

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20390357

研究課題名（和文） 大腸がんにおける OMICS の臨床応用と新規マーカーの探索

研究課題名（英文） Clinical application of OMICS for isolation of novel marker in colorectal cancer

研究代表者

竹政 伊知朗 (TAKEMASA ICHIRO)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：50379252

研究成果の概要（和文）：われわれは、大腸癌の治療戦略として個別化医療の確立が必須であると考え、ファンクショナルゲノミクス、プロテオミクス、メタボロミクスなど OMICS 技術を応用し多角的な研究をすすめている。本研究では、大腸癌外科学における臨床診断・予後の改善を目指し、これまでの病理組織診断では困難であった大腸癌の発生・転移・再発、および治療応答性に関連する分子マーカーを探索し、prospective に検証した。

研究成果の概要（英文）：It has been expected that the personalized medicine is essential for the near future treatment strategy of colorectal cancer with clinical application of the OMICS technology such as functional genomics, proteomics and metabolomics. In this study, several biological markers for the colorectal cancer were successfully isolated in each OMICS level. They are promising and play important roles for the diagnosis or detection of cancer, the prediction of recurrence or treatment responsiveness that had been difficult with the conventional pathological diagnosis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	5,100,000	1,530,000	6,630,000
2009 年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
2010 年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
年度			
年度			
総計	14,500,000	4,350,000	18,850,000

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：大腸がん、個別医療、OMICS、大規模症例登録、臨床応用

1. 研究開始当初の背景

2005 年の我が国におけるがんの死亡者数は、約 32 万となり死亡者数全体の 30%を越えるようになった。消化器がんはその 58%を占め、なかでも大腸がんは急増し、女性では 2003 年より胃がんを上回り死因のトップになった。胃がん、子宮がんの死亡率が減少する一方、大腸がんは生活習慣の変化等により罹患率、死亡率とも依然増加し続けている。CEA, CA19-9 など従来の腫瘍マーカーは大腸がん臨床に有用であるが、これだけでは十

分とはいえないため、新規マーカーの探索によって転移・再発高危険度群や治療高感受性群を同定する subpopulation 化を検討し、現状の画一的医療から個別化医療実践に向けた大腸がんの新しい診断・治療体系の確立が急務である。文部科学省と厚生労働省の連携により推進される第 3 次対がん 10 年総合戦略では、がん研究・予防の促進とがん医療の向上に重点がおかれ、研究分野では学横断的な発想と先端科学技術の導入に基づくがんの本態解明の飛躍的推進、基礎研究の成果を積極

的に予防・診断・治療へ応用するトランスレーショナルリサーチの推進、革新的な予防法の開発、革新的な診断・治療法の開発、がんの実態把握とがん情報・診療技術の発信・普及が重要な課題として挙げられている。一方、ヒトゲノムの完全解読に伴い各種の公共データベースが整理され、ファンクショナルゲノミクス、プロテオミクス、メタボロミクスなど OMICS 技術が急速に発展し、がん医療はこれまでの生命科学研究の集大成を土台に大きな革新を迎えようとしている。ヒト全遺伝子の網羅的解析手法の開発により、ほとんど全てのがん腫で遺伝子発現プロファイルによる特性診断が行われ、新規がんマーカーの探索や、転移・予後の予測診断など、がんの個性化診断・治療への応用に関する報告もみられるようになった。しかし、その一方で、網羅的発現解析の成果の一端として、mRNA と翻訳タンパクの相関が乏しいことが知られるようになり、遺伝子発現解析だけではがんの形質・特性表現には限界があることも分かってきた。また、がん症例におけるリン酸化、糖鎖修飾など翻訳後修飾や、血液、髄液、尿などの体液の異常は mRNA レベルでは解析できないため、プロテオミクス解析の重要性が認識されるようになった。今後は遺伝子とタンパクの発現相互ネットワークを融合解析することで、がんの分子メカニズムに対する理解は飛躍的に進み、がんの発生・転移・再発に関わるバイオマーカーの的確な同定が可能になると考えられる。また薬剤応答性・耐性獲得予測など外的要因が影響を及ぼす検討項目は、がん組織の遺伝子・タンパク発現プロファイルだけでは臨床的に十分な結果が得られない可能性があり、生体内におけるゲノムおよびタンパクの活性そして環境が及ぼす影響の総和を測定するメタボロミクスによる表現・診断が重要になると考えられる。

