

機関番号：17102

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791297

研究課題名 (和文) 胃癌骨髄における microRNA アレイを用いた転移機構の解明

研究課題名 (英文) Clarification of the metastatic cascade mediated through the microRNA in bone marrow from gastric cancer cases.

研究代表者

石丸 神矢 (Ishimaru Shinya)

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：10529887

## 研究成果の概要

(和文)：転移陽性および陰性胃癌患者の骨髄検体4例ずつを用いて microRNA マイクロアレイと遺伝子発現アレイを行った。転移陽性例骨髄では hsa-mir-144 が上昇し、その標的遺伝子である fosb が低下していた。骨髄における fosb 遺伝子の発現低下は、リンパ節転移や腹膜播種など、臨床病理学的因子と有意に関連していた。

## 研究成果の概要

(英文)：MicroRNA array and gene expression array were performed with bone marrow of gastric cancer patient with/without metastases (n=4, respectively). Hsa-mir-144 was up-regulated in metastasis positive cases, and fosb, target of has-mir-144 was downregulated. Fosb depression showed clinicopathological significance (N, P etc).

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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

キーワード：胃癌 microRNA 骨髄 マイクロアレイ 骨髄

## 1. 研究開始当初の背景

癌転移機構の解明あるいは新規転移予測因子の同定を目的とした研究の一環として、循環血液中の癌細胞の存在診断に関する研究を行ってきた。われわれは、これまでに胃癌810例の骨髄または末梢血液(末血)を対象に解析を行った結果、遊離癌細胞の検出には臨床的意義を認めなかったことから(Clin Cancer Res 2008)、転移能を制御する何らかの因子に注目していた。

近年、蛋白質の翻訳抑制により様々な細胞機能を制御する分子 microRNA(miR)の存在と、その標的遺伝子 pathway が発癌あるいは

は進展転移に関連することが注目されている。

他方、ごく最近、われわれは循環血液中に出現する骨髄由来細胞などの宿主側細胞が転移形成に重要な役割を担う可能性を指摘した。

## 2. 研究の目的

胃癌患者における骨髄の転移機構への関わりを明らかにする本研究では胃癌骨髄全体を解析対象として転移陽性例特異的に発現する miR-遺伝子 pathway を明らかにする。

## 3. 研究の方法

マイクロアレイについては 腹膜播種陽性

胃癌症例 5 例および転移陰性胃癌 5 症例の骨髄全体より total RNA を抽出し、miR マイクロアレイを 2 種類の platform を用いて施行。発現解析については各 stage 45 例ずつ合計 180 例の胃癌症例骨髄を用いて、同定した miR および標的遺伝子群の解析を行った。また、標的遺伝子 KO マウスを用いて、miR による抑制時と腹膜播種制御能について比較した。

#### 4. 研究成果

1) 腹膜播種陽性症例群より miR144 を同定した。2) 胃癌多数症例で qRT-PCR 施行し miR-144 および標的候補遺伝子 FOSB 発現の臨床的意義を明らかにしたところ、miR 発現低下症例群は腹膜播種陽性症例が有意に多かった ( $p < 0.05$ )。FOSB 高発現症例は、有意に腫瘍深達度、腫瘍径、リンパ節転移、腫瘍径そして腹膜播種頻度が高い。3) miR144 と FOSB 等との関係について胃癌 5 株について Luciferase assay にて確認。4) miR144 投与マウスおよび FOSB KO (C57/BL6) マウスにおいて胃癌株化細胞を移植したところ、ともに腹膜播種陽性の頻度は低下した。

全骨髄液を用いた定量的 miR 発現解析の結果は、4) KO マウスの実験結果をふまえて、宿主側細胞における miR-144-FOSB pathway が腹膜播種制御において重要であることを明らかにした。胃癌でも宿主側細胞において制御する microRNA は胃癌進展制御において重要であることを明らかにした。

#### 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 1 件)

1) Saiki Y, Ishimaru S, Mimori K, Takatsuno Y, Nagahara M, Ishii H, Yamada K, Mori M. Comprehensive analysis of the clinical significance of inducing pluripotent stemness-related gene expression in colorectal cancer cells.

