

令和元年6月5日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10543

研究課題名(和文) 大腸癌のゲノム進化モデルに基づく新たな分子治療標的遺伝子の同定とその機能解析

研究課題名(英文) Identification of novel therapeutic target genes based on genomic progression model of colorectal cancer

研究代表者

増田 隆明 (Masuda, Takaaki)

九州大学・大学病院・講師

研究者番号：50463493

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：がんの治療が困難な理由の一つに癌の中にあるんな種類のがん細胞が存在すること(腫瘍多様性)がある。本研究では大腸癌の多くのがん細胞に共通する遺伝子変異を同定して、多様性に影響を受けない治療標的となりうる遺伝子を同定することである。本研究により5MP1をはじめとして複数の候補がん遺伝子を同定することができ、現在その遺伝子を標的とする化合物を検索している。

研究成果の学術的意義や社会的意義
がん治療を困難としているがんの多様性に影響を受けない有効な治療標的となりうる遺伝子を複数同定しえた。現在それら遺伝子を標的とする治療薬(化合物)を開発を試みている。これらの成果はがん治療成績の向上に寄与するものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Tumor heterogeneity is a major cause of the therapeutic difficulty of cancer due to the presence of multiple subclones boosting adaptation to pharmacologic interventions. We found several oncogenes as a potential therapeutic target in colorectal cancer to overcome the therapeutic resistance conferred by tumor heterogeneity.

研究分野：腫瘍外科

キーワード：大腸癌 分子治療標的 ゲノム進化 がん遺伝子

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

本邦において、大腸癌は罹患率・死亡率ともに第2位を占め、現在も急増している。近年 FOLFOX や FOLFIRI 等の多剤併用療法や抗 VEGF 抗体や抗 EGFR 抗体等の分子標的治療薬の開発により、切除不能・再発大腸癌の生存期間は 20 カ月を越えるほど延長したが、高い死亡率を考慮すると満足すべき成績ではない。大腸癌のさらなる治療成績の向上のためには、大腸癌に普遍的に有効性を示し、かつ副作用の少ない分子標的治療薬の開発が急務である。近年の次世代シーケンサーや gene array 等の開発により、Bioinformatics による癌ゲノムの包括的な統合解析が可能となり、統計学的に導き出された発癌から転移までの癌の進化におけるゲノム・エピゲノム変異の同定およびそれに伴う遺伝子発現の変化の同定が可能になった。分担研究者である三森らは、大腸癌ゲノムの網羅的・統合的解析を実施し、大腸癌において普遍的に存在し発癌に関与すると考えられる遺伝子(Founder 遺伝子)、および転移など多様性や癌進展に関与すると考えられる遺伝子(Progressor 遺伝子)を同定し、大腸癌のゲノム進化モデルを提唱した(図 1. Uchi R et al PLOS Genetics 2016)。これらの大腸癌の包括的遺伝子情報は、大腸癌に広く有効な分子標的治療薬の開発において極めて重要である。上記のオミックス解析により、大腸癌に広く存在する発癌関連ゲノム変化として、7p および 13q のコピー数の増幅を見出した。これらの結果から、7p および 13q に、大腸癌の発癌や進展に関与するがん遺伝子が存在することが強く示唆される。これらの遺伝子は DNA コピー数が増幅し、過剰発現することにより gain of function を生じて癌化に関与していることが推定される。Gain of function に対する治療は、中和抗体等による制御が有効であり、新規の分子標的治療薬の開発の観点から、過剰発現による gain of function を示すがん遺伝子を同定することは極めて重要である。

2. 研究の目的

本邦で急増する大腸癌の治療成績の向上には、汎用性が高くかつ副作用の少ない分子標的治療の開発が必要である。申請者らは、大腸癌組織を用いたオミックス解析により、大腸癌に広く存在する発癌関連ゲノム変化として、7 番染色体短腕(7p) および 13 番染色体長腕(13q) のコピー数の増幅を見出した。本研究では、7p および 13q に存在する遺伝子の中から、大腸癌の発癌や進展に関与するドライバー遺伝子(がん遺伝子)を同定し、その分子メカニズムを詳細に解明する。