2. 研究の目的

本研究は体系的な遺伝子・タンパク発現（ファンクショナルゲノミクス・プロテオミクス）からみた大腸癌の発育進展、転移再発に関与する数種類の candidate 分子の同定と、特異的メタボライト解析（メタボロミクス）から癌の発生および治療応答性に関与する分子を同定し、臨床応用化することを目的としている。

3. 研究の方法

ファンクショナルゲノミクスでは 30000 遺伝子を搭載したヒト全遺伝子型 DNA チップを用いた遺伝子発現解析により、Stage 別に再発に関与するする遺伝子群を同定と、プロファイル解析による再発予測について検討した。プロテオミクスでは、NBS/MALDI-TOFMS 法を用いたタンパク発現解析により、大腸癌の術後肝・肺再発に関与するするタンパクの同定と、標的タンパクの血清中の動態を検討した。メタボロミクスでは、大腸癌手術前、術後、症例により大腸癌の化学療法中の患者と健常者の血清か

ら有意差のあるメタボライトを検出した。

4. 研究成果

トランスクリプトミクス解析では、術後肝・肺転移に関与する遺伝子群の他、pStage II, pStage III 別に再発に関与する約 100 種類の遺伝子群を同定し、mRNA の発現信頼性を TLDA 法により検証した。さらにプロファイル解析で約 80%の再発予測率を、別途 200 例の大腸癌症例で臨床型 chip により検証した。個別の再発の可能性が正しく判別できれば、術後補助療法の適正な施行における臨床的意義は大きい。プロテオミクス解析では、大腸癌の術後肝・肺再発において特異的発現する約 50 種類の蛋白を同定し、Western Blotting, IHC で発現 validation が確認された約 20 種類のタンパクのうち、7 種では血清中発現を ELISA 法での検出可能であった。特異的メタボライト解析では、健常者の中からの大腸癌を発見する検診レベルでの血清 screening に有用なバイオマーカーとして同定した 6 種類のメタボライトがビタミン D の代謝物であることが確認された。さらに大腸癌患者に対する 5FU base+CPT-11, OHP など薬剤感受性・耐性獲得に関与するバイオマーカー、直腸癌患者に対する放射線感受性性に関与するバイオマーカーについて探索した。一定の subpopulation を個別予測できる診断システムの構築と、prospective に集積した症例での十分な検証を継続する。

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 15 件)

1. Miyake M, Takemasa I, Matoba R, Tanino M, Niiijima S, Ikeda M, Yamamoto H, Sekimoto M, Kuhara S, Okayama T, Monden M, Matsu bara K, Mori M. Heterogeneity of colorectal cancers and extraction of discriminator gene signatures for personalized prediction of prognosis. Int J Clin Oncol. 2011 [Epub ahead of print]
2. Hirose H, Ishii H, Mimori K, Tanaka F, Takemasa I, Mizushima T, Ikeda M, Yamamoto H, Sekimoto M, Doki Y, Mori M. The Significance of PITX2 Overexpression in Human Colorectal Cancer. Ann Surg Oncol. 2011 [Epub ahead of print]
3. Uemura M, Yamamoto H, Takemasa I, Mimori K, Mizushima T, Ikeda M, Sekimoto M, Doki Y, Mori M. Hypoxia-inducible adrenomedullin in colorectal cancer. Anticancer Res.