Ann Surg Oncol. 2009 Sep;16(9):2638-44. Epub 2009 Jun 25.

[学会発表] (計 38 件)

1) S. Ishimaru, K. Mimori, M. Nagahara, Y. Takatsuno, S. Akiyoshi, K. Sugihara, M. Mori. Suppression of MAL gene expression in gastric cancer correlates with metastasis and mortality.

62th The Surgical Society of Oncology 2009/03/06 Phoenix, AZ

2) 石丸神矢、杉原健一、三森功士、高角康志、永原誠、佐藤哲也、藤博幸、田中文明、井上裕、森正樹。大腸癌において特異的に変化する microRNA とその意義。第 109 回日本外科学会定期学術集会。2009/04/02 福岡

3) 佐伯泰慎、石丸神矢、永原誠、高角康志、三森功士、山田一隆、森正樹。大腸癌症例における iPS 遺伝子群発現の臨床的意義について。第 109 回日本外科学会定期学術集会。2009/04/02 福岡

4) 石丸神矢、三森功士、永原誠、石川健二、主藤朝也、田中文明、石川浩一、佐藤哲也、杉原健一、森正樹。大腸癌 CGH アレイを用いた microRNA 局在部位の変異を有する高危険症例群の検出。第 64 回日本消化器外科学会総会。2009/07/16 大阪

5) 永原誠、石丸神矢、石川健二、主藤朝也、三森功士、田中文明、石川浩一、杉原健一、森正樹。大腸癌患者における KIF18A 遺伝子発現の臨床病理学的意義。第 64 回日本消化器外科学会総会。2009/07/16 大阪

6) 三森功士、横堀武彦、岩槻政晃、石丸神矢、秋吉清百合、永原誠、石井秀始、森正樹。大腸癌における EMT を制御し造腫瘍能と多分化能を有する遺伝子の臨床的意義と機能解析。第 18 回日本がん転移学会学術集会・総会。2009/07/23 旭川

7) 主藤朝也、三森功士、岩槻政晃、横堀武彦、石丸神矢、秋吉清百合、石川健二、永原誠、田中文明、石川浩一、藤田博正、白水和雄、森正樹。食道癌において化学療法が EMT を誘導する。第 18 回日本がん転移学会学術集会・総会。2009/07/24 旭川

8) 岩槻政晃、三森功士、石丸神矢、西田尚弘、森正樹。胃癌転移における微量癌細胞の存在と宿主側因子の共存の意義。第 41 回胃病態機能研究会。2009/08/08 福岡

9) 石丸神矢、三森功士、森正樹、杉原健一。胃癌における MAL 遺伝子発現の制御と臨床病理学的因子の関連。第 68 回日本癌学会学術集会。2009/10/01 横浜

10) 石丸神矢、三森功士、森正樹。大腸癌ゲノムにおける microRNA cluster 領域の変動とその臨床病理学的意義。第 20 回日本消化器癌発生学会。2009/11/27 広島

11) 西田尚弘、三森功士、横堀武彦、古後龍之介、秋吉清百合、石丸神矢、岩槻政晃、石川健二、主藤朝也、田中文明、柴田浩平、森

正樹。食道癌における EMT 制御遺伝子 FOXC2 発現の臨床病理学的意義。第 20 回日本消化器癌発生学会。2009/11/26 広島

12) S. Ishimaru, K. Mimori, K. Shibata, T. Sudo, T. Yokobori, N. Nishida, S. Akiyoshi, R. Kogo, T. Sato, H. Toh, K. Sugihara, M. Mori. The Clinicopathological Significance of Genomic Aberrations of MicroRNA Locus in Colorectal Cancer Patients. 63th The Surgical Society of Oncology. 2010/03/06 St. Louis, MO

