

平成 22 年 3 月 1 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18591400
 研究課題名（和文） 高解像度アレイ CGH による胃癌のゲノム異常獲得形式と病理組織学的因子との統合解析
 研究課題名（英文） Integrated analysis for genomic aberrations detected by array CGH with high resolution and clinicopathological factors of primary gastric cancer
 研究代表者
 富岡 伸元（TOMIOKA NOBUMOTO）
 北海道大学・大学院医学研究科・客員研究員
 研究者番号：80399899

研究成果の概要：

原発性胃癌 56 例を BAC アレイ CGH で解析し、予後と関連する 4 領域を抽出した。各々 6q21、9q32、17q21.1-21.2、17q21.32 であり、FOXO3A/FKHRL1、UGCG、CASC3、HOXB3-7 遺伝子などが存在する領域である。この 4 領域の何処かに欠失を認めた場合、有意に予後不良となり（ $p=0.0019$ ）、胃癌進行度と同様、独立した予後予測因子であることが確認された。この研究結果から、胃癌の悪性度獲得のメカニズムの解明へと発展してゆくことが期待される。

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2006 年度 | 1,400,000 | 0 | 1,400,000 |
| 2007 年度 | 1,400,000 | 420,000 | 1,820,000 |
| 2008 年度 | 500,000 | 150,000 | 650,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,300,000 | 570,000 | 3,870,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：胃癌、アレイ CGH、予後予測因子

1. 研究開始当初の背景

(1) アレイ CGH 法が開発され、全ゲノム領域にわたるゲノム異常解析が可能となり、乳癌や、脳神経系の悪性腫瘍、小児悪性腫瘍などの解析結果が報告され始めていた。これまで明らかにされていたゲノム異常は染色体レベルであったが、2000 個ほどの BAC クロ

ーンによる解像度でゲノム異常解析が可能となり、各種臨床病理学的因子との関連が解析されていた。

(2) アレイ CGH 法の技術開発が進み、アレイに搭載されるクローン数も今回 4015 クローンを duplicate で搭載した高解像度 BAC アレイによる解析が可能となった。

2. 研究の目的

固形悪性腫瘍である胃癌のゲノム異常獲得様式と、病理組織学的因子、最終的には予後との関連性について解析する。その関連領域に局在する遺伝子を検索し、今後発現様式を解析すべき遺伝子候補群を抽出する。

3. 研究の方法

(1)当科が立ち上げた Tissue Bank より原発胃癌症例 56 サンプルを選び出し、薄切標本を作製し、腫瘍細胞が 50%以上存在している部分を病理医に同定してもらい、そこから抽出したゲノム DNA500ng をラベリングし BAC アレイ CGH に用い解析を行った。



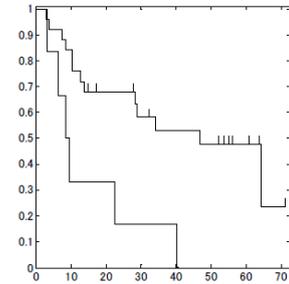
(2)BAC アレイは、共同研究者である産総研平野グループらが開発した高精度高解像度アレイ(MAC Array™ Karyo4K:4015 クローン搭載)を用いた。それぞれ Cy3,Cy5-dCTP にてランダムプライミング法でラベリングされた腫瘍 DNA、正常 DNA 各 500ng をアレイ状に搭載された BAC クローンに対し競合的にハイブリダイゼーションさせ、それぞれ BAC クローンのシグナル強度を GenePix4000A で測定し、解析ソフトウェア MacViewer でシグナル強度値を Log2 値に変換獲得し、各種統計学的解析を施行可能とする。

(3)今回 BAC アレイ CGH で抽出された候補領域の欠失という現象を確認するため、同領域に存在する遺伝子を用いた定量的 PCR(qPCR)を施行し、欠失の有無につき追加確認評価している。

4. 研究成果

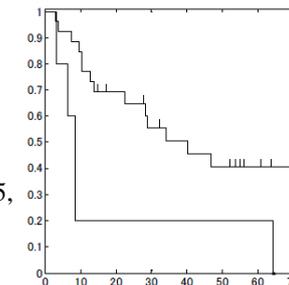
胃癌の予後に関連した 4 領域(6q21、9q32、17q21.1-21.2、17q21.3) を BAC クローン 4015 レベルの解像度で抽出できた。それら 4 領域は、それぞれ単独でも有意な予後因子であり、かつ、いずれかの領域が BAC レベルで減少していれば、有意に予後不良 ($p=0.0019$) であることも確認できた。これら 4 領域に局在する遺伝子群の既知の機能解析結果から、予後に関わる候補遺伝子について検討・考察した。

(1)領域 6q21.9(109087613 to 109184338 bp; 96.7 kB) には、FOXO3A/FKHRL,PRDM1, ATG5, AIM1, RTN4IP1, QRSL1, PDSS2, SOBP, SCML4, SEC63, OSTM1, NR2E1, SNX3, LACE1, ARMC2, SESN1, CD164, SMPD2, NICAL, ZBTB24, GPR6, WASF1, CDC40 が存在している。



