

「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

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(5000例)を用いて精密に行うことが、本研究の特徴である。平成18年度は大腸癌、コントロール群の集積数を合計4328例(予定数の87%)まで増加させることができた。解析結果としては(1)機能多型解析を600例(大腸癌300例、コントロール群300例)に施行し発癌要因としてSMYD3のVNTR多型について有意な差を認めた($p=0.05$)。更に50万SNPsアレイを用いた大規模多型解析を開始した。また(2)発現解析では、遺伝子発現解析で癌発生に強く関連する遺伝子として70個の遺伝子を抽出した。ゲノムアレイ解析も開始した。更に(3)1800例(大腸癌900例、コントロール群900例)を対象とした疫学的解析(主として食生活因子解析)を開始した。以上、症例の集積、腫瘍側因子、宿主側因子、環境側因子の3面からの解析は順調に推移している。平成19年度中には予定の5000例症例集積が完了する予定であり、研究の焦点は50万SNPsアレイ解析、腫瘍遺伝子発現解析、ゲノム変異解析、疫学解析に移行する。

2. 研究実施内容

研究3年度目の平成18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4328例収集した。内訳はコントロール群2540例、大腸癌群1781例である。予定症例数の87%の収集が完了している。このうち3200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280例収集した。これは予定症例数の70%である。アンケートのデータベース化も進行しており現在2536例が終了している。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19年度中には計画予定数である合計5000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。アンケート解析も 1600 例を対象に開始した。

(A)多型解析：

(1) 機能多型解析を大腸癌患者 300 例、対照 300 例の末梢血由来 DNA について施行した。欧米で大腸癌発癌に関与すると報告されている機能的多型を持つ 20 遺伝子多型 (SMYD3、PPARG、TP53、STK15、IGFBP3 等々)を TaqMan PCR あるいは microsatellite 法で解析し、シーケンスで確認した。その結果 (1)単一遺伝子多型解析では SMYD3 の VNTR 多型について遺伝子型(1/2)subtype 頻度が対照群 16%、大腸癌群 22%と有意な差を認めた($p=0.05$)。その他の遺伝子多型には有意な差を認めなかった。(2) 2 遺伝子による複合多型解析では SMYD3、STK15、ADPRT 遺伝子のうちいずれの 2 つの組み合わせでも p 値 0.019~0.041 の有意な差を認めた。日本人大腸癌で多型を認める遺伝子が少ないことが明らかになったが、これは日本人特有な遺伝的均一性に原因があるのか、あるいは本研究の症例集積に原因があるのか現時点では不明であるが、今後研究を進展させ明らかにしていきたい。

(2) 包括的多型解析：平成 18 年度から新たな多型解析法としてアフィメトリクス社の 500K SNPs array を用いた包括的で大規模なスクリーニングを開始した。(1)一次スクリーニングとして大腸癌患者 500 例、対照 500 例の末梢血由来 DNA による 50 万カ所 SNPs スクリーニングを行い、この中から大腸癌発癌関連多型を 10000 カ所抽出する。(2) 二次スクリーニングとして新たな大腸癌患者 500 例、対照 500 例についてこの大腸癌発癌関連多型 (10000 カ所) を検討し、関連多型を絞り込んでいきたい。一次スクリーニングは平成 18 年 12 月より開始しており現在大腸癌患者 200 例、対照 200 例の検索が終了している。

(B)腫瘍因子解析：

(1) 発現解析：18 年度は切除腫瘍サンプルの LMD+マイクロアレイ発現解析は 100 例の解析が終了した。発現解析では、遺伝子発現解析で癌発生に強く関連する遺伝子として 70 個の遺伝子を抽出した。この中で COL12A1L、PSK-J3、BLP1、TM2D2、OCT3、SOX4、HFH1、MMP-7、MAD2、EIF2 については細胞生物学的実験を現在行っている。19 年度はこの解析を 150 例まで進めたいと考えている。

(2) ゲノム解析：18 年度は切除腫瘍サンプルの LMD+マイクロアレイゲノム解析は 30 例の解析が終了した。染色体ごとの詳しいマッピングを現在行うと共に (1)における発現プロファイルとの関連も現在解析中である。19 年度はこの解析を 100 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：アンケートのデータベース化は現在2536例が終了している。18年度は、このうち1800例について end point を大腸癌発癌においた解析を開始した。

3. 研究実施体制

(1)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（森 正樹）

①研究者名

森 正樹(九州大学 教授)

②研究項目

- ・大腸癌 DNA・RNA 標本の蒐集・データベース作成
- ・大腸癌患者における SNPs 解析
- ・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

(2)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（山本 健）

①研究者名

山本 健(九州大学 助教授)

②研究項目

- ・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
- ・新しい診断用 SNP 解析システムの開発

(3)北里大学外科グループ（渡邊 昌彦）

①研究者名

渡邊昌彦(北里大学 教授)

②研究項目

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

(4)国立がんセンター中央病院外科グループ（森谷 亘皓）

①研究者名

森谷亘皓(国立がんセンター中央病院 医長)

②研究項目

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

(5) 昭和大学横浜市北部病院消化器センターグループ (工藤 進英)

① 研究者名

工藤進英 (昭和大学 教授)

② 研究項目

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

(6) 東京医科歯科大学外科グループ (杉原 健一)

① 研究者名

杉原健一 (東京医科歯科大学 教授)

② 研究項目

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

(7) 防衛医科大学第 1 外科グループ (望月 英隆)

① 研究者名

望月英隆 (防衛医科大学 教授)