13) T. Yokobori, K. Mimori, F. Tanaka, K. Shibata, T. Sudo, S. Ishimaru, S. Akiyoshi, N. Nishida, R. Kogo, H. Kuwano, M. Mori. clinical significance of miR-125 expression in colorectal cancer patients. 63th The Surgical Society of Oncology. 2010/03/06 St. Louis, MO

14) 主藤朝也、永原誠、張翔、横堀武彦、石丸神矢、西田尚弘、古後龍之介、秋吉清百合、田中文明、柴田浩平、森正樹。大腸癌における EGFR 突然変異と Gefitinib 感受性についての検討。第 43 回制癌剤適応研究会。2010/03/12 仙台

15) 石丸神矢、三森功士、石川健二、主藤朝也、柴田浩平、田中文明、佐藤哲也、藤博幸、杉原健一、森正樹。大腸癌細胞における全ての microRNA ゲノムクラスターの臨床的意義と予後予測因子としての意義。第 110 回日本外科学会定期学術集会。2010/04/09 名古屋

16) 柴田浩平、横堀武彦、三森功士、秋吉清百合、西田尚弘、岩槻政晃、石丸神矢、石川健二、主藤朝也、田中文明、森正樹、北野正剛。肝細胞癌患者の背景肝組織における FBXW7 の発現低下は予後不良を反映する。第 110 回日本外科学会定期学術集会。2010/04/09 名古屋

17) 石丸神矢、三森功士、石川健二、主藤朝也、柴田浩平、田中文明、佐藤哲也、藤博幸、杉原健一、森正樹。大腸癌細胞のゲノムにおける microRNA クラスター領域の変異：臨床像との関連および予後予測因子としての意義。第 110 回日本外科学会定期学術集会。2010/04/08 名古屋

18) 柴田浩平、横堀武彦、三森功士、秋吉清百合、西田尚弘、岩槻政晃、石丸神矢、石川健二、主藤朝也、田中文明、森正樹、北野正剛。肝細胞癌患者の背景肝組織における FBXW7 の発現低下は予後不良を反映する。第 110 回日本外科学会定期学術集会。

2010/04/08 名古屋

19) 横堀武彦、三森功士、深川剛生、石丸神矢、岩槻政晃、笹子美津留、桑野博行、森正樹。高感度 DNA チップアレイによる胃癌腹膜播種を制御する骨髄中遺伝子の同定。110 回日本外科学会定期学術集会。2010/04/08 名古屋

20) 高角康志、横堀武彦、三森功士、西田尚弘、石丸神矢、杉原健一、森正樹。大腸癌において p53 を制御する microRNA-125b 発現の臨床的意義の検討。110 回日本外科学会定期学術集会。2010/04/08 名古屋

21) 石丸神矢、三森功士、田中文明、柴田浩平、主藤朝也、横堀武彦、西田尚弘、古後龍之介、岩谷岳、杉原健一、森正樹。大腸癌のゲノムにおける microRNA 領域の変異とその臨床病理学的意義。第 73 回大腸癌研究会。2010/07/02 奄美大島

22) 西田尚弘、三森功士、永原誠、横堀武彦、古後龍之介、石丸神矢、岩谷岳、主藤朝也、田中文明、柴田浩平、森正樹。第 73 回大腸癌研究会。2010/07/02 奄美大島

23) 石丸神矢、三森功士、田中文明、柴田浩平、石川健二、主藤朝也、高角康志、佐藤哲也、杉原健一、森正樹。大腸癌において高いリスクを示す 8q24 多型における発癌機構の解明。第 65 回日本消化器外科学会。2010/07/16 下関

24) 主藤朝也、三森功士、横堀武彦、石丸神矢、秋吉清百合、西田尚弘、古後龍之介、藤田博正、白水和雄、森正樹。食道癌における上皮間葉移行関連因子 FN1 発現の臨床的意義について。2010/07/16 下関