3. 研究の方法

(1) 7p 及び 13q に存在するがん遺伝子候補の抽出

TCGA 等の公共データベース及び当科が所有する多数の大腸癌臨床検体を用いて Bioinformatics により 7p および 13q に存在するがん遺伝子候補を抽出する。さらに、その遺伝子発現ベクターを作成する。

(2) がん遺伝子候補強制発現ヒト大腸癌細胞株の樹立

(1) で抽出したがん遺伝子候補のウイルス発現ベクターを作成し、がん遺伝子候補強制発現大腸癌細胞株を樹立する。

(3) in vitro におけるがん遺伝子候補強制発現大腸癌細胞の表現型の評価

増殖能、浸潤能、造腫瘍能、上皮間葉系移行(EMT)を評価する。

(4) がん遺伝子候補強制発現大腸癌細胞による免疫不全担癌マウスの作成および癌進展の評価

皮下腫瘍モデルにより造腫瘍能を評価する。また脾臓注入による肝転移モデルにより転移能を評価する。以上の解析により、がん遺伝子を同定する。

(5) 同定したがん遺伝子の発癌、癌進展に関与する分子メカニズムの解明

同定したがん遺伝子による発癌や癌進展のメカニズムを分子生物学的手法により解明する。

4. 研究成果

本研究により、我々は 7p 及び 13q に存在する、がん治療を困難としているがんの多様性に影響を受けない有効な治療標的となりうる新規がん遺伝子として 5MP1、PSPH、CRAG、DDX56、BEN その他を同定した。現在それら遺伝子を標的とする治療薬（化合物）の開発を試みている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 14 件）

1. Sato K, Masuda T, Hu Q, Tobo T, S Gillaspie, Niida A, M Thornton, Kuroda Y, Eguchi H, Nakagawa T, Asano K, Mimori K. Novel oncogene 5MP1 reprograms c-Myc translation initiation to drive malignant phenotypes in colorectal cancer. *EBioM*. 2019. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.05.058.
2. Shimizu D, Masuda T, Sato K, Tsuruda Y, Otsu H, Kuroda Y, Eguchi H, Kodera Y, Mimori K. CRMP5-associated GTPase (*CRAG*) Is a Candidate Driver Gene for Colorectal Cancer Carcinogenesis. *Anticancer Res*. 39(1):99-106. 2019. doi: 10.21873/anticancer.13084.
3. Sato K, Niida A, Masuda T, Shimizu D, Tobo T, Kuroda Y, Eguchi H, Nakagawa T, Suzuki Y, Mimori K. Multiregion Genomic Analysis of Serially Transplanted Patient-derived Xenograft Tumors. *Cancer Genomics Proteomics*. 16(1):21-27. 2019. doi: 10.21873/cgp.20109.
4. Sugimachi K, Sakimura S, Kuramitsu S, Hirata H, Niida A, Iguchi T, Eguchi H, Masuda T, Morita M, Toh Y, Maehara Y, Suzuki Y, Mimori K. Serial mutational tracking in surgically resected locally advanced colorectal cancer with neoadjuvant chemotherapy. *Br J Cancer*. 119(4):419-423. 2018. doi: 10.1038/s41416-018-0208-5.
5. Masuda T, Shinden Y, Noda M, Ueo H, Hu Q, Yoshikawa Y, Tsuruda Y, Kuroda Y, Ito S, Eguchi H, Ohno S, Mimori K. Circulating Pre-microRNA-488 in Peripheral Blood Is a Potential Biomarker for Predicting Recurrence in Breast Cancer. *Anticancer Res*. 38(8):4515-4523. 2018. doi: 10.21873/anticancer.12755.
6. Saito T, Niida A, Uchi R, Hirata H, Komatsu H, Sakimura S, Hayashi S, Nambara S, Kuroda Y, Ito S, Eguchi H, Masuda T, Sugimachi K, Tobo T, Nishida H, Daa T, Chiba K, Shiraiishi Y, Yoshizato T, Kodama M, Okimoto T, Mizukami K, Ogawa R, Okamoto K, Shuto M, Fukuda K, Matsui Y, Shimamura T, Hasegawa T, Doki Y, Nagayama S, Yamada K, Kato M, Shibata T, Mori M, Aburatani H, Murakami K, Suzuki Y, Ogawa S, Miyano S, Mimori K. A temporal shift of the evolutionary principle shaping intratumor heterogeneity in colorectal cancer. *Nat Commun*. 9(1):2884. 2018. doi: 10.1038/s41467-018-05226-0.
7. Nambara S, Masuda T, Nishio M, Kuramitsu S, Tobo T, Ogawa Y, Hu Q, Iguchi T, Kuroda Y, Ito S, Eguchi H, Sugimachi K, Saeki H, Oki E, Maehara Y, Suzuki A, Mimori K. Antitumor effects of the antiparasitic agent ivermectin via inhibition of Yes-associated protein 1 expression in gastric cancer. *Oncotarget*. 8(64):107666-107677. 2017. doi: 10.18632/oncotarget.22587.
8. Hu Q, Masuda T, Sato K, Tobo T, Nambara S, Kidogami S, Hayashi N, Kuroda Y, Ito S, Eguchi H, Saeki H, Oki E, Maehara Y, Mimori K. Identification of ARL4C as a Peritoneal Dissemination-Associated Gene and Its Clinical Significance in Gastric Cancer. *Ann Surg Oncol*. 25(3):745-753. 2018. doi: 10.1245/s10434-017-6292-6.

