

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670608

研究課題名(和文)大腸前癌細胞において共役する異なる染色体由来の分子を標的とした治療法の確立

研究課題名(英文) Identification of a molecular target of colorectal cancers with associated copy number aberrations between two different chromosomal loci.

研究代表者

三森 功士 (Mimori, Koshi)

九州大学・大学病院・教授

研究者番号：50322748

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：われわれは進行大腸がん症例においてMYC(8q24領域)とTPX2(20q11領域)のコピー数が有意に相関することを明らかにし、TPX2阻害によりMYCドリブンがんを制御できることを示した。本研究では、早期大腸腺腫病変においても8番20番のコピー数変異の相関を腺腫および早期大腸がんにおいて認め、発がん時において重要な役割を担う可能性を示し、臨床的にも診断あるいは治療標的となりうることを示した。また、新たな組み合わせおよび治療標的の同定を試みたところ、染色体7番および13番についてもコピー数変異の相関を認めた。現在これらの二つの染色体上における標的遺伝子を同定しており、鋭意解析の継続中である。

研究成果の概要(英文)：In our previous study (Ann Oncol 2015), we disclosed that significant association of copy number aberrations between MYC locus 8q24 and TPX2 locus 20q11. The inhibition of TPX2 directly suppressed the proliferation of MYC driven cancers. In the current study, we initially disclosed that the combination of different loci was observed in adenomas and even in early CRC cancers. This finding indicated that the current combination might play an important role in tumorigenesis of CRC and in clinical significance as a diagnostic marker or a therapeutic target. Besides, we found another combination of different chromosomes with significant association between chromosomes, 7 and 13. We discovered an intriguing gene there, and have been focusing on the magnitude of the gene as a molecular target and a biomarker for progression of CRC cases.

研究分野：消化器外科

キーワード：染色体 コピー数相関 癌原因子 選択圧

## 1. 研究開始当初の背景

aCGH で構築した異なる染色体のデータベース: われわれは大腸癌 157 例の原発巣癌細胞を用いて aCGH 解析を実施、「異なる染色体だが有意にゲノムコピー数が相関するペア領域」に着目した。8q24 領域と 20q11 領域におけるコピー数変異が有意に正相関することを明らかにした。

(1) 8q24 には癌遺伝子 MYC、20q11 には TPX2 が存在したが、同一サンプルの発現アレイプロファイルから、EEM 解析法により、MYC と TPX2 とが合成致死パートナーの関係にあることを数理的に明らかにし、実験でも検証した。

(2) 臨床的にも両領域のコピー数が共に増加している大腸癌症例では有意に予後不良であることを明らかにした。また、TPX2 阻害により MYC 活性を抑制し MYC ドリヴン癌に対して高い抗腫瘍効果を示した。

(3) 有意に相関する異なる染色体ペアは 30 箇所以上あるが、生物学的意義または臨床的意義についてほとんど報告がなされていない。

2) 大腸癌病変の統合解析: われわれは進行大腸癌症例について、原発巣癌組織を細分割し、個々の組織塊毎に WES(全エクソームシーケンシング)、発現アレイ、メチルアレイ、SNP アレイ(コピー数)を行いスーパーコンピュータを用いて数理的に統合解析し、癌の多様性とゲノム変異とエピゲノム変異との関係を明らかにした。前癌病変の細胞塊またはシングルセルレベルの網羅的・統合解析はない。

## 2. 研究の目的

研究当初の目的は、上述のごとく異なる染色体間でコピー数において有意な相関を示す現象が、発がんに寄与するか?あるいは発がんの結果生じるものか?またあるいは同ゲノム領域が治療標的となりうるか?あるいは診断マーカーとなりうるか?癌幹細胞マーカー(CD133, Lgr5)を用いて、シングルセル群およびスフェロイド細胞塊を作成した上で明らかにする。さらにえら得た結果をもとに、相関するゲノムコピーの組合せで発がんに寄与するモデルを構築し発がんのシミュレーションをする」という目的を立てた。

