

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K11665

研究課題名（和文）大腸癌Sarcopenia発症のエピゲノム機序解明と新たなバイオマーカーの開発

研究課題名（英文）Elucidating epigenome mechanism of Sarcopenia and development of new biomarkers in colorectal cancer.

研究代表者

三枝 晋（Saigusa, Susumu）

三重大学・医学系研究科・リサーチアソシエイト

研究者番号：10632383

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：大腸癌患者における術前血清miR-203発現とサルコペニアの指標であるPMIと顕著に負の相関を認め、さらには、miR-203発現高発現は骨間筋細胞において細胞増殖を抑制し、アポトーシスを誘導することを証明した。大腸癌患者における血清中miR-203高発現はmyopeniaのリスク評価として有用なバイオマーカーであり、miR-203がmyopeniaを抑制する治療ターゲットになり得る可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸癌Sarcopenia発症に関与するmiRNAに関して、そのバイオマーカーとしての有用性には大きな期待が寄せられると考えられる。今回、血清中のmiR-203発現が骨格筋量減少にかかわることが証明され、新たな非侵襲的診断マーカーとなり得ることが示唆された。miR-203が筋細胞のアポトーシスを誘導することで癌悪液質に関与することが証明されたことから、今後は新たな治療法開発のターゲットとなり得る可能性があり、サルコペニアの克服に向けた重要な意義があると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we identified the expression of miR-203 was negatively correlated with PMI. Furthermore, overexpression of miR-203 inhibited cell proliferation and induced apoptosis in human skeletal muscle cells. Serum miR-203 expression could be used for risk assessment of myopenia, and miR-203 might be a novel therapeutic target for inhibition of myopenia in CRC.

研究分野：下部消化管悪性腫瘍

キーワード：大腸癌 サルコペニア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

近年、食生活の欧米化に伴って、日本においても大腸癌による死亡者数が増加している。一方で手術技術の進歩の他、分子標的薬などの新薬、新レジメンの導入により大腸癌患者の予後は向上してきている。しかしながら、大腸癌の予後を規定する因子は術後再発、遠隔転移であることは変わらず、これらに対する中心的な治療である全身化学療法の継続率や治療強度の向上を支える支持療法の重要性が再注目を集めている。またこれまでは腫瘍側因子に注目した、分子標的剤を中心とした治療が中心であったが、免疫チェックポイント阻害剤の開発とその普及により、担癌宿主側因子を標的とした免疫療法の重要性が解明され、腫瘍免疫の基盤となる栄養支持療法の重要性が改めて認識されてきている。

がん局所-個体間における host-tumor interaction が、がん患者の栄養状態や免疫能など全身状態に重大な影響を及ぼすことはよく知られた事実である。一般にがん患者の栄養障害は、「がん関連性体重減少」と「がん誘発性体重減少」に分類されるが、前者が物理的な消化管通過障害や下痢などの消化管機能障害による栄養摂取・消化吸収量低下、絶食期間の長期化に起因する可逆性の病態であるのに対し、後者は上記の host-tumor interaction に起因する不可逆性の病態であると言われている。特に「がん誘発性体重減少」を代表する病態である「悪液質」は、がん治療のアウトカムにも影響を与え、全身化学療法、放射線治療など、がん集学的治療においては、副作用発症率の上昇、有効性・継続性の低下をもたらすと言われ、Performance status(PS)や QOL の低下のみならず、予後不良に深くかかわるとされている。

癌化機序としては DNA 変異に伴う Genetic なものと遺伝子配列変異を伴わない遺伝子発現調節を来す Epigenetic 変化が大きく考慮されてきた。とくに Epigenetic 変化の中でも代表的な DNA メチル化に関しては、癌抑制遺伝子の DNA メチル化による発現抑制が発癌・癌進展において重要な役割を果たしていることが明らかとされてきた。また non-coding RNA (ncRNA、非コード RNA) はタンパク質へ翻訳されずに機能する RNA の総称であり、とくに 20 塩基程度の microRNA(miRNA)は、生命現象の微調整役として多くの遺伝子や蛋白質発現制御に関与しており、細胞の分化・増殖及び細胞死の制御に重要な役割を果たしている。近年、細胞外に放出される分泌型 miRNA の存在が明らかになり、血液を利用した新たな非侵襲的 biomarker として期待されている。さらに最近では、miRNA が細胞間情報伝達に大きく関与していることが報告され、癌悪液質発症の機序においても、血液微小蛋白に埋包された miR-21 が、TLR-7 発現調節を介し、骨格筋壊死に関与することが確認された。しかし、癌悪液質における miRNA 伝達による機序や、血清中 miRNA を用いた診断マーカーとしての有用性は、未だ報告が世界的にもないのが現状である。