9. Takano Y, Masuda T, Inuma H, Yamaguchi R, Sato K, Tobo T, Hirata H, Kuroda Y, Nambara S, Hayashi N, Iguchi T, Ito S, Eguchi H, Ochiya T, Yanaga K, Miyano S, Mimori K. Circulating exosomal microRNA-203 is associated with metastasis possibly via inducing tumor-associated macrophages in colorectal cancer. *Oncotarget*. 8(45):78598-78613. 2017. doi: 10.18632/oncotarget.20009.
10. Masuda T, Hayashi N, Kuroda Y, Ito S, Eguchi H, Mimori K. MicroRNAs as Biomarkers in Colorectal Cancer. *Cancers (Basel)*. 9(9). pii: E124. 2017. doi: 10.3390/cancers9090124.
11. Sato K, Masuda T, Hu Q, Tobo T, Kidogami S, Ogawa Y, Saito T, Nambara S, Komatsu H, Hirata H, Sakimura S, Uchi R, Hayashi N, Iguchi T, Eguchi H, Ito S, Nakagawa T, Mimori K. Phosphoserine Phosphatase Is a Novel Prognostic Biomarker on Chromosome 7 in Colorectal Cancer. *Anticancer Res*. 37(5):2365-2371. 2017.
12. Komatsu H, Masuda T, Iguchi T, Nambara S, Sato K, Hu Q, Hirata H, Ito S, Eguchi H, Sugimachi K, Eguchi H, Doki Y, Mori M, Mimori K. Clinical Significance of *FANCD2* Gene Expression and its Association with Tumor Progression in Hepatocellular Carcinoma. *Anticancer Res*. 37(3):1083-1090. 2017.
13. Iguchi T, Nambara S, Masuda T, Komatsu H, Ueda M, Kidogami S, Ogawa Y, Hu Q, Sato K, Saito T, Hirata H, Sakimura S, Uchi R, Hayashi N, Ito S, Eguchi H, Sugimachi K, Maehara Y, Mimori K. miR-146a Polymorphism (rs2910164) Predicts Colorectal Cancer Patients' Susceptibility to Liver Metastasis. *PLoS One*. 11(11):e0165912. 2016. doi: 10.1371/journal.pone.0165912.