他方、われわれは、大腸発がんにおけるゲノムコピー数および突然変異という構造異型が原発巣においてどのように進化してきたか?この視点から実際の大腸がん原発巣組織を用いたオミックス解析を進めてきた。その結果、原発巣全域に普遍的に生じる main clonal な変異と偏在し多様性を形成する sub clonal な変異とが存在することを明らかにし、その結果として、われわれのこれまでの知見である染色体 8q と 20q のコピー数変異相関は、複数領域の系統樹解析の結果、原発巣の進化の過程において、ごく早期から認められることを明らかにしました。そこで、

さらにわれわれは、コピー数の相関する異なる染色体同志の組み合わせが、この進化をみる系統樹においても 8 番と 20 番以外にも存在することを明らかにしえたことから、目的を以下の 2 つについて、まず明らかにすることとした。

【1】実際の早期大腸腺腫病変における進化。

【2】コピー数の相関する異なる染色体同志の組み合わせに関する研究。

当初計画したシングルセルモデル構築という人工的な発がん様式を明らかにするよりも、実際の早期病変から進行がん病変を用いた解析において、実際の病変とその進化に近い現象を捉えることが期待された。

## 3. 研究の方法

【1】早期病変における染色体コピー数変異相関の進化の確認

1) 集積症例の条件: (1) 早期腫瘍性病変の集積: 本研究は、大腸の前癌病変を対象にしたゲノム・エピゲノム解析であり、現在、病理学的に前癌状態と考えられている大腸粘膜を解析対象とする。MRA(multi regional analysis)を実施する。

(2) 早期大腸癌: 癌細胞の浸潤が粘膜または粘膜下層に限局しリンパ節転移なし。

2) multi-regional analysis: (1) 各症例原発巣の水平方向を LMD で腫瘍細胞を採取。

(2) genomic DNA を抽出 (3) エクソームシーケンシング (4) DNA bisulfite 処理後メチル化アレイ解析 (5) データの集積 (6) データ解析

【2】コピー数相関が認められる異なる染色体の新たな組み合わせについても探索した。

## 4. 研究成果

【1】進行癌 9 例についてオミックス解析の成果を論文化した。

1. 集積した腺腫におけるゲノム変異の多様性突然変異およびコピー数変異の割合は、進行癌におけるそれよりも大きく、より多様であった。

2. 系統樹を描いた際に、同一遺伝子の異なる変異 loci が別別の枝で変異をしていた、いわゆる driver 遺伝子としての存在意義を示したいわゆるパラレル進化を認めた(進行癌にはない)。