大腸癌悪液質の腫瘍学的予後に与える影響が徐々に解明されつつあり、宿主側因子を標的としたあらたな治療法が再注目を浴びている現在、癌悪液質事態を標的とした新たな診断マーカーや治療法の開発が、予後不良な進行性大腸癌症例の予後改善に大きく寄与する可能性が考慮される。

## 2. 研究の目的

本研究では、癌悪液質発症のとくに骨格筋量減少にかかわる血清中 Oncogenic-miRNA 群を同定し、新たな非侵襲的診断マーカーを確立し、癌悪液質の機序解明と治療法開発を目的とする Two way approach を行い質の高い Quality of life を提供することを目的とする。これは学術的にも意義深く、あらたな治療戦略につながる可能性があり、早期患者から転移性大腸癌患者まで幅広い患者層への臨床的償却に直結した研究を遂行することを目標とする。

## 3. 研究の方法

(1)大腸癌患者における Sarcopenia 評価

大腸癌患者の術前 CT 画像を用いて術前骨格筋の質と量の低下を評価し、骨格筋低下群と非低下群を評価する。

(2) 癌特異的サルコペニア候補 miRNAs の大腸癌術前血清における発現解析

大腸癌手術患者から採取した術前血清を用いて、骨格筋量低下と大腸癌組織で関連した miRNA 群に注目し、それらの血清における発現解析を q-PCR を用いて解析を行い、骨格筋量非低下大腸癌症例と比較し、血清 based での骨格筋量低下に対する診断能を解析する。

(3) 大腸癌血清における癌特異的サルコペニア候補 miRNAs 発現変化の臨床的意義の検索

癌特異的サルコペニア候補 miRNA 群の血清定量データを用いて、大腸癌症例の臨床病理学的因子や無再発生存期間・予後との相関を解析し、大腸組織を用いた癌特異的サルコペニア候補 miRNA の評価の臨床的意義・予後マーカーとしての有用性を検討する。

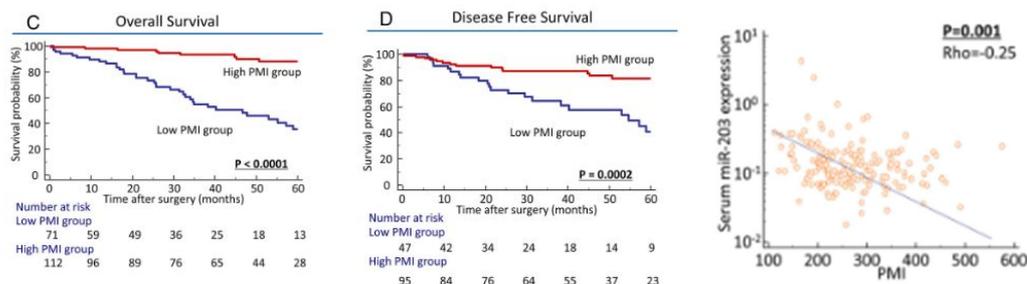
(4) 癌特異的サルコペニア候補 miRNAs の機能解析

上記で同定した miRNAs に注目し、骨格筋細胞に対する functional validation を行う。ヒト骨格筋細胞株を用い、miR-mimic, miR-inhibitor で過剰発現/発現抑制を行い、MTT assay, Apoptosis assay,細胞周期アッセイの機能解析を行う。

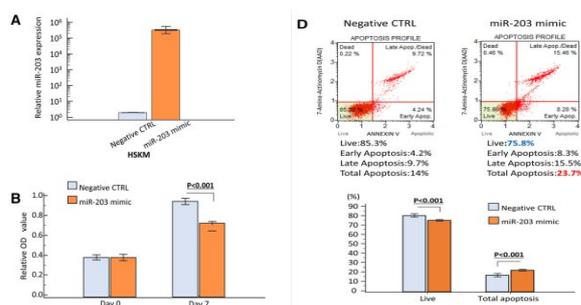
## 4. 研究成果

(1)大腸癌患者 183 例の術前 Sarcopenia の評価を PMI, IMAC を用いて評価すると同時に、大腸癌組織中と術前血清中の miR-203 発現を検証した。IMAC は臨床病理学的因子との相関を認めない一方で、PMI 低値は腫瘍浸潤や脈管侵襲陽性、リンパ節転移、遠隔転移との相関を認め、臨床病期と有意な相関を認めた(P=0.0004)。

