

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860548

研究課題名(和文)大規模シーケンスによる除菌後胃発癌の分子病態と臨床応用

研究課題名(英文)Massively-Parallel Sequencing reveals molecular mechanism of gastric carcinogenesis after helicobacter pylori eradication

研究代表者

鈴木 亮 (Suzuki, Ryo)

札幌医科大学・医学部・研究員

研究者番号：60646587

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ピロリ菌除菌後の胃発癌に関わる遺伝子異常を同定し、発癌リスク予測マーカーとして臨床応用することを目的とした。前向きコホート試験により、胃癌の異時性多発リスクはHP感染ステータスに影響を受けずにmiR-34b/cメチル化率によって予測できる可能性が示された。高リスク群は除菌によるリスク低下は期待せずに慎重な経過観察を行うべきであると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We performed prospective cohort study designed to assess the utility of DNA methylation as a predictive marker of metachronous GC risk. We found that methylation of miR-34b/c, SFRP2 and DKK2 in the gastric body mucosa was strongly associated with a risk for metachronous GC, and miR-34b/c showed the greatest potential to serve as a predictive marker. Furthermore, we found that miR-34b/c methylation was also associated with metachronous GC risk in patients who underwent successful H. pylori eradication after treatment of their GC.

研究分野：消化器病

キーワード：胃がん メチル化

### 1. 研究開始当初の背景

ヘリコバクターピロリの除菌療法が胃癌予防に有効とされるが、一方で除菌後に発症する胃癌の存在が問題となっている。今後、胃癌予防目的の除菌施行例が増加すると推定されることから、除菌後の胃癌対策が急務になると考えられる。

そこで除菌後発症の分子機構を明らかにすることで、発症リスク診断および早期診断体系を構築することは重要な課題である。

### 2. 研究の目的

本研究はピロリ菌除菌後の胃癌に関わる遺伝子異常を同定し、発症リスク予測マーカーとして臨床応用することを目的とする。

### 3. 研究の方法

慢性胃炎および胃癌の網羅的メチル化解析により、癌関連遺伝子のメチル化による不活化が発症に重要な役割を担っていることを報告してきた (Cancer Prev Res, 2012)。また、疫学的に発症ハイリスクとされる皺襞肥大型胃炎や、多発胃癌の背景胃粘膜でメチル化異常が蓄積しているという知見から、異常メチル化が発症リスク予測の分子マーカーとして応用できると考えられた。

そこで申請者は異常メチル化の発症リスクとしての臨床応用を目的とした前向き研究を計画し、2008年度より胃炎、早期胃癌の背景粘膜の検体集積を開始した。

前向きコホート研究内において、ピロリ菌除菌後の発症症例の非癌部(観察開始時)癌部のサンプルを用いて、遺伝子解析を行う。パイオインフォマティクス解析により除菌後発症に関わる新規遺伝子異常を同定する。

新規に胃癌と診断・治療された患者129例を前向きに追跡した。診断時に胃体中部大彎の非癌胃粘膜より採取した生検組織よりDNAを抽出し遺伝子変異、メチル化解析を行った。メチル化解析はパイロシーケンシング法を用いた。

### 4. 研究成果

異時性胃癌は平均13.4ヶ月で17症例(13%)に発症した。miR-34-b/cのメチル化率が17.3%よりも高いHigh risk群では2年胃癌発症率は28.5%と高値を示し、17.3%以下のLow risk群では6.5%と低値であった。累積発症率はHigh risk群で高かった(p=0.005)。HP陽性除菌成功群(n=49)とHP陰性群(n=26)でサブグループ解析を行ったところ、ともにHigh risk群で高値を示した(p=0.002, p=0.037)。胃癌の異時性多発リスクはHP感染ステータスに影響を受けずにmiR-34b/cメチル化率によって予測できる可能性が示された。

高リスク群は除菌によるリスク低下は期

待せずに慎重な経過観察を行うべきであると考えられた。

### 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)

[雑誌論文](計 1件)

1. Suzuki R, Yamamoto E, Nojima M, Maruyama R, Yamano H, Yoshikawa K, Kimura T, Harada T, Ashida M, Niinuma T, Sato A, Noshō K, Yamamoto H, Kai M, Sugai T, Imai K, Suzuki H, Shinomura Y. Aberrant methylation of microRNA-34b/c is a predictive marker of metachronous gastric cancer risk. J Gastroenterol. 2014 ;49:1135-44. 査読あり、doi: 10.1007/s00535-013-0861-7.

[学会発表](計 13件)