3. 8 番 20 番のコピー数変異を含め病理所見における“がん診断”はコピー数合致しており、診断指針となりうることが示された。

【2】染色体 7 番および 13 番についてもコピー数変異の相関が認められ、これらの二つの染色体上における標的遺伝子を同定した。

## 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 24 件)

1. Downregulation of SIRT4 Expression Is Associated with Poor Prognosis in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. Nakahara Y, Yamasaki M, Sawada G, Miyazaki Y, Makino T, Takahashi T, Kurokawa Y, Nakajima K, Takiguchi S, Mimori K, Mori M, Doki Y. *Oncology*. 2016 Apr 16. [Epub ahead of print]
2. Integrated Molecular Profiling of Human Gastric Cancer Identifies DDR2 as a Potential Regulator of Peritoneal Dissemination. Kurashige J, Hasegawa T, Niida A, Sugimachi K, Deng N, Mima K, Uchi R, Sawada G, Takahashi Y, Eguchi H, Inomata M, Kitano S, Fukagawa T, Sasako M, Sasaki H, Sasaki S, Mori M, Yanagihara K, Baba H, Miyano S, Tan P, Mimori K. *Sci Rep*. 2016 Mar. 3;6:22371.
3. Clinical and biological significance of circulating tumor cells in cancer. Masuda T, Hayashi N, Iguchi T, Ito S, Eguchi H, Mimori K. *Mol Oncol*. 2016 Mar. 10(3):408-17.
4. Integrated Multiregional Analysis Proposing a New Model of Colorectal Cancer Evolution. Uchi R, Takahashi Y, Niida A, Shimamura T, Hirata H, Sugimachi K, Sawada G, Iwaya T, Kurashige J, Shinden Y, Iguchi T, Eguchi H, Chiba K, Shiraishi Y, Nagae G, Yoshida K, Nagata Y, Haeno H, Yamamoto H, Ishii H, Doki Y, Iinuma H, Sasaki S, Nagayama S, Yamada K, Yachida S, Kato M, Shibata T, Oki E, Saeki H, Shirabe K, Oda Y, Maehara Y, Komune S, Mori M, Suzuki Y, Yamamoto K, Aburatani H, Ogawa S, Miyano S, Mimori K. *PLoS Genet*. 2016 Feb. 18;12(2):e1005778.
5. Genomic Landscape of Esophageal Squamous Cell Carcinoma in a Japanese Population. Sawada G, Niida A, Uchi R, Hirata H, Shimamura T, Suzuki Y, Shiraishi Y, Chiba K, Imoto S, Takahashi Y, Iwaya T, Sudo T, Hayashi T, Takai H, Kawasaki Y, Matsukawa T, Eguchi H, Sugimachi K, Tanaka F, Suzuki H, Yamamoto K, Ishii H, Shimizu M, Yamazaki H, Yamazaki M, Tachimori Y, Kajiyama Y, Natsugoe S, Fujita H, Mafune K, Tanaka Y, Kelsell DP, Scott CA, Tsuji S, Yachida S, Shibata T, Sugano S, Doki Y, Akiyama T, Aburatani H, Ogawa S, Miyano S, Mori M, Mimori K. *Gastroenterology*. 2016 Feb. S0016-5085(16)00134-7.
6. Clinical and biological significance of transcription termination factor, RNA polymerase I in human liver hepatocellular carcinoma. Komatsu H, Iguchi T, Ueda M, Nambara S, Saito T, Hirata H, Sakimura S, Takano Y, Uchi R, Shinden Y, Eguchi H, Masuda T, Sugimachi K, Eguchi H, Doki Y, Mori M, Mimori K. 2016 Apr. *Oncol Rep*. 35(4):2073-80.
7. Dysregulated YAP1/TAZ and TGF- $\beta$  signaling mediate hepatocarcinogenesis in Mob1a/1b-deficient mice. Nishio M, Sugimachi K, Goto H, Wang J, Morikawa T, Miyachi Y, Takano Y, Hikasa H, Itoh T, Suzuki SO, Kurihara H, Aishima S, Leask A, Sasaki T, Nakano T, Nishina H, Nishikawa Y, Sekido Y, Nakao K, Shin-Ya K, Mimori K, Suzuki A. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Jan. 5;113(1):E71-80.
8. As a Novel Prognostic Marker, Cysteine/histidine-rich 1 (CYHR1) is a Therapeutic Target in Patients with Esophageal Squamous Cell Carcinoma. Desaki R, Sawada G, Okumura H, Ikeda R, Tanabe K, Komatsu H, Mimori K, Mori M, Kita Y, Uchikado Y, Arigami T, Uenosono Y, Owaki T, Ishigami S, Natsugoe S. *Ann Surg Oncol*. 2015 Dec 16. [Epub ahead of print]
9. An Integrative Analysis to Identify Driver Genes in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. Sawada G, Niida A, Hirata H, Komatsu H, Uchi R, Shimamura T, Takahashi Y, Kurashige J, Matsumura T, Ueo H, Takano Y, Ueda M, Sakimura S, Shinden Y, Eguchi H, Sudo T, Sugimachi K, Yamasaki M, Tanaka F, Tachimori Y, Kajiyama Y, Natsugoe S, Fujita H, Tanaka Y, Calin G, Miyano S, Doki Y, Mori M, Mimori K. *PLoS One*. 2015 Oct 14;10(10):e0139808. doi: 10.1371/journal.pone.0139808. eCollection 2015.
10. Identification of Recurrence-Related microRNAs from Bone Marrow in Hepatocellular Carcinoma Patients. Sugimachi K, Sakimura S, Tomokuni A, Uchi R, Hirata H, Komatsu H, Shinden Y, Iguchi T, Eguchi H, Masuda T, Morita K, Shirabe K, Eguchi H, Maehara Y, Mori M, Mimori K.

