

平成21年5月1日現在

研究種目：基盤研究 (C)  
 研究期間：2007 ～ 2008  
 課題番号：19591565  
 研究課題名(和文) マイクロアレイを用いた大腸癌術後肝転移の予測および新規肝転移関連遺伝子の検討  
 研究課題名(英文) Prediction of liver metastasis from colorectal cancer by gene expression of novel predictive genes  
 研究代表者  
 松田 圭二 (MATSUDA KEIJI)  
 帝京大学・医学部・准教授  
 研究者番号：90302728

## 研究成果の概要：

外科的切除が行われた、80例の肝転移例を training set して約 54,000 種類の遺伝子発現解析を行い、肝転移の予測式を作成した。この結果、予測精度 72.5% で肝転移の有無の予想が可能であった。次に独立した 20 例の解析を行い、予測式の精度を確認した結果、70.0% の精度で肝転移の予測が可能であった。本予測式により、大腸癌術後の肝転移再発の高リスク例の選別ができる可能性が示唆された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

## 研究分野：医歯薬学

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：大腸癌、肝転移、遺伝子発現解析、マイクロアレイ、テーラーメイド治療

## 1. 研究開始当初の背景

本邦では現在大腸癌が増加しており、大腸癌による死亡率を減少することが重要な課題となっている。大腸癌の外科治療後は、肝転移が予後を規定する重要な因子であるため、肝転移を来すハイリスク症例を選別できれば、ハイリスク症例に対して積極的な術後補助化学療法、あるいは intensive な術後フォローアップを行うことにより、大腸癌外科治療後の予後の向上が期待できる。しかし、現在までに国内、国外何れの報告においても、大腸癌外科的治療後の肝転移を高精度で予測するマーカーは確立されていない。

## 2. 研究の目的

DNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析により、肝転移の予測が可能となるか検討することを目的とした。具体的には、

大腸癌組織における約 54,000 の遺伝子および transcript の発現を DNA マイクロアレイを用いて網羅的に解析することにより、大腸癌の外科手術後に肝転移を来す症例を予測し、大腸癌に対するテーラーメイド治療を可能にすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

手術時に採取された大腸癌生検標本、あるいは既に採取してある既存の組織を用い、GeneChip 解析を行う。具体的には、凍結標本より Sepazol を用い total RNA を抽出し、T7-oligo(dT)24 primer を用い cDNA へ逆転写後、biotin 標識 cRNA を合成し、Affymetrix 社の GeneChip にハイブリダイズして大腸癌発生及び転移や薬剤感受性に関連が考えられる約 54,000 種類の遺伝子発現解析を行う。

臨床的データにより手術施行された症例を、肝転移の認められた転移群と、認められない非転移群に分類する。次に、転移群および非転移群を、予測式作成のため用いる症例 (training set) と、予測式の検証のために用いる test set に分類する。

各症例における遺伝子発現解析を行う。遺伝子発現解析により肝転移の有無により発現の異なる遺伝子群を選別し、これらの遺伝子セットにより肝転移の有無の予測を行う予測式を作成する。予測式を作成する際には、GeneSpring (silicon genetics 社) を用い、leave-one-out 法の一種である KNN 法にて行う。次ぎに、テストサンプルを用いて、予測式が独立したサンプルセットでも正しく肝転移の有無を予測できるか検証を行う。

#### 4. 研究成果

外科的切除が行われ、術後5年以上経過観察されて遠隔転移の有無が確認されている症例のうち、まず、80症例を training set して約 54,000 種類の遺伝子発現解析を行った。肝転移の認められた16例と認められなかった64例の間で有意に発現の差のあった34遺伝子を抽出した。この34遺伝子を用いて、肝転移の予測式を作成した。この結果、予測精度72.5%で肝転移の有無の予想が可能であった。次ぎに予測式の validation を行うために test set として更に独立した20例の解析を行った。予測式で肝転移の有無を予測した結果70.0%の精度で肝転移の有無の予測を行うことが可能であった。今後、本予測式により、大腸癌術後の肝転移再発の高リスク例で intensive follow up あるいは強力な術後補助化学療法を要する症例の選別ができる可能性が示唆された。

#### 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20件)

1) Watanabe T, Kobunai T, Sakamoto E, Yamamoto Y, Konishi T, Horiuchi A, Shimada R, Oka T, Nagawa H. Gene expression signature for recurrence in stage III colorectal cancers. *Cancer* 115 (2) :283-92, 2009 (査読有り)

2) Tanaka T, Watanabe T, Konishi T, Shibahara J, Kanazawa T, Kazama S, Nagawa H. Unusual Pressure-induced Rupture of Colonic Volvulus in a Patient treated with Chronic Corticosteroid Therapy. *Acta Gastroenterol Belg* (in press) (査読有り)

3) Tanaka T, Watanabe T, Kitayama J, Kazama Y, Tanaka J, Kanazawa T, Kazama S, Nagawa H. Chromosome 18q deletion as a novel molecular predictor for colorectal cancer with simultaneous hepatic metastasis. *Diagn Mol Pathol* (in press) (査読有り)

4) Watanabe T. Chemoradiotherapy and adjuvant chemotherapy for rectal cancer. *Int J Clin Oncol* 13 (6) :488-97, 2008 (査読有り)