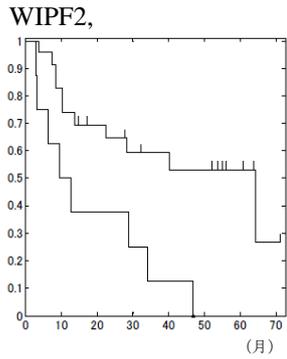
この領域の欠失の有無で、図の如く予後に有意差を認める ($p=0.0036$)。

(2)領域 9q32 (112980138 to 113076490 bp;96.4 kB) には、OR2K2, ZNF483, LTB4DH, bA16L21.2.1,GNG10,c9orf84,UGCG,SUSD1, ROD1, HSDL2, C9orf152, TXN, TXNDC8, SVEP1, MUSK, EDG2, C9orf80, SNX30, SLC31A2, FKBP15, CDC26, PRPF4, RNF183, WDR31, BSPRY, HDHD3, ALAD, POLE3, C9orf43, RGS3 が存在している。

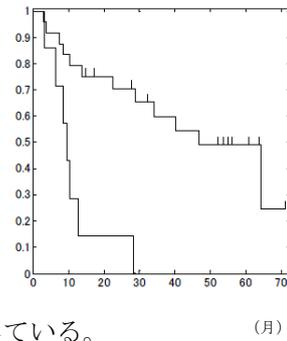


この領域の欠失の有無で、図の如く予後に有意差を認める ($p=0.0264$)。

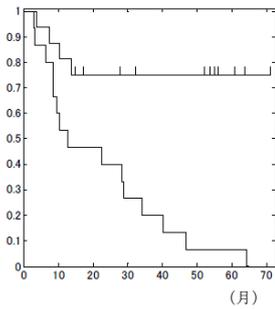
(3)領域 17q21.1-21.2 (35533775 to 35635800 bp;102.0 kB) には、CASC3,RAPGEFL1, WIPF2, LOC339287, CDC6, RARA, GJC1, TOP2A, IGFBP4 が存在している。この領域の欠失の有無で、図の如く予後に有意差を認める ($p=0.0045$)。



(4)領域 17q21.32 (44002394 to 44096304 bp ;93.9 kB) には、HOXB3, HOXB4, HOXB5, HOXB6, HOXB7, HOXB8, HOXB9, CDC27, ITGB3, TBKBP1, TBX21, PNPO, CBX1, SKAP1, HOXB1, HOXB2, TTLL6, UBE2Z, B4GALNT2 が存在している。この領域の欠失の有無で、図の如く予後に有意差を認める ($p=0.0036$)。



(5)また、上記 4 領域のいずれかの領域に欠失が認められた場合、その症例の予後は有意に不良であることが確認できた ($p=0.0004$)。胃癌取扱い規約による進行度と、今回のバイオマーカーとは、多変量解析により独立した予後因子であることが確認された ($p=0.006$)。一方、stageI、II 症例に限っては、今回のバイオマーカーは予後予測因子たりえておらず、このことは、手術による根治性が生物学的悪性度を凌駕したため、良好な予後が得られていると考えることができた。一方、stageIII、IV 症例においては、今回のバイオマーカーは予後予測因子となりえていた。つまり、このバイオマーカーを用いることにより、胃癌の生物学的悪性度を



症例毎に浮き彫りにすることができ、予後不良群を抽出することができるのである。そういった症例に対して厳重な経過観察をすることにより、再発・転移に対して、早期発見、早期治療が可能となる。さらに、今回の 4 領域に存在する遺伝子の発現・機能の欠失・低下が、胃癌の生物学的悪性度の獲得様式と関連付けられれば、新たな治療法の開発の可能性が出てくると考えられた。

今回の研究結果は、胃癌の悪性度獲得メカニズムの解明への糸口となり、新しい治療法の開発へと発展してゆく可能性が期待されるものである。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 4 件)

①富岡伸元 高解像度アレイ CGH による胃癌生物学的特性に関連するゲノム異常解析 第 107 回日本外科学会定期学術集会 2007 年 4 月 11 日-13 日 大阪国際会場リーガロイヤルホテル大阪

②富岡伸元 高解像度 arrayCGH による胃癌の生物学的特性および予後に関連するゲノム異常解析 第 66 回日本癌学会学術総会 2007 年 10 月 3 日-5 日 パシフィコ横浜

③富岡伸元 BACarrayCGH による胃癌の生物学的特性と予後に関連するゲノム異常解析 第 18 回日本消化器癌発生学会総会 2007 年 11 月 9 日 札幌厚生年金会館

④富岡伸元 BACarrayCGH による胃癌の生物学的特性および予後に関連するゲノム異常領域と遺伝子解析 2008 年 5 月 15 日-17 日 108 回日本外科学会定期学術集会 長崎ブリックホール

6. 研究組織

(1) 研究代表者

富岡 伸元 (TOMIOKA NOBUMOTO)
北海道大学・大学院医学研究科・客員研究員
研究者番号：80399899

(2)研究分担者

多田 光宏 (TADA MITSUHIRO)
北海道大学・遺伝子病制御研究所・准教授
研究者番号：10241316

(3)連携研究者

尾崎 倫孝 (OZAKI MICHITAKA)
北海道大学・大学院医学研究科・特任教授
研究者番号：80256510

中西 一彰 (NAKANISHI KAZUAKI)
北海道大学・大学院医学研究科・特任助教
研究者番号：80374338