- J Clin Med. 2015 Aug 14;4(8):1600-11. doi: 10.3390/jcm4081600.
11. Embryonic MicroRNA-369 Controls Metabolic Splicing Factors and Urges Cellular Reprogramming. Konno M, Koseki J, Kawamoto K, Nishida N, Matsui H, Dewi DL, Ozaki M, Noguchi Y, Mimori K, Gotoh N, Tanuma N, Shima H, Doki Y, Mori M, Ishii H. PLoS One. 2015 Jul 15;10(7):e0132789. doi: 10.1371/journal.pone.0132789. eCollection 2015.
  12. *miR-615-3p* expression level in bone marrow is associated with tumor recurrence in hepatocellular carcinoma. Mukai R, Tomimaru Y, Nagano H, Eguchi H, Mimori K, Tomokuni A, Asaoka T, Wada H, Kawamoto K, Marubashi S, Doki Y, Mori M. Mol Clin Oncol. 2015 May;3(3):487-494. Epub 2015 Feb 25.
  13. Exosomal microRNA in serum is a novel biomarker of recurrence in human colorectal cancer. Matsumura T, Sugimachi K, Iinuma H, Takahashi Y, Kurashige J, Sawada G, Ueda M, Uchi R, Ueo H, Takano Y, Shinden Y, Eguchi H, Yamamoto H, Doki Y, Mori M, Ochiya T, Mimori K. Br J Cancer. 2015 Jul 14;113(2):275-81. doi: 10.1038/bjc.2015.201. Epub 2015 Jun 9.
  14. Overexpression of Transcription Termination Factor 1 is Associated with a Poor Prognosis in Patients with Colorectal Cancer. Ueda M, Iguchi T, Nambara S, Saito T, Komatsu H, Sakimura S, Hirata H, Uchi R, Takano Y, Shinden Y, Eguchi H, Masuda T, Sugimachi K, Yamamoto H, Doki Y, Mori M, Mimori K. Ann Surg Oncol. 2015 Jun 3. [Epub ahead of print]
  15. A Long Non-coding RNA Activated by Transforming Growth Factor- $\beta$  is an Independent Prognostic Marker of Gastric Cancer. Saito T, Kurashige J, Nambara S, Komatsu H, Hirata H, Ueda M, Sakimura S, Uchi R, Takano Y, Shinden Y, Iguchi T, Eguchi H, Ehata S, Murakami K, Sugimachi K, Mimori K. Ann Surg Oncol. 2015 May 19. [Epub ahead of print]
  16. Significance of Polypyrimidine Tract-Binding Protein 1 Expression in Colorectal Cancer. Takahashi H, Nishimura J, Kagawa Y, Kano Y, Takahashi Y, Wu X, Hiraki M, Hamabe A, Konno M, Haraguchi N, Takemasa I, Mizushima T, Ishii M, Mimori K, Ishii H, Doki Y, Mori M, Yamamoto H. Mol Cancer Ther. 2015 Jul;14(7):1705-16. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-14-0142. Epub 2015 Apr 22.
  17. Circulating tumour cell-derived platin3 is a novel marker for predicting long-term prognosis in patients with breast cancer. Ueo H, Sugimachi K, Gorges TM, Bartkowiak K, Yokobori T, Müller V, Shinden Y, Ueda M, Ueo H, Mori M, Kuwano H, Maehara Y, Ohno S, Pantel K, Mimori K. Br J Cancer. 2015 Apr 28;112(9):1519-26. doi: 10.1038/bjc.2015.132. Epub 2015 Apr 16.
  18. Intestinal epithelial culture under an air-liquid interface: a tool for studying human and mouse esophagi. Yokobori T, Suzuki S, Miyazaki T, Sohda M, Sakai M, Tanaka N, Ozawa D, Hara K, Honjo H, Altan B, Fukuchi M, Ishii H, Iwatsuki M, Sugimachi K, Sudo T, Iwaya T, Nishida N, Mimori K, Kuwano H, Mori M. Dis Esophagus. 2015 Mar 23. doi: 10.1111/dote.12346. [Epub ahead of print]
  19. A Highly Accurate Inclusive Cancer Screening Test Using *Caenorhabditis elegans* Scent Detection. Hirotsu T, Sonoda H, Uozumi T, Shinden Y, Mimori K, Maehara Y, Ueda N, Hamakawa M. PLoS One. 2015 Mar 11;10(3):e0118699. doi: 10.1371/journal.pone.0118699. eCollection 2015.
  20. A Long Noncoding RNA, lncRNA-ATB, Is Involved in the Progression and Prognosis of Colorectal Cancer. Iguchi T, Uchi R, Nambara S, Saito T, Komatsu H, Hirata H, Ueda M, Sakimura S, Takano Y, Kurashige J, Shinden Y, Eguchi H, Sugimachi K, Maehara Y, Mimori K. Anticancer Res. 2015 Mar;35(3):1385-8.
  21. The miR-506-Induced Epithelial-Mesenchymal Transition is Involved in Poor Prognosis for Patients with Gastric Cancer. Sakimura S, Sugimachi K, Kurashige J, Ueda M, Hirata H, Nambara S, Komatsu H, Saito T, Takano Y, Uchi R, Sakimura E, Shinden Y, Iguchi T, Eguchi H, Oba Y, Hoka S, Mimori K. Ann Surg Oncol. 2015 Feb 24. [Epub ahead of print]

22. F-box protein FBXW7 inhibits cancer metastasis in a non-cell-autonomous manner. Yumimoto K, Akiyoshi S, Ueo H, Sagara Y, Onoyama I, Ueo H, Ohno S, Mori M, Mimori K, Nakayama KI. *J Clin Invest*. 2015 Feb;125(2):621-35. doi: 10.1172/JCI78782. Epub 2015 Jan 2.
23. Diminished expression of MiR-15a is an independent prognostic marker for breast cancer cases. Shinden Y, Akiyoshi S, Ueo H, Nambara S, Saito T, Komatsu H, Ueda M, Hirata H, Sakimura S, Uchi R, Takano Y, Iguchi T, Eguchi H, Sugimachi K, Kijima Y, Ueo H, Natsugoe S, Mimori K. *Anticancer Res*. 2015 Jan;35(1):123-7.
24. Epigenetic modulation and repression of miR-200b by cancer-associated fibroblasts contribute to cancer invasion and peritoneal dissemination in gastric cancer. Kurashige J, Mima K, Sawada G, Takahashi Y, Eguchi H, Sugimachi K, Mori M, Yanagihara K, Yashiro M, Hirakawa K, Baba H, Mimori K. *Carcinogenesis*. 2015 Jan;36(1):133-41. doi: 10.1093/carcin/bgu232. Epub 2014 Nov 19.