- (2):507-14. 2011
4. Watanabe M, Takemasa I, Kaneko N, Yokoyama Y, Matsuo E, Iwasa S, Mori M, Matsuura N, Monden M, Nishimura O. Clinical significance of circulating galectins as colorectal cancer markers. *Oncol Rep.* 25(5):1217-26. 2011
 5. Takahashi H, Ishii H, Nishida N, Takemasa I, Mizushima T, Ikeda M, Yokobori T, Mimori K, Yamamoto H, Sekimoto M, Doki Y, Mori M. Significance of Lgr5(+ve) cancer stem cells in the colon and rectum. *Ann Surg Oncol.* 18(4):1166-74. 2011
 6. Ritchie SA, Heath D, Yamazaki Y, Grimmalt B, Kavianpour A, Krenitsky K, Elshoni H, Takemasa I, Miyake M, Sekimoto M, Monden M, Tomonaga T, Matsubara H, Sogawa K, Matsushita K, Nomura F, Goodenowe DB. Reduction of novel circulating long-chain fatty acids in colorectal cancer patients is independent of tumor burden and correlates with age. *BMC Gastroenterol.* 10:140. 2010
 7. Konishi K, Yamamoto H, Mimori K, Takemasa I, Mizushima T, Ikeda M, Sekimoto M, Matsuura N, Takao T, Doki Y, Mori M. Expression of C4.4A at the invasive front is a novel prognostic marker for disease recurrence of colorectal cancer. *Cancer Sci.* 101(10): 2269-77. 2010
 8. Ritchie SA, Ahiahonu PW, Jayasinghe D, Heath D, Liu J, Lu Y, Jin W, Kavianpour A, Yamazaki Y, Khan AM, Hossain M, Su-Myat KK, Wood PL, Krenitsky K, Takemasa I, Miyake M, Sekimoto M, Monden M, Matsubara H, Nomura F, Goodenowe DB. Reduced levels of hydroxylated, polyunsaturated ultra long-chain fatty acids in the serum of colorectal cancer patients: implications for early screening and detection. *BMC Med.* 15:8-13. 2010
 9. Motoori M, Takemasa I, Yamasaki M, Komori T, Takeno A, Miyata H, Takiguchi S, Fujiwara Y, Yasuda T, Yano M, Matsuura N, Matsubara K, Monden M, Mori M, Doki Y. The feasibility of using biopsy samples from esophageal cancer for comprehensive gene expression profiling. *Ann Surg Oncol.* 16(7) : 2058-2064. 2009
 10. 竹政伊知朗、森正樹：マイクロアレイで大腸癌の肝転移予測ができるか教えてください、*Surgery Frontier* .16 (4) : 106-109. 2009
 11. Komori T, Takemasa I, Yamasaki M, Motoori M, Kato T, Kikkawa N, Kawaguchi N, Ikeda M, Yamamoto H, Sekimoto M, Matsubara K, Matsuura N, Monden M. Gene expression of colorectal cancer: Preoperative genetic diagnosis using endoscopic biopsies. *Int J Oncol.* 32(2) : 367-375. 2008
 12. Ezumi K, Yamamoto H, Murata K, Higashiyama M, Damdinsuren B, Nakamura Y, Kyo N, Okami J, Ngan CY, Takemasa I, Ikeda M, Sekimoto M, Matsuura N, Nojima H, Monden M. Aberrant Expression of Connexin 26 Is Associated with Lung Metastasis of Colorectal Cancer. *Clin Cancer Res.* 14(3) 677-684. 2008
 13. Watanabe M, Takemasa I, Kawaguchi N, Miyake M, Nishimura N, Matsubara T, Matsuo E, Sekimoto M, Nagai K, Matsuura N, Monden M, Nishimura O. An application of the 2-nitrobenzenesulfonyl method to proteomic profiling of human colorectal carcinoma: A novel approach for biomarker discovery. *Proteomics Clin Appl.* 2 : 925-935 . 2008
 14. 山本浩文、竹政伊知朗、池田正孝、関本貢嗣、門田守人 : 転移因子を標的とした肝転移の治療戦略. *Biotherapy* : 22(2) 96-104
 15. 竹政伊知朗、池田正孝、山本浩文、関本貢嗣、森正樹、門田守人：大腸癌の個別化医療に向けて：Frontiers in Gastroenterology. 13(3)224-231. 2008
- [学会発表] (計 9 件)
1. 植村守、山本浩文、原口直紹、竹政伊知朗、水島恒和、池田正孝、石井秀始、関本貢嗣、土岐祐一郎、森正樹：生体内低酸素誘導遺伝子検索モデルとしての大腸癌肝転移巣の有用性：第 20 回 日本消化器癌発生学会総会、2009. 11. 26 ~ 11. 27 (広島)
 2. 三宅正和、竹政伊知朗、渡辺真、池田正孝、山本浩文、水島恒和、関本貢嗣、松浦成昭、西村紀、土岐祐一郎、森正樹：大腸癌網羅的遺伝子解析を用いた新規マーカー探索：余後関連遺伝子とそのタンパク発現、第 109 回 日本外科学会定

