

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：基盤研究（A）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19209042
 研究課題名（和文） 消化器がん個別化医療実践への総合戦略
 研究課題名（英文） Synthetic strategy for clinical application of personalized medicine for gastrointestinal cancers
 研究代表者
 門田 守人（MONDEN MORITO）
 大阪大学・医学系研究科・教授
 研究者番号：00127309

研究成果の概要：本研究は、臨床試験と分子生物学的情報解析のスパイラル的發展を主軸とし、大規模消化器癌症例を対象に、癌組織の遺伝子・タンパク発現プロファイルとネットワーク解析により、癌の転移・再発、治療応答性の予測診断やバイオマーカーを探索し、個別医療として数年のうちに臨床応用化を実現することを目的とした。本研究により、癌の分子メカニズムの総合的理解が進み、画一的な治療を脱却し患者に過不足の少ない最適な医療を提供することが期待される。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	14,600,000	4,380,000	18,980,000
2008年度	15,500,000	4,650,000	20,150,000
年度			
年度			
年度			
総計	30,100,000	9,030,000	39,130,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科総論

キーワード：消化器がん、個別医療、DNAチップ、プロテオミクス、臨床応用、
 バイオマーカー、大規模症例登録、分子診断、

1. 研究開始当初の背景

(1) 我が国における癌の死亡者数は年々増加し、なかでも消化器癌はその55%を占めており、消化器癌の制圧を目的とした新しい診断・治療体系の確立が急務である。現行の臨床研究は evidence に基づく治療の標準化（EBM）に主眼がおかれ、その基礎となるRCTが重要な役割を果たしている。しかしRCTの結論は対象母集団全体に対する平均的治療効果の差をみるもので、患者治療間には少なからず質的交互作用があり、必ずしも特定の患者に対する最適指針を与えるものではない。また画一的なEBMは医療経済学的な問

題を孕む危険性も指摘されている。医療資源と患者の利益という観点より、EBMは標準化と個別化とのダイナミックな循環によって進められるべきである。消化器癌の多様性に対応した新しい個別化医療にまず必要なのは個性の診断であり、個々の症例の分子生物学的特徴を体系的に捉えることが最も有効な方法である。ヒトゲノムの完全解読に伴いDNA、RNA、タンパクなど各種の公共データベースが整理され、ゲノミクス、トランスクリプトミクス、プロテミクスなどオームクスが発展してきたことにより、癌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

パラダイムシフトを迎えようとしている。しかし、science と practice の間には依然として大きな乖離があり、未だに基礎研究の成果を臨床応用できる段階に到達していない。その理由として、これまでの基礎応用研究は retrospective study が主で prospective に計画されたものは皆無であること、対象が比較的少数症例であり臨床データが不足していることが挙げられる。個別化医療を実践するためには、大量均一の臨床症例を対象とした prospective な検証によって、臨床応用の可能性について evidence を示す必要がある。

ヒト全遺伝子解析が可能になり、解析手法も著しく進化したため、遺伝子単位のみならず体系的なシグナル解析、pathway 解析も可能となり、癌の質的診断におけるトランスクリプトミクスの重要性はさらに増している。しかし、高い精度で一部の転移予測診断は可能となったが、薬剤応答性予測など外的要因が影響を及ぼす検討項目に関しては遺伝子発現プロファイルだけでは臨床的に満足のいく結果が得られていない。個々の症例のこのような生物学的特徴を表現するには、生体形質に密接するタンパクの解析が重要である。タンