

平成 21 年 5 月 22 日現在

研究種目：基盤研究 C

研究期間：2007-2008

課題番号：19591560

研究課題名（和文） DNA メチル化異常の網羅的解析による癌易罹患性の評価

研究課題名（英文） Comprehensive analysis of methylation alterations for predisposition of gastrointestinal cancers

研究代表者 鈴木浩一 (SUZUKI KOUICHI)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号：70332369

研究成果の概要：

DNA メチル化異常は癌のみならず、癌発症の背景となる慢性胃炎や潰瘍性大腸炎等の非癌部組織にも認められる。本研究では我々が独自に開発した DNA メチル化マイクロアレイを用いて、DNA メチル化異常をゲノム全域に渡り網羅的に捕捉し、担癌、非担癌潰瘍性大腸炎の非癌部組織にみられる変化を癌部組織と比較検討することにより、潰瘍性大腸炎の発症に関わる遺伝子群（メチル化異常 138 カ所、脱メチル化異常 221 カ所）を同定した。

交付額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|-----------|-----------|
| 2007 年度 | 2,500,000 | 750,000 | 3,250,000 |
| 2008 年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,500,000 | 1,050,000 | 4,550,000 |

研究分野：消化器外科・分子腫瘍学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：メチル化異常、脱メチル化異常、潰瘍性大腸炎、消化器癌、遺伝子修飾異常

1. 研究開始当初の背景

癌の発生、進展には遺伝子配列の変化を伴う遺伝子異常とともに DNA メチル化のような遺伝子配列の変化を伴わない遺伝子修飾の異常が重要な役割を演じている。特に遺伝子修飾の異常は癌のみならず、癌発症の背景となる慢性胃炎や潰瘍性大腸炎等の非癌組織にも認められる。我々はこれまで胃、大腸癌におけるメチル化の制御異常とゲノムの不安定性、そして癌化という一連の経路に着目し、ゲノム全域に渡って蓄積された遺伝子異常、遺伝

子修飾異常を包括的に評価してきた。そしてゲノム全域の脱メチル化の進行はゲノムの不安定性を招来し、癌化に深く関わっていることを示した（平成 17-18 年度基盤研究 C：消化器癌における DNA メチル化制御の異常とゲノムの不安定性に関する検討、代表者：鈴木浩一）。そこで癌化に先行して引き起こされている遺伝子修飾の変化を正常組織において捉える事ができれば、癌の易罹患性を予見する有用な手段になりうると考えられる。

2. 研究の目的

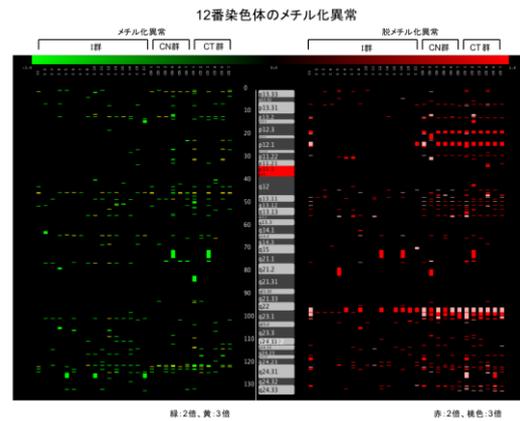
潰瘍性大腸炎は原因不明の慢性炎症性腸疾患で、罹患年数に伴い大腸癌の発生率が上昇する。近年、原疾患の治療法の改善により大腸癌の発生が生命予後に大きく関わるようになり、その早期発見が重要な課題となった。発癌の機序は通常の大腸癌とは異なり、慢性炎症によるDNA 異常メチル化の蓄積が関わっていると考えられているが詳細は明らかではない。そこで我々は炎症に長年暴露された非癌部背景粘膜のメチル化の変化に着目し、そこに蓄積された癌化に関わる異常を捉えることにより、潰瘍性大腸炎の発癌に関わる遺伝子群を同定する。

3. 研究の方法

担癌潰瘍性大腸炎：背景粘膜組織（CN 群）6 例、癌組織（CT 群）6 例と非担癌潰瘍性大腸炎粘膜組織（I 群）16 例を対象とした。9,654 箇所の Not I 領域の異常メチル化を検出する「DNA array MS-AFLP」を用い、正常大腸粘膜を比較対照（カットオフ値 2 倍）としてメチル化、脱メチル化異常を評価した。また Multi Experimental Viewer (MeV) を用いてメチル化プロファイルの比較、クラスタリング解析を行った。

4. 研究成果

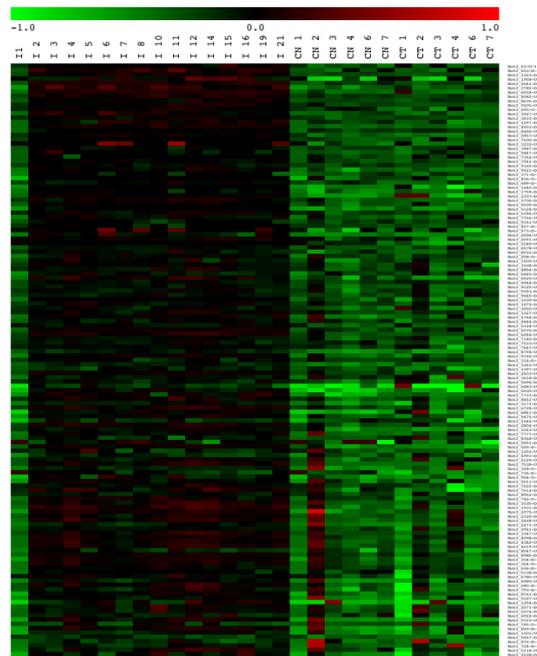
DNA array MS-AFLP で検出された異常メチル化の頻度は I 群が $2.0\% \pm 1.0$ (平均 \pm SD)、CN 群が $2.4\% \pm 0.76$ 、CT 群が $4.1\% \pm 1.7$ であった。異常脱メチル化の頻度は I 群が $1.3\% \pm 0.50$ 、CN 群が $2.4\% \pm 1.1$ 、CT 群が $3.5\% \pm 2.0$ であり、異常メチル化、異常脱メチル化頻度はいずれも I 群、CN 群、CT 群と段階的な変化を認めた。MeV を用い染色体ごとのメチル化プロファイルと比較すると、CN 群では CT 群と高度に類似し、I 群とは一例（I-1）を除いて類似性が認められなかった。図には 12 番染色体のメチル化異常のプロファイルを示す。



図中央が 12 番染色体の位置を示し、その中央で赤に塗られた部分はセントロメアを示す。左がメチル化、右が脱メチル化の異常を来した領域をその程度により緑（2 倍のメチル化）、黄（3 倍のメチル化）、赤（2 倍の脱メチル化）、黄（3 倍の脱メチル化）を示している。

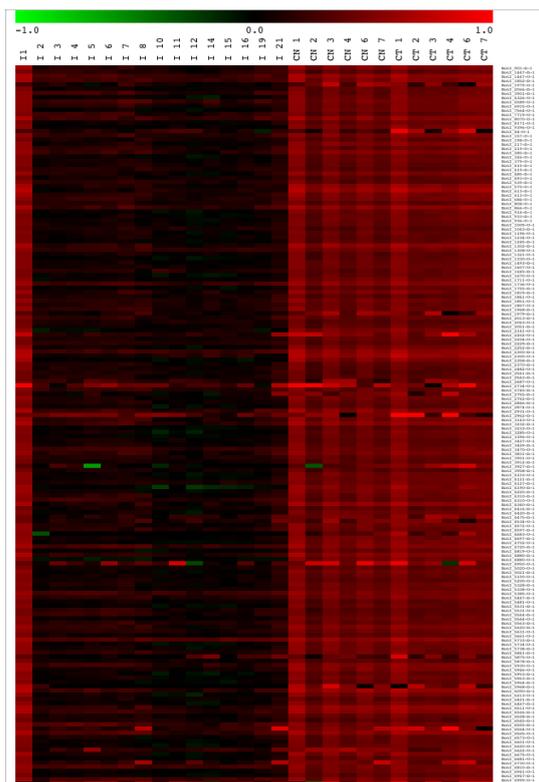
クラスタリング解析では、CN 群、CT 群に共通するメチル化異常は 138 カ所、脱メチル化異常は 221 カ所に認められた。

クラスタリング解析：メチル化異常を示した遺伝子



これらの遺伝子または領域は潰瘍性大腸炎の癌化に関わっている可能性がある。個々の遺伝子に関して詳細な検討を加えていく予定である。またグローバルな脱メチル化異常はゲノムの不安定性を惹起することから、CGHを用いてコピー数の変化を捉え、脱メチル化異常との相関を検討していく予定である。

クラスタリング解析：脱メチル化異常を示した遺伝子



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 3 件)

①鈴木浩一、岡田晋一郎、小西文雄：What's New in SURGERY FRONTIER 炎症と発癌 VAV-3.Surgery Frontier(1340-5594)15 巻 3 号：2008, pp. 299-303.

②Kageyama S, Shinmura K, Yamamoto H, Goto M, Suzuki K, Tanioka F, Tsuneyoshi T, Sugimura H :Fluorescence-labeled methylation-sensitive amplified fragment length polymorphism (FL-MS-AFLP) analysis for quantitative determination of DNA methylation and demethylation status. Jpn J Clin Oncol. 2008 Apr;38(4):317-22. Epub 2008 Mar 19.

③Manuel Perucho, Koichi Suzuki :Reply, New insights into a controversial topic: the methylation-cancer connection. Gastroenterology 132: 2070-2071, 2007

〔学会発表〕(計 17 件)

1)小泉圭, 鈴木浩一, 小倉廣之, 宮木祐一郎, 小西文雄, 鈴木一也、Global hypomethylation の新たな検出方法、第 67 回日本癌学会定期学術総会 2008. 10. 28 (名古屋)

2)宮木祐一郎, 鈴木浩一, 小泉圭, 岡田晋一郎, 小倉廣之, 鈴木一也、デキサメサゾン誘導遺伝子の異常メチル化と発癌、第 67 回日本癌学会定期学術総会 2008. 10. 28 (名古屋)

3)神山英範, 鈴木浩一, 野田弘志, 高田理, 河村裕, 小西文雄、大腸癌異時発生に関わる DNA メチル化異常の同定、第 50 回日本消化器関連学会機構定期学術総会 2008. 10. 1 (東京)

4)宮木祐一郎(浜松医科大学 第一外科), 鈴木浩一, 小泉圭, 岡田晋一郎, 磯野忠大, 小西由樹子, 渡辺浩, 小倉廣之, 和田英俊, 小林利彦, 鈴木一也、大腸癌における新規癌抑制遺伝子のエピジェネティックな検討、第 108 回日本外科学会定期学術総会 2008. 05. 15 (長崎)

5)小泉圭, 鈴木浩一, 小林利彦, 和田英俊, 小倉廣之, 小西由樹子, 宮木祐一郎, 磯野忠大, 岡田晋一郎, 小西文雄, 鈴木一也、メチル化アレイによる癌易罹患性の検出、第 108 回日本外科学会定期学術総会 2008. 05. 15 (長崎)

6)神山英範, 野田弘志, 高田理, 鈴木浩一, 河村裕, 小西文雄、大腸癌腹腔洗浄液中の DNA メチル化異常を標的とした微小腹膜転移診断と意義、第 108 回日本外科学会定期学術総会 2008. 05. 15 (長崎)

7)鈴木浩一, 小西文雄, 宮木雄一郎, 岡田晋一郎, 小泉圭, 神山秀範、脱メチル化剤による癌治療の是非、第 94 回日本消化器病学会定期学術総会 2008. 05. 8 (福岡)

8)岡田晋一郎, 鈴木浩一, 神山英範, 野田弘志, 小西文雄、潰瘍性大腸炎の発癌に対するグアニン交換因子の

関連性とそのメチル化プロファイル、第 94 回日本消化器病学会定期学術総会 2008.05.8 (福岡)

9) 岡田晋一郎, 鈴木浩一, 野田弘志, 小西文雄、グアニン交換因子の潰瘍性大腸炎発癌に対する関連性、第 66 回日本癌学会定期学術総会 2007.10.3 (横浜)

10) 山本絃子, 小泉圭, 宮木祐一郎, 鈴木浩一, 新村和也, 大槻弘順, 小西文雄, 前川真人, 梶村春彦, 常吉俊宏、ピロリ菌との混合培養によるヒト細胞株のグローバル DNA メチル化変異検索、第 66 回日本癌学会定期学術総会 2007.10.3 (横浜)

11) 宮木祐一郎, 鈴木浩一, 小泉圭, 山本絃子, 岡田晋一郎, 小倉廣之, 常吉俊宏, 小西文雄、A glucocorticoids-related gene is frequently methylated in colon cancer、第 66 回日本癌学会定期学術総会 2007.10.3 (横浜)

12) 小倉廣之, 小泉圭, 宮木祐一郎, 梶村春彦, 鈴木浩一、乳癌患者の癌部、非癌部と健常人のゲノム全域にわたる DNA 脱メチル化異常の比較検討、第 66 回日本癌学会定期学術総会 2007.10.3 (横浜)

13) 小泉圭, 鈴木浩一, 小倉廣之, 宮木祐一郎, 岡田晋一郎, 山本絃子, 常吉俊宏, 小西文雄、潰瘍性大腸炎に伴う大腸癌におけるメチル化異常、第 66 回日本癌学会定期学術総会 2007.10.3 (横浜)

14) 小泉圭, 鈴木浩一, 小林利彦, 和田英俊, 渡辺浩, 小倉廣之, 小西由樹子, 宮木祐一郎、Helicobacter Pylori 感染前後における、Genome-Wide な epigenetic alteration の検索、第 62 回日本消化器外科学会定期学術総会 2007.07.13 (新宿)

15) 鈴木浩一, 小泉圭, 宮木祐一郎, 岡田晋一郎, 野田弘志, 小西文雄、メチル化異常を標的とした分子標的治療の是非、第 62 回日本消化器外科学会定期学術総会

2007.07.13 (新宿)

16) 宮木祐一郎, 鈴木浩一, 小林利彦, 和田英俊, 渡辺浩, 小倉廣之, 小西由樹子, 小泉圭、大腸癌 DNA メチル化の検討、第 62 回日本消化器外科学会定期学術総会 2007.07.13 (新宿)

17) 小倉廣之, 鈴木浩一, 宮木祐一郎, 小泉圭, 小西由樹子, 渡辺浩, 和田英俊, 小林利彦, 数井暉久、乳癌組織における DNA メチル化異常、第 107 回日本外科学会定期学術総会 2007.04.11 (新宿)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他] (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木浩一 (SUZUKI KOUICHI)
自治医科大学・医学部・助教
研究者番号：70332369

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

① 宮木 祐一郎 (MIYAKI YUICHIROU)
浜松医科大学・医学部・研究生
研究者番号：00444357

② 小泉 圭 (KOIZUMI KEI)
浜松医科大学・医学部・研究生
研究者番号：90444356

③ 岡田 晋一郎 (OKADA SHINICHIROU)
自治医科大学・医学部・臨床助教
研究者番号：00382888

④ 神山 英範 (KAMIYAMA HIDENORI)

自治医科大学・医学部・研究生

研究者番号：80382894

⑤ 小西 文雄 (KONISHI FUMIO)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：20142242