- 1、丸山玲緒, 北嶋洋志, 山本英一郎, 新沼 猛, 萬 顕, 糸川昂平, 西山廣陽, 津矢田明泰, 鈴木 亮, 甲斐正広, 時野隆至, 篠村恭久, 鈴木 拓. 慢性胃炎から胃癌への発症過程に関与する長鎖 ncRNA の網羅的探索と機能解析の試み. 第37回日本分子生物学会年会. 2014, 11, 25-27. パシフィコ横浜(横浜).
- 2、五十嵐哲祥, 糸川昂平, 丸山玲緒, 山本英一郎, 津矢田明泰, 鈴木 亮, 新沼 猛, 甲斐正広, 山野泰穂, 菅井 有, 時野隆至, 篠村恭久, 鈴木 拓. 大腸癌においてDNAメチル化により抑制されている lincRNA の網羅的同定. 第73回日本癌学会学術集会. 2014, 9, 25-27. パシフィコ横浜(横浜).
- 3、丸山玲緒, 北嶋洋志, 山本英一郎, 新沼 猛, 萬 顕, 糸川昂平, 津矢田明泰, 鈴木 亮, 甲斐正広, 能正勝彦, 時野隆至, 篠村恭久, 鈴木 拓. 慢性胃炎から胃癌への発症過程に関与する長鎖 ncRNA の網羅的探索と機能解析の試み. 第73回日本癌学会学術集会. 2014, 9, 25-27. パシフィコ横浜(横浜).
- 4、鈴木 拓, 山本英一郎, 鈴木 亮, 野島正寛, 丸山玲緒, 山野泰穂, 菅井 有, 今井浩三, 篠村恭久. Aberrant methylation of microRNA-34b/c is a predictive marker of metachronous gastric cancer risk. The 4<sup>th</sup> JCA-AACR Special Joint Conference. 2013年12月16-18, 東京ベイ舞浜ホテル(千葉).
- 5、丸山玲緒, 山本英一郎, 糸川昂平,

津矢田明泰, 鈴木亮, 新沼猛, 佐藤亜紀子, 甲斐正広, 篠村恭久, 時野隆至, 鈴木拓.

消化器癌の発生や進展に關与する長鎖 ncRNA の量的・質的異常の探索と臨床応用への試み.

第 36 回日本分子生物学会年会 . 2013 年 12 月 3-6 日, 神戸ポートアイランド(神戸).

- 6、 Maruyama R, Yamamoto E, Tsuyada A, Kumegawa K, Suzuki R, Ashida M, Niinuma T, Sato A, Kai M, Shinomura Y, Suzuki H.

Systematic identification of lnc non-coding RNAs potentially involved in gastric carcinogenesis.

Sapporo Cancer Epigenetics Seminar of the A3 Foresight Program 2013. October 19-21, 2013, ロイトン札幌 (札幌).

- 7、 Kumegawa K, Maruyama R, Yamamoto E, Ashida M, Tsuyada A, Hatahira T, Niinuma T, Suzuki R, Sugai T, Yamano H, Kai M, Sato A, Shinomura Y, Suzuki H.

Genome-wide identification of novel long noncoding RNAs epigenetically silenced by DNA methylation in colorectal cancer.

Sapporo Cancer Epigenetics Seminar of the A3 Foresight Program 2013. October 19-21, 2013, ロイトン札幌 (札幌).

- 8、 丸山玲緒, 山本英一郎, 糸川昂平, 津矢田明泰, 鈴木亮, 芦田仁己, 佐藤亜紀子, 甲斐正広, 山野泰穂, 菅井有, 篠村恭久, 時野隆至, 鈴木拓.

消化器癌において重要な役割を果たす長鎖 ncRNA の網羅的同定の試み.

第 72 回日本癌学会学術総会 . 2013 年 10 月 3-5 日, パシフィコ横浜 (横浜).

- 9、 原田拓, 山本英一郎, 糸川昂平, 津矢田明泰, 鈴木亮, 芦田仁己, 甲斐正広, 佐藤亜紀子, 新沼猛, 山野泰穂, 菅井有, 篠村恭久, 時野隆至, 鈴木拓.

消化器癌の発生や進展に關与する長鎖 ncRNA の量的・質的異常の探索と臨床応用への試み.

第 33 回日本分子腫瘍マーカー研究会, 2013 年 10 月 2 日, パシフィコ横浜 (横浜).

- 10、 丸山玲緒, 山本英一郎, 糸川昂平, 津矢田明泰, 鈴木亮, 芦田仁己, 甲斐正広, 佐藤亜紀子, 新沼猛, 山野泰穂, 菅井有, 篠村恭久, 時野隆至, 鈴木拓.

消化器癌の発生や進展に關与する長鎖 ncRNA の量的・質的異常の探索と臨床応

用への試み.

第 33 回日本分子腫瘍マーカー研究会 . 2013 年 10 月 2 日, パシフィコ横浜 (横浜).

- 11、 鈴木亮, 山本英一郎, 鈴木拓, 野島正寛, 丸山玲緒, 能正勝彦, 山本博幸, 山野泰穂, 菅井有, 篠村恭久

内科学会講演会 2013 年 4 月 12 日-14 日 東京国際フォーラム (東京) プレナリセッション microRNA-34b/c 異常メチル化率測定による胃癌の異時性多発リスク予測

- 12、 Maruyama R, Yamamoto E, Kumegawa K, Tsuyada A, Ashida M, Suzuki R, Tokino T, Shinomura Y, Suzuki H.

Integrated analysis of clinical ChIPSeq data and public databases identified candidate long non-coding RNAs critically involved in gastrointestinal cancer.

104th Annual Meeting, American Association for Cancer Research. April 6-10 2013. Washington DC (USA)

- 13、 鈴木亮, 山本英一郎, 篠村恭久

microRNA-34b/c の異常メチル化は胃癌の異時性多発リスクに關与する 第 99 回消化器病学会総会 2013 年 3 月 21 日-23 日 城山観光ホテル (鹿児島)

〔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:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

第 28 回消化器病学会奨励賞受賞

6 . 研究組織

(1)研究代表者

鈴木 亮 ( Ryo Suzuki )

札幌医科大学・医学部・研究員

研究者番号：60646587

(2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者

( )

研究者番号：