- 期学術集会 2009. 4. 2~4. 4 (福岡)
3. 徳岡優佳、竹政伊知朗、渡辺真、三宅正和、水島恒和、池田正孝、山本浩文、関本貢嗣、西村紀、門田守人、森正樹：NBS法による大腸癌組織を用いた新規肝転移関連蛋白の検討、第109回 日本外科学会定期学術集会 2009. 4. 2~4. 4 (福岡)
 4. 山本浩文、小西健、鈴木玲、原口直紹、水島恒和、竹政伊知朗、池田正孝、石井秀始、関本貢嗣、土岐祐一郎、森正樹：癌と間質のinterfaceにおける分子解析と治療応用、第109回 日本外科学会定期学術集会 2009. 4. 2~4. 4 (福岡)
 5. 三宅正和、竹政伊知朗、渡辺真、池田正孝、山本浩文、水島恒和、関本貢嗣、松浦成昭、西村紀、土岐祐一郎、森正樹：NBS法を用いた網羅的タンパク解析による大腸癌関連マーカーの探索、第5回日本消化管学会総会 2009. 2. 12~2. 13 (東京)
 6. Ishii H., Haraguchi N., Tanaka F., Mimori K., Inoue H., Takemasa I., Ikeda M., Yamamoto H., Sekimoto M., Mori M. Identification of colon cancer-initiating cells. 21st the Naito conference. 2008. 11. 11-. 11. 14 (湘南)
 7. 徳岡優佳、竹政伊知朗、渡辺真、三宅正和、人羅俊貴、野村昌哉、池田正孝、山本浩文、関本貢嗣、西村紀、門田守人：NBS法による大腸癌組織を用いた新規転移関連蛋白の検討、第108回日本外科学会定期学術集会 2008. 5. 15-. 5. 17 (長崎)
 8. 三宅正和、竹政伊知朗、池田正孝、山本浩文、関本貢嗣、松原謙一、門田守人：大腸癌網羅的遺伝子解析を用いた新規マーカーを探索：高発現遺伝子とタンパク発現との比較、第108回日本外科学会定期学術集会 2008. 5. 15-. 5. 17 (長崎)
 9. 植村守、山本浩文、田中純一、竹政伊知朗、池田正孝、関本貢嗣、門田守人：血管新生因子Adrenomedulinの大腸癌術後予後因子としての意義、第108回日本外科学会定期学術集会 2008. 5. 15-. 5. 17 (長崎)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹政 伊知朗 (TAKEMASA ICHIRO)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号：50379252

(2) 研究分担者

関本 貢嗣 (SEKIMOTO MITUGU)
大阪大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：10273658

山本 浩文 (YAMAMOTO HIROFUMI)
大阪大学・医学系研究科・講師
研究者番号：30322184

池田 正孝 (IKEDA MASATAKA)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号：80335356