〔学会発表〕（計 21 件）

1. Takaaki Masuda, “DNA binding region” of BRCA1 affects genetic stability through modulating the intra-S-phase checkpoint. AACR Annual Meeting. 2016.4.19 New Orleans.
2. 増田隆明、胡慶江、木戸上真也、南原翔、小松久晃、上田正射、林直樹、井口友宏、江口英利、伊藤修平、中山敬一、三森功士. がん転移における前転移ニッチ形成の機序解明とその阻害剤プロパゲルマニウムの転移制御剤としての臨床応用への展開. 第116回日本外科学会. 2016.4.14 大阪
3. 江口英利、増田隆明、胡慶江、木戸上真也、南原翔、小松久晃、林直樹、井口友宏、伊藤修平、三森功士. 大腸癌における7番染色体上のドライバー遺伝子の同定. 第71回日本消化器外科学会. 2016.7.20 徳島
4. 増田隆明、胡慶江、木戸上真也、南原翔、小松久晃、林直樹、井口友宏、伊藤修平、江口英利、三森功士. 数理生物統合解析による大腸癌のドライバー遺伝子 BZW2 の同定とその臨床学的意義. 第71回日本消化器外科学会. 2016.7.20 徳島
5. 佐藤晋彰、胡慶江、木戸上真也、齋藤衆子、南原翔、小松久晃、平田秀成、崎村正太郎、黒田陽介、伊藤修平、江口英利、増田隆明、三森功士. PSPH は7番染色体上に存在する大腸癌の新規ドライバー候補遺伝子である. 第75回日本癌学会学術集会. 2016.10.7 横浜
6. 増田隆明、野田美和、吉川幸宏、木戸上真也、胡慶江、南原翔、林直樹、黒田陽介、伊藤修平、江口英利、三森功士. 大腸がんゲノムデータに基づいた多様性克服のための戦略. 第117回日本外科学会定期学術集会. 2017.4.27 横浜