〔学会発表〕(計 12 件)

1. 大腸癌におけるマイクロ RNA17-92 の標的遺伝子異常発現の分子機序とその臨床的意義. 杉町圭史、内龍太郎、平田秀成、崎村正太郎、井口友宏、江口英利、増田隆明、森田和豊、竹中賢治、森正樹、前原喜彦、三森功土. 第 26 回日本消化器癌発生学会総会. 2015 米子
2. 大腸癌のゲノム・エピゲノム解析により明らかとなった腫瘍内多様性クローン進化. 内龍太郎、高橋佑典、新井田厚司、鈴木穰、森正樹、宮野悟、三森功土. 第 26 回日本消化器癌発生学会総会. 2015 米子
3. 大腸癌における miR-146a 多型の臨床的意義. 井口友宏、小松久晃、増田隆明、南原翔、齋藤衆子、上田正射、平田秀成、崎村正太郎、内龍太郎、新田吉陽、伊藤修平、江口英利、三森功土. 第 74 回日本がん学会学術総会. 2015 名古屋
4. 大腸癌の腫瘍内不均一性とゲノム・エピゲノムの進化. 内龍太郎、高橋佑典、新井田厚司、平田秀成、森正樹、宮野

悟、三森功土. 第 74 回日本がん学会学術総会. 2015 名古屋

5. 大腸癌細胞における PLS3 は上皮間葉移行を介して肝転移を形成する. 上田正射、新田吉陽、杉町圭史、三森功土. 第 24 回日本がん転移学会学術集会・総会. 2015 大阪
6. 大腸癌肝転移における宿主細胞と癌細胞の microRNA を介した微小環境の解明. 上田正射、高野裕樹、齋藤衆子、南原翔、小松久晃、崎村正太郎、平田秀成、内龍太郎、新田吉陽、井口友宏、江口英利、増田隆明、杉町圭史、山本浩文、土岐祐一郎、森正樹、三森功土. 第 36 回癌免疫外科研究会. 2015 奄美大島
7. 遺伝子多型と網羅的 pathway 解析による糖尿病合併症大腸発癌の危険因子の同定. 杉町圭史、山口類、上田正射、井口友宏、江口英利、調憲、宮野悟、森正樹、前原喜彦、三森功土. 第 70 回日本消化器外科学会総会. 2015 浜松
8. 大腸癌における 8q24 多型と糖尿病の遺伝環境相互解析による発癌関連遺伝子の同定. 杉町圭史、上田正射、南原翔、小松久晃、高野裕樹、新田吉陽、井口友宏、山口類、新井田厚司、宮野悟、森正樹、前原喜彦、三森功土. 第 115 回日本外科学会定期学術集会. 2015 名古屋
9. 大腸癌における rRNA 転写因子 TTF-1 の臨床的意義と癌進展における役割について. 上田正射、南原翔、小松久晃、高野裕樹、新田吉陽、井口友宏、江口英利、杉町圭史、土岐祐一郎、森正樹、三森功土. 第 115 回日本外科学会定期学術集会. 2015 名古屋
10. 大腸癌において TGF $\beta$  により活性化される Long noncoding RNA の臨床病理学的意義. 井口友宏、内龍太郎、南原翔、齋藤衆子、小松久晃、平田秀成、上田正射、崎村正太郎、高野裕樹、藏重淳二、新田吉陽、江口英利、杉町圭史、三森功土. 第 25 回日本消化器癌発生学会. 2014 福岡
11. 大腸癌肝転移における宿主細胞と癌細胞の microRNA を介した微小環境の解明. 高野裕樹、崎村正太郎、上田正射、平田秀成、藏重淳二、杉町圭史、矢永勝彦、三森功土. 第 73 回日本癌学会学術集会. 2014 横浜

12. 大腸癌における Plast in3 の過剰発現は、上皮間葉移行を介して肝転移を促進させる因子となる。上田正射、杉町圭史、崎村正太郎、平田秀成、高野裕樹、内龍太郎、藏重淳二、新田吉陽、江口英利、井口友宏、森正樹、三森功士。第 73 回日本癌学会学術集会。2014 横浜

〔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〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

三森 功士 ( Mimori Koshi )

九州大学・大学病院・教授

研究者番号：50322748

### (2) 研究分担者

( なし )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( なし )

研究者番号：