

機関番号：12602

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2008～2011

課題番号：20249061

研究課題名（和文） 難治性消化器癌における転移・再発の分子診断と分子標的治療の開発

研究課題名（英文） Study on the molecular diagnosis of metastasis and recurrence and molecular -targeted therapy for irrisisitible hepatopancreatic cancer

研究代表者

有井 滋樹 (ARII SHIGEKI)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号：50151171

研究分野：肝胆膵外科学

科研費の分科・細目：外科系臨床学・消化器外科学

キーワード：DNA マイクロアレイ、stem cell marker、EpCAM、CYP1A2、Importin family、プロテアゾーム、肝癌、膵癌

### 1. 研究計画の概要

オミックス解析による分子診断と分子標的治療の開発という2つの視点から消化器系難治癌の診断・治療ツールの開発を目的とする。具体的方法として臨床検体とヒト癌培養細胞を用いて、DNA マイクロアレイ、BAC アレイによる遺伝子異常の網羅的解析と臨床・病理情報との統合解析、Pre型 miRNA ライブラリーの遺伝子導入手法、MeDIP-chip 解析、miRNA 発現解析による癌抑制 miRNA の同定などを行い、目的を達成する。

### 2. 研究の進捗状況

(1) 予後不良な肝癌の肉眼形態である多結節癒合型では stem cell marker である EpCAM の発現が高く、予後規定分子であることを示した。

(2) 非癌部（背景肝）における CYP1A2 の低発現が再発に関わることを示した。CYP1A2 は酸化ストレスによって発現が抑制されることから、酸化ストレスが肝癌の発生に関与する知見であると考えられた。

(3) 正常肝に比較してメチル化と関連し発現低下が認められ、さらに細胞増殖を負に制御する2種類の miRNA を同定した。またこれら miRNA の標的分子を明らかにした。

(4) 癌幹細胞がプロテアゾーム活性の低いことに着目し、ユビキチン非依存性プロテアゾーム活性によって分解される ornithine decarboxylase のプロテアゾーム認識部位 degron 配列と Zsgreen の融合蛋白を発現するレトロウイルスベクターを構築し、ヒト膵癌細胞に導入し、癌幹細胞の特性を有する細胞群を抽出することに成功した。本細胞群

(Zsgreen 蛍光+) は蛍光-の細胞に比べ強い抗がん剤耐性を示した。一方、種々の検討の結果、Zsgreen+細胞に選択的に殺細胞効果を示す薬剤を得ることに成功した。

### 3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。

(理由)

分子診断ツールとして背景肝における CYP1A2 が発癌診断、肝癌における EpCAM 発現が予後予測診断に有用である可能性を示すことができた。分子標的治療の開発に関しては EpCAM、aurora kinaseB、癌抑制 miRNA とその標的分子の同定から治療標的を明らかにすることができた。上記(4)で示す癌幹細胞の研究結果は現在の化学療法の限界の克服に繋がる成果を挙げる可能性が期待される。

### 4. 今後の研究の推進方策

(1) 肝細胞癌の早期再発、多中心性再発、発癌に関わる分子として CYP1A2 を同定したが、これの更なる検証と、他に同定したいくつかの分子の validation を行う。

(2) 肝細胞癌に対する分子標的治療の候補分子をいくつか同定した。これを標的とする治療-具体的には抗 EpCAM 抗体、aurora kinaseB 阻害剤などについてさらなる開発、改良と臨床応用を進める

(3) 膵癌の癌幹細胞研究から導かれた知見にもとづき、癌幹細胞を標的とした薬剤を開発する。

### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① Murakata A, Tanaka S, Mogushi K, Yasen M, Noguchi N, Irie T, Kudo A, Nakamura N, Tanaka H, Arii S. Gene expression signature of the gross morphology in hepatocellular carcinoma. *Ann Surg*, 253(1): 94-100, 2011 査読有
- ② Tanaka S, Mogushi K, Yasen M, Noguchi N, Kudo A, Nakamura N, Ito K, Miki Y, Inazawa J, Tanaka H, Arii S. Gene expression phenotypes for vascular invasiveness of hepatocellular carcinomas. *Surgery*, 147(3):405-414, 2010 査読有
- ③ Aihara A, Tanaka S, Yasen M, Matsumura S, Mitsunori Y, Murakata A, Noguchi N, Kudo A, Nakamura N, Ito K, Arii S. The selective Aurora B kinase inhibitor AZD1152 as a novel treatment for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 52(1):63-71, 2010 査読有
- ④ Furuta M, Kozaki KI, Tanaka S, Arii S, Imoto I, Inazawa J. miR-124 and miR-203 are epigenetically silenced tumor-suppressive microRNAs in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 31:766-776, 2010 査読有
- ⑤ Tsuji K, Yasui K, Gen Y, Endo M, Dohi O, Zen K, Mitsuyoshi H, Minami M, Itoh Y, Taniwaki M, Tanaka S, Arii S, Okanoue T, Yoshikawa T. PEG 10 is a probable target for the amplification at 7q21 detected in hepatocellular carcinoma. *Cancer Cancer Genet Cytogenet* 198:118-125, 2010 査読有

[学会発表] (計 5 件)

- ① Tanaka S, Mogushi K, Mahmut Y, Noguchi N, Irie T, Kudo A, Nakamura N, Inazawa J, Tanaka H, Arii S. Gene expression signature of the non-cancerous liver tissue associated with the early recurrence of hepatocellular carcinoma. 101<sup>st</sup> AACR Annual Meeting 2010. 2010. 4. 19. Washington, DC, America.
- ② 田中真二, 藍原有弘, 野口典男, 入江 工, 工藤 篤, 中村典明, 有井滋樹. 外科臨床に基づいた難治性消化器癌の分子標的治療の開発. 第110回日本外科学会定期学術集会, 2010. 4. 8. 名古屋
- ③ 村形綾乃, 田中真二, 茂櫛 薫, Mahmut Yasen, 入江 工, 野口典男, 工藤 篤, 中

村典明, 田中 博, 有井滋樹. 肝細胞癌肉眼形態における遺伝子発現パターンの相違とその臨床的意義. 第110回日本外科学会定期学術集会, 2010. 4. 8. 名古屋

- ④ 吉武 健一郎, 田中真二, 茂櫛 薫, アデイクリスナ ラマ, 村松俊輔, 松村 聡, 光法雄介, 村形綾乃, 入江 工, 野口典男, 工藤 篤, 中村典明, 田中 博, 有井滋樹. 肝細胞癌の新たなバイオマーカー Importin $\alpha$ 1 の解析. 第110回日本外科学会定期学術集会, 2010. 4. 8. 名古屋
- ⑤ 松村 聡, 井本逸勢, 小崎健一, 稲澤讓治, 有井滋樹. 肝細胞癌においてDNA過剰メチル化で制御されているがん抑制遺伝子の統合的アレイ. 第110回日本外科学会定期学術集会, 2010. 4. 8. 名古屋

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

[その他]

特になし。