7. 南原翔、増田隆明、吉川幸宏、野田美和、胡慶江、木戸上真也、林直樹、黒田陽介、伊藤修平、江口英利、杉町圭史、前原喜彦、三森功士. 大腸癌における7番染色体長腕に存在する新たな癌遺伝子の同定とその臨床的意義. 第117回日本外科学会定期学術集会. 2017.4.27 横浜
8. 増田隆明、高野裕樹、飯沼久恵、胡慶江、南原翔、林直樹、黒田陽介、伊藤修平、江口英利、三森功士. 大腸がんにおける血漿中エクソソーム内 miR-203 発現の臨床的意義. 第72回日本消化器外科学会. 2017.7.20 金沢
9. 神山勇太、増田隆明、佐藤晋彰、胡慶江、齋藤衆子、林直樹、黒田陽介、伊藤修平、江口英利、工藤進英、三森功士. 大腸癌での染色体7pにおけるドライバー遺伝子 DDX56 の同定. 第76回日本癌学会学術総会. 2017.9.28 横浜
10. 増田隆明、高野裕樹、飯沼久恵、山口類、佐藤晋彰、林直樹、黒田陽介、伊藤修平、東保太郎、宮野悟、矢永勝彦、三森功士. 大腸がんにおいて血中エクソソーム内 miR-203 発現は転移と相関する. 第76回日本癌学会学術総会. 2017.9.29 横浜
11. 佐藤晋彰、増田隆明、胡慶江、齋藤衆子、脇山浩明、吉川幸宏、神山勇太、林直樹、黒田陽介、江口英利、伊藤修平、中川尚志、三森功士. BZW2 は7番染色体短腕上に存在する大腸癌の新規ドライバー遺伝子である. 第76回日本癌学会学術総会. 2017.9.29 横浜
12. 増田隆明、高野裕樹、飯沼久恵、倉光正太郎、藤井昌志、北川彰洋、清水大、野田美和、吉川幸宏、胡慶江、鶴田祐介、黒田陽介、江口英利、矢永勝彦、三森功士. 大腸癌の進展における microRNA-203 (miR-203) の局在依存的な相反する機能. 第118回日本外科学会定期学術集会. 2018.4.5 東京
13. 清水大、佐藤晋彰、伊藤修平、増田隆明、北川彰洋、倉光正太郎、添田祐治、藤井昌志、神山勇太、野田美和、吉川幸宏、脇山浩明、胡慶江、齋藤衆子、鶴田祐介、黒田陽介、江口英利、小寺泰弘、三森功士. 大腸癌における AGAP3 の分子生物学的意義の検討. 第118回日本外科学会定期学術集会. 2018.4.5 東京
14. 鶴田祐介、神山勇太、増田隆明、小川悠史、佐藤晋彰、胡慶江、野田美和、吉川幸宏、北川彰洋、藤井昌志、倉光正太郎、清水大、伊藤修平、江口英利、黒田陽介、三森功士. 7番染色体短腕(7p)に存在する大腸癌の新規ドライバー遺伝子 DDX56 の同定. 第118回日本外科学会定期学術集会. 2018.4.6 東京
15. 増田隆明、倉光正太郎、藤井昌志、北川彰洋、胡慶江、鶴田祐介、黒田陽介、伊藤修平、江口英利、三森功士. 7番染色体短腕(7p)に存在する大腸癌の新規ドライバー遺伝子 DEAD Box Helicase56(DDX56)の同定. 第73回日本消化器外科学会総会. 2018.7.13 鹿児島
16. 胡慶江、増田隆明、倉光正太郎、鶴田祐介、黒田陽介、伊藤修平、江口英利、沖英次、前原喜彦、三森功士. 新規癌遺伝子 oxysterol binding protein like 3(OSBPL3)の大腸癌における臨床的意義. 第73回日本消化器外科学会総会. 2018.7.13 鹿児島
17. 佐藤晋彰、増田隆明、胡慶江、齋藤衆子、脇山浩明、吉川幸宏、神山勇太、野田美和、黒田陽介、江口英利、中川尚志、三森功士. eIF5 Mimic Protein 1(5MP1)は MYC の翻訳開始点をリプログラムし大腸癌の悪性化を促進する. 第77回日本癌学会学術総会. 2018.9.29 大阪
18. 江口英利、胡慶江、増田隆明、清水大、藤井昌志、野田美和、神山勇太、吉川幸宏、脇山浩明、佐藤晋彰、鶴田祐介、黒田陽介、三森功士. 大腸癌における oxysterol binding

- protein like 3(OSBPL3)の臨床的意義. 第 77 回日本癌学会学術総会. 2018.9.29 大阪
19. 黒田陽介、神山勇太、増田隆明、野田美和、吉川幸宏、佐藤晋彰、清水大、鶴田祐介、大津甫、江口英利、三森功士. 大腸癌において7番染色体短腕の DEAD-Box Helicase56 の増幅が癌化に影響するスプライシング異常を誘導する. 第 77 回日本癌学会学術総会. 2018.9.28 大阪
 20. 南原翔、増田隆明、佐藤晋彰、黒田陽介、江口英利、三森功士. 7 番染色体上遺伝子 GTF2IRD1 は大腸癌において細胞周期を促進し予後不良に関わる. 第 77 回日本癌学会学術総会. 2018.9.27 大阪
 21. 佐藤晋彰、増田隆明、大津甫、鶴田祐介、江口英利、黒田陽介、三森功士. 大腸癌における新たながん遺伝子 5MP1 は MYC の翻訳リプログラミングを介して細胞増殖を促進する. 第 29 回日本消化器癌発生学会. 2018.11.17 東京

〔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:

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:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 三森功士

ローマ字氏名: Koshi Mimori

所属研究機関名: 九州大学

部局名: 大学病院

職名: 教授

研究者番号 (8 桁): 50322748

(2) 連携研究者

連携研究者氏名: 新井田厚司

ローマ字氏名: Atsushi Niida

連携研究者氏名: 鈴木 穰

ローマ字氏名: Yutaka Suzuki

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。