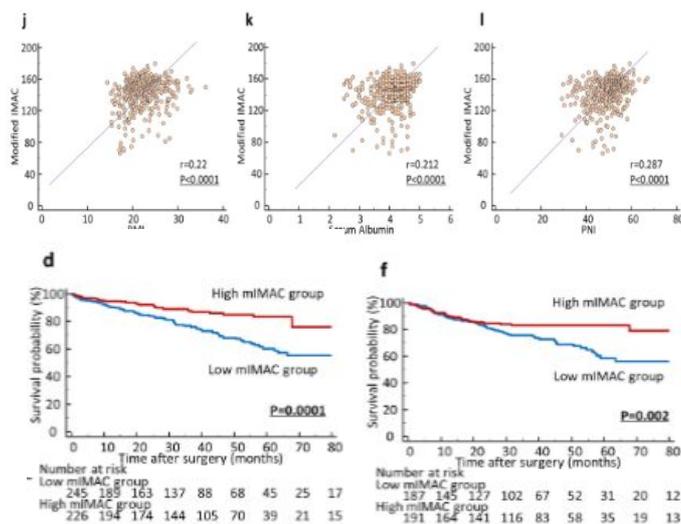
PMI 低値群は PMI 群高値群に比べて、著明に予後不良であり、独立した予後・再発予測マーカーであった。さらに、血中 miR-203 発現と PMI は有意に負の相関を認め、血清中 miR-203 高発現は myopenia のリスク因子であることを証明された。



miR-203 高発現は骨格筋細胞において細胞増殖を抑制し、アポトーシスを誘導することが証明され、大腸癌患者において血中 miR-203 発現が myopenia のリスク評価として有用であり、miR-203 が myopenia を抑制する治療ターゲットになり得る可能性が示唆された。



(2) また随伴する研究として、我々は大腸癌患者 471 例において術前 Sarcopenia の評価として、従来の PMI,IMAC とは異なる指標として modified IMAC(mIMAC)の新たな指標を提唱した。mIMAC は栄養指標とも相関を認め、mIMAC 低値群は独立した予後・再発予測マーカーであり、従来では評価困難であった栄養状態も評価できるバイオ マーカーとして有用であることを証明した。