5) Watanabe T. Recent advances in chemotherapy and chemoradiotherapy for gastrointestinal tract cancers. *Int J Clin Oncol* 13 (6) :472-3, 2008 (査読有り)

6) Iacopetta B, Kawakami K, Watanabe T. Predicting clinical outcome to 5-Fluorouracil-based chemotherapy for colon cancer patients: is it the CpG island methylator phenotype? *Int J Clin Oncol* 13 (6) :498-503, 2008 (査読有り)

7) Ishihara S, Watanabe T, Nagawa H. Intraoperative colonoscopy for stapled anastomosis in colorectal surgery. *Surg Today* 38 (11) :1063-5, 2008 (査読有り)

8) Ohnishi T, Watanabe T, Nozawa H, Kitayama J, Nagawa H. Telomerase activity of blood samples and recurrence of colorectal cancer. *Hepatogastroenterology* 55 (86-87) :1513-8, 2008 (査読有り)

9) Watanabe T, Matsuda K, Nozawa K, Kobunai T. Lateral pelvic lymph node dissection or chemoradiotherapy: which is the procedure of choice to reduce local recurrence rate in lower rectal cancer? *Ann Surg* 248 (2) :342-3, 2008 (査読有り)

10) Watanabe T, Yamamoto Y, Yamada H, Hayama T, Aoyagi Y, Nakamura K, Shibuya H, Kobunai T. Survival in microsatellite-unstable colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 14 (8) :2516-7, 2008 (査読有り)

11) Yamada H, Iinuma H, Watanabe T. Prognostic value of 5-fluorouracil metabolic enzyme genes in Dukes' stage B and C colorectal cancer patients treated with oral 5-fluorouracil-based adjuvant chemotherapy. *Oncol Rep* 19 (3) :729-35, 2008 (査読有り)

12) Matsumoto T, Iwao Y, Igarashi M, Watanabe K, Otsuka K, Watanabe T, Iizuka B, Hida N, Sada M, Chiba T, Kudo SE, Oshitani N, Nagawa H, Ajioka Y, Hibi T. Endoscopic and chromoendoscopic atlas featuring dysplastic lesions in surveillance colonoscopy for patients with long-standing ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 14(2):259-64, 2008 (査読有り)

13) Tanaka T, Watanabe T, Kazama Y, Tanaka J, Kanazawa T, Kazama S, Nagawa H. Loss of Smad4 protein expression and 18qLOH as molecular markers indicating lymph node metastasis in colorectal cancer—a study matched for tumor depth and pathology. *J Surg Oncol* 97(1):69-73, 2008 (査読有り)

14) Tanaka J, Watanabe T, Kanazawa T, Tada T, Kazama Y, Tanaka T, Nagawa H. Left-Sided microsatellite unstable colorectal cancers show less frequent methylation of hMLH1 and CpG island methylator phenotype than right-sided ones. *J Surg Oncol* 96(7):611-8, 2007 (査読有り)

15) Kiyomatsu T, Watanabe T, Muto T, Nagawa H. The 4-portal technique decreases adverse effects in preoperative radiotherapy for advanced rectal cancer: comparison between the 2-portal and the 4-portal techniques. *Am J Surg* 194(4):542-8, 2007 (査読有り)

16) Fukushima K, Fujii H, Yamamura T, Sugita A, Kameoka S, Nagawa H, Futami K, Watanabe T, Hatakeyama K, Sawada T, Yoshioka K, Kusunoki M, Konishi F, Watanabe M, Takahashi K, Ogawa H, Funayama Y, Hibi T, Sasaki I; Surgical Research Group, the Research Committee of Inflammatory Bowel Disease, Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. Pouchitis atlas for objective endoscopic diagnosis. *J Gastroenterol* 42(10):799-806, 2007 (査読有り)

17) Hayama T, Iinuma H, Watanabe T. Rapid genetic diagnosis with transcription-reverse transcription concerted reaction system for peritoneal recurrence and survival in colorectal cancer patients. *Oncol Rep* 18(4):779-84, 2007 (査読有り)

18) Kojima T, Watanabe T, Nagawa H. Basic fibroblast growth factor enema improves experimental colitis in rats. *Hepatogastroenterology* 54(77):1373-7, 2007 (査読有り)

19) Nozawa H, Watanabe T, Nagawa H. Phosphorylation of ribosomal p70 S6 kinase and rapamycin sensitivity in human colorectal cancer. *Cancer Lett* 251(1):105-13, 2007 (査読有り)

20) Kazama Y, Watanabe T, Kanazawa T, Tanaka J, Tanaka T, Nagawa H. Microsatellite instability in poorly differentiated adenocarcinomas of the colon and rectum: relationship to clinicopathological features. *J Clin Pathol* 60(6):701-4, 2007 (査読有り)

〔学会発表〕(計0件)

〔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〕

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

松田 圭二 (MATSUDA KEIJI)

帝京大学・医学部・準教授

研究者番号: 90302728

### (2) 研究分担者

無し

### (3) 連携研究者

渡邊 聡明 (WATANABE TOSHIAKI)

帝京大学・医学部・教授

研究者番号: 80210920

野澤 慶次郎 (NOZAWA KEIJIRO)

帝京大学・医学部・助教

研究者番号: 90317686

飯沼 久恵 (IINUMA HISAE)

帝京大学・医学部・講師

研究者番号: 30147102