25) 佐伯泰慎、三森功士、石丸神矢、永原誠、高角康志、山田一隆、森正樹。大腸癌における iPS 遺伝子群発現の臨床的意義について。2010/07/14 下関

26) 横堀武彦、三森功士、西田尚弘、秋吉清百合、石丸神矢、古後龍之介、岩槻政晃、桑野博行、森正樹。大腸癌における microRNA-125b 発現の臨床的意義の検討。2010/07/14 下関

27) 西田尚弘、永原誠、三森功士、古後龍之介、石丸神矢、主藤朝也、田中文明、柴田浩平、森正樹。大腸癌間質におけるマイクロ RNA- 遺伝子 pathway の包括的解析。2010/07/15 下関

28) 三森功士、岩槻政晃、深川剛生、石丸神矢、横堀武彦、笹子三津留、森正樹。胃癌の進展転移を制御する宿主側細胞由来の microRNA の同定。2010/07/15 下関

29) 主藤朝也、三森功士、横堀武彦、石丸神矢、西田尚弘、古後龍之介、岩谷岳、田中文明、柴田浩平、藤田博幸、白水雄、森正樹。食道癌における FN1 発現の意義。第 69 回日本癌学会学術総会。2010/09/22 大阪

30) 柴田浩平、三森功士、横堀武彦、石丸神矢、西田尚弘、古後龍之介、岩谷岳、主藤朝也、田中文明、森正樹、北野正剛。背景肝における Fbx7 発現の低下は肝癌患者の予後不良因子である。第 69 回日本癌学会学術総会。2010/09/22 大阪

31) 西田尚弘、三森功士、横堀武彦、古後龍之介、石丸神矢、岩谷岳、主藤朝也、田中文明、柴田浩平、森正樹。食道癌における EMT マーカー FOXC2 の臨床病理学的意義。第 69 回日本癌学会学術総会。2010/09/23 大阪

32) 石丸神矢、三森功士、田中文明、柴田浩平、主藤朝也、横堀武彦、西田尚弘、古後龍之介、岩谷岳、森正樹。食道癌および大腸癌細胞におけるゲノム変化の横断的解析及びその臨床病理学的意義。第 69 回日本癌学会学術総会。2010/09/23 大阪

33) 横堀武彦、三森功士、岩槻政晃、主藤朝也、岩谷岳、田中文明、柴田浩平、石丸神矢、西田尚弘、古後龍之介、桑野博行、森正樹。食道癌における腫瘍抑制因子 FBXW7 発現の臨床的意義。第 69 回日本癌学会学術総会。2010/09/23 大阪

34) 岩谷岳、横堀武彦、三森功士、岩槻政晃、主藤朝也、田中文明、柴田浩平、石丸神矢、古後龍之介、桑野博行、森正樹。大腸癌における miR-144 の臨床的意義。第 69 回日本癌学会学術総会。2010/09/23 大阪

36) 主藤朝也、三森功士、田中文明、横堀武彦、石丸神矢、西田尚弘、古後龍之介、柴田浩平、白水雄、藤田博正、森正樹。食道癌における EMT 関連遺伝子発現の臨床学的重要性（とくに間葉系マーカーについて）日本消化器関連学会。2010/10/15 横浜

37) 石丸神矢、三森功士、田中文明、柴田浩平、主藤朝也、横堀武彦、秋吉清百合、西田尚弘、古後龍之介、杉原健一、森正樹。大腸癌および食道癌におけるゲノム変化が遺伝子発現にもたらす影響およびその臨床病理学的意義。日本消化器関連学会。

2010/10/16 横浜

38) 西田尚弘、三森功士、古後龍之介、石丸神矢、主藤朝也、田中文明、柴田浩平、森正樹。胃癌におけるマイクロ RNA miR-125a の臨床病理学的意義。日本消化器関連学会。2010/10/16 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  
石丸神矢 (Ishimaru Shinya)  
九州大学・大学病院・医員

研究者番号：10529887

(2) 研究分担者 ( )

研究者番号：

(3) 連携研究者 ( )

研究者番号：