研究成果として示した通り、大腸癌 Sarcopenia 発症に関与する miRNA に関して、そのバイオマーカーとしての有用性には大きな期待が寄せられると考える。血清中 miR-203 発現が骨格筋量減少にかかわることが証明され、新たな非侵襲的診断マーカーとなり得ることが示唆された。miR-203 が筋細胞のアポトーシスを誘導することで癌悪液質に関与することが証明されたことから、今後は新たな治療法開発の開発のため、今後も研究を継続していく予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Okugawa Yoshinaga, Toiyama Yuji, Yamamoto Akira, Shigemori Tsunehiko, Ide Shozo, Kitajima Takahito, Fujikawa Hiroyuki, Yasuda Hiromi, Hiro Junichiro, Yoshiyama Shigeyuki, Yokoe Takeshi, Saigusa Susumu	4. 巻 -
2. 論文標題 Lymphocyte-C-reactive Protein Ratio as Promising New Marker for Predicting Surgical and Oncological Outcomes in Colorectal Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of Surgery	6. 最初と最後の頁 1~1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SLA.0000000000003239	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto Akira, Toiyama Yuji, Okugawa Yoshinaga, Oki Satoshi, Ide Shozo, Saigusa Susumu, Araki Toshimitsu, Kusunoki Masato	4. 巻 62
2. 論文標題 Clinical Implications of Pretreatment	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Diseases of the Colon & Rectum	6. 最初と最後の頁 171~180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/DCR.0000000000001245	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okugawa Yoshinaga, Toiyama Yuji, Hur Keun, Yamamoto Akira, Yin Chengzeng, Ide Shozo, Kitajima Takahito, Fujikawa Hiroyuki, Yasuda Hiromi, Koike Yuhki, Okita Yoshiki, Hiro Junichiro, Yoshiyama Shigeyuki, Araki Toshimitsu, Miki Chikao, McMillan Donald C., Goel Ajay, Kusunoki Masato	4. 巻 10
2. 論文標題 Circulating miR 203 derived from metastatic tissues promotes myopenia in colorectal cancer patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle	6. 最初と最後の頁 536~548
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcsm.12403	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okugawa Yoshinaga, Toiyama Yuji, Yamamoto Akira, Shigemori Tsunehiko, Ichikawa Takashi, Yin Chengzeng, Suzuki Akihiro, Fujikawa Hiroyuki, Yasuda Hiromi, Hiro Junichiro, Yoshiyama Shigeyuki, Ohi Masaki, Araki Toshimitsu, McMillan Donald C., Kusunoki Masato	4. 巻 39
2. 論文標題 Lymphocyte-to-C-reactive protein ratio and score are clinically feasible nutrition-inflammation markers of outcome in patients with gastric cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Nutrition	6. 最初と最後の頁 1209~1217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clnu.2019.05.009	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 奥川喜永、問山裕二、藤川裕之、毛利靖彦、三木誓雄、楠 正人
2. 発表標題 大腸癌におけるCancer-induced Cachexiaのエピジェネティックな因子の解明と制御
3. 学会等名 第35回日本臨床栄養代謝学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 奥川喜永、問山裕二、藤川裕之、大村悠介、井出正造、北嶋貴仁、志村匡信、安田裕美、大北喜基、横江 毅、三枝 晋、廣 純一郎、大井正貴、田中光司、三木誓雄、Donald McMillan、楠 正人
2. 発表標題 Clinical impact of perioperative inflammatory response in patients with gastrointestinal cancer
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 奥川喜永、問山裕二、藤川裕之、山本 晃、井出正造、北嶋貴仁、志村匡信、川村幹雄、安田裕美、大北喜基、横江 毅、望木郁代、大井正貴、中谷 中
2. 発表標題 大腸癌におけるさまざまな術前栄養指標の予後能～他病死予測能にも着目して～
3. 学会等名 第58回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 奥川喜永、問山裕二、藤川裕之、安田裕美、横江毅、廣 純一郎、大井正貴、望木郁代、中谷中、楠正人
2. 発表標題 腫瘍側と宿主側の両面から展開する消化器癌ゲノム医療の可能性
3. 学会等名 第75回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 奥川喜永、問山裕二、藤川裕之、大村悠介、楠 蔵人、山本 晃、井出正造、北嶋貴仁、安田裕美、大北喜基、横江 毅、三枝 晋、廣 純一郎、吉山繁幸、田中光司、毛利靖彦、荒木俊光、三木誓雄、Donald McMillan、楠 正人
2. 発表標題 大腸治療における栄養介入療法の目指すアウトカム～腫瘍宿主反応に伴う全身性炎症反応を標的として～
3. 学会等名 第119回日本外科学会定期学術集会、大阪
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥川喜永、問山裕二、山本 晃、大村悠介、浦谷 亮、井出正造、近藤 哲、志村匡信、安田裕美、藤川裕之、大北喜基、白井由美子、横江 毅、三枝 晋、廣 純一郎、大井正貴、荒木俊光、田中光司、三木誓雄、楠 正人
2. 発表標題 臨床実装を視野に入れた大腸癌外科診療におけるあらたなmultiple-outcome prediction biomarkerの確立
3. 学会等名 第74回日本大腸肛門病学会学術集会、東京
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥川喜永、問山裕二、藤川裕之、廣 純一郎、三澤雅子、手島信子、岩下義明、荒木俊光、三木誓雄、楠 正人
2. 発表標題 腫瘍宿主相互作用の観点に基づいた 転移組織分泌型miR-203による腫瘍誘導宿主サルコペニアの可能性の検討
3. 学会等名 第34回日本静脈経腸栄養学会学術集会、東京
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥川喜永、問山裕二、楠 正人
2. 発表標題 消化管悪性腫瘍における宿主体組織・栄養指標と局所腫瘍免疫応答との関連～がん免疫療法の新たな新展開～
3. 学会等名 第105回日本消化器病学会総会、金沢
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	問山 裕二 (Toiyama Yuji) (00422824)	三重大学・医学系研究科・教授  (14101)	
研究分担者	奥川 喜永 (Okugawa Yoshinaga) (30555545)	三重大学・医学部附属病院・教授  (14101)	
研究分担者	藤川 裕之 (Fujikawa Hiroyuki) (40616091)	三重大学・医学系研究科・リサーチアソシエイト  (14101)	
研究分担者	楠 正人 (kusunoki Masato) (50192026)	三重大学・医学系研究科・寄附講座大学教員  (14101)	
研究分担者	三木 誓雄 (Miki Chikao) (50242962)	三重大学・医学系研究科・客員教授  (14101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------