② 研究項目

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

(8) 三重大学第 2 外科グループ (楠 正人)

① 研究者名

楠 正人 (三重大学 教授)

② 研究項目

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

(9) 埼玉県立がんセンター外科グループ (西村 洋司)

① 研究者名

西村 洋司 (埼玉がんセンター 医長)

② 研究項目 :

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

(10) 高野病院グループ (山田 一隆)

① 研究者名

山田 一隆(社団 高野会 高野病院 院長)

② 研究項目

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

(11) 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 (徳留 信寛)

① 研究者名

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. 研究成果の発表等

(1) 論文発表(原著論文)

- Utsunomiya T, Okamoto M, Wakiyama S, Hashimoto M, Fukuzawa K, Ezaki T, Aishima S, Yoshikawa Y, Hanai T, Inoue H, Barnard GF, Mori M. A specific gene-expression signature quantifies the degree of hepatic fibrosis in patients with chronic liver disease. **World J Gastroenterol** 2007;13(3):383-90.
- Sudo T, Mimori K, Nagahara H, Utsunomiya T, Fujita H, Tanaka Y, Shirouzu K, Inoue H, Mori M. Identification of EGFR mutations in esophageal cancer. **Eur J Surg Oncol** 2007;33(1):44-8.
- Nakamura Y, Tanaka F, Nagahara H, Ieta K, Haraguchi N, Mimori K, Sasaki A, Inoue H, Yanaga K, Mori M. Opa Interacting Protein 5 (OIP5) Is a Novel Cancer-testis Specific Gene in Gastric Cancer. **Ann Surg Oncol** 2007;14(2):885-92.
- Ohmachi T, Tanaka F, Mimori K, Inoue H, Yanaga K, Mori M. Clinical significance of TROP2 expression in colorectal cancer. **Clin Cancer Res** 2006;12(10):3057-63.
- Ohmachi T, Inoue H, Mimori K, Tanaka F, Sasaki A, Kanda T, Fujii H, Yanaga K, Mori M. Fatty acid binding protein 6 is overexpressed in colorectal cancer. **Clin Cancer Res** 2006;12(17):5090-5.
- Haraguchi N, Utsunomiya T, Inoue H, Tanaka F, Mimori K, Barnard GF, Mori M. Characterization of a side population of cancer cells from human gastrointestinal system. **Stem Cells** 2006;24(3):506-13.
- Haraguchi N, Inoue H, Tanaka F, Mimori K, Utsunomiya T, Sasaki A, Mori M. Cancer stem cells in human gastrointestinal cancers. **Hum Cell** 2006;19(1):24-9.

- Ieta K, Tanaka F, Utsunomiya T, Kuwano H, Mori M. CEACAM6 gene expression in intrahepatic cholangiocarcinoma. **Br J Cancer** 2006;95(4):532-40.
- Mimori K, Sadanaga N, Yoshikawa Y, Ishikawa K, Hashimoto M, Tanaka F, Sasaki A, Inoue H, Sugimachi K, Mori M. Reduced tau expression in gastric cancer can identify candidates for successful Paclitaxel treatment. **Br J Cancer** 2006;94(12):1894-7.
- Tanaka F, Yamaguchi H, Haraguchi N, Mashino K, Ohta M, Inoue H, Mori M. Efficient induction of specific cytotoxic T lymphocytes to tumor rejection peptide using functional matured 2 day-cultured dendritic cells derived from human monocytes. **Int J Oncol** 2006;29(5):1263-8.
- Sudo T, Mimori K, Nagahara H, Utsunomiya T, Fujita H, Tanaka Y, Shirouzu K, Inoue H, Mori M. Identification of EGFR mutations in esophageal cancer. **Eur J Surg Oncol** 2007;33(1):44-8.
- Sasaki A, Iwashita Y, Shibata K, Ohta M, Kitano S, Mori M. Preoperative transcatheter arterial chemoembolization reduces long-term survival rate after hepatic resection for resectable hepatocellular carcinoma. **Eur J Surg Oncol** 2006;32(7):773-9.
- Sasaki A, Ishikawa K, Haraguchi N, Inoue H, Ishio T, Shibata K, Ohta M, Kitano S, Mori M. Receptor Activator of Nuclear Factor-kappaB Ligand (RANKL) Expression in Hepatocellular Carcinoma With Bone Metastasis. **Ann Surg Oncol** 2007;14(3):1191-3.
- Okamoto M, Utsunomiya T, Wakiyama S, Hashimoto M, Fukuzawa K, Ezaki T, Hanai T, Inoue H, Mori M. Specific gene-expression profiles of noncancerous liver tissue predict the risk for multicentric occurrence of hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus-positive patients. **Ann Surg Oncol** 2006;13(7):947-54.
- Ohta M, Tanaka F, Sadanaga N, Yamaguchi H, Inoue H, Mori M. Expression of the TRAG-3 gene in human esophageal cancer: The frequent synchronous expression of MAGE-3 gene. **Oncol Rep** 2006;15(6):1529-32.
- 21. Nakashima H, Karimine N, Asoh T, Ueo H, Kohnoe S, Mori M. Risk factors of abdominal surgery in patients with collagen diseases. **Am Surg** 2006;72(9):843-8.
- Nakamura Y, Tanaka F, Nagahara H, Ieta K, Haraguchi N, Mimori K, Sasaki A, Inoue H, Yanaga K, Mori M. Opa Interacting Protein 5 (OIP5) Is a Novel Cancer-testis Specific Gene in Gastric Cancer. **Ann Surg Oncol** 2007 ; 14(2):885-92.