era, S., and Mori, M. Reduced expression of PTEN protein and its prognostic implications in invasive ductal carcinoma of the breast. *Oncology*, 68: 398-404, 2005.
- Tsutsui, S., Inoue, H., Yasuda, K., Suzuki, K., Tahara, K., Higashi, H., Era, S., and Mori, M. Inactivation of PTEN is associated with a low p27Kip1 protein expression in breast carcinoma. *Cancer*, 104: 2048-2053, 2005.

- Sudo, T., Utsunomiya, T., Mimori, K., Nagahara, H., Ogawa, K., Inoue, H., Wakiyama, S., Fujita, H., Shirouzu, K., and Mori, M. Clinicopathological significance of EZH2 mRNA expression in patients with hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer*, 92: 1754–1758, 2005.
- Ogawa, K., Utsunomiya, T., Mimori, K., Yamashita, K., Okamoto, M., Tanaka, F., Inoue, H., Ikeda, Y., Saku, M., Murayama, S., and Mori, M. Genomic screens for genes upregulated by demethylation in colorectal cancer: possible usefulness for clinical application. *Int J Oncol*, 27: 417–426, 2005.
- Nagahara, H., Mimori, K., Utsunomiya, T., Barnard, G. F., Ohira, M., Hirakawa, K., and Mori, M. Clinicopathologic and biological significance of kallikrein 6 overexpression in human gastric cancer. *Clin Cancer Res*, 11: 6800–6806, 2005.
- Mimori, K., Kataoka, A., Yoshinaga, K., Ohta, M., Sagara, Y., Yoshikawa, Y., Ohno, S., Barnard, G. F., and Mori, M. Identification of molecular markers for metastasis-related genes in primary breast cancer cells. *Clin Exp Metastasis*, 22: 59–67, 2005.
- Mandelker, D. L., Yamashita, K., Tokumaru, Y., Mimori, K., Howard, D. L., Tanaka, Y., Carvalho, A. L., Jiang, W. W., Park, H. L., Kim, M. S., Osada, M., Mori, M., and Sidransky, D. PGP9.5 promoter methylation is an independent prognostic factor for esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res*, 65: 4963–4968, 2005.
- Ishii, H., Mimori, K., Yoshikawa, Y., Mori, M., Furukawa, Y., and Vecchione, A. Differential roles of E-type cyclins during transformation of murine E2F-1-deficient cells. *DNA Cell Biol*, 24: 173–179, 2005.
- Ishii, H., Mimori, K., Inageta, T., Murakumo, Y., Vecchione, A., Mori, M., and Furukawa, Y. Components of DNA damage checkpoint pathway regulate UV exposure-dependent alterations of gene expression of FHIT and WWOX at chromosome fragile sites. *Mol Cancer Res*, 3: 130–138, 2005.
- Ishii, H., Inageta, T., Mimori, K., Saito, T., Sasaki, H., Isobe, M., Mori, M., Croce, C. M., Huebner, K., Ozawa, K., and Furukawa, Y. Frag1, a homolog of alternative replication factor C subunits, links replication stress surveillance with apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102: 9655–9660, 2005.
- Ishii, H., Mimori, K., Mori, M., and Vecchione, A. Differentially expressed genes in endothelial differentiation. *DNA Cell Biol*, 24: 432–437, 2005.
- Inoue, H., Shibuta, K., Matsuyama, A., Yoshinaga, K., Sadanaga, N., Ueo, H., Barnard, G. F., and Mori, M. Genetic susceptibility of catechol-O-methyltransferase polymorphism in Japanese patients with breast cancer. *Oncol Rep*, 14: 707–712, 2005.

- Haraguchi, N., Utsunomiya, T., Inoue, H., Tanaka, F., Mimori, K., Barnard, G. F., and Mori, M. Characterization of a Side Population of Cancer Cells from Human Gastrointestinal System. *Stem Cells*, 2005.
- Calin, G. A., Trapasso, F., Shimizu, M., Dumitru, C. D., Yendamuri, S., Godwin, A. K., Ferracin, M., Bernardi, G., Chatterjee, D., Baldassarre, G., Rattan, S., Alder, H., Mabuchi, H., Shiraishi, T., Hansen, L. L., Overgaard, J., Herlea, V., Mauro, F. R., Dighiero, G., Movsas, B., Rassenti, L., Kipps, T., Baffa, R., Fusco, A., Mori, M., Russo, G., Liu, C. G., Neuberg, D., Bullrich, F., Negrini, M., and Croce, C. M. Familial cancer associated with a polymorphism in ARLTS1. *N Engl J Med*, 352: 1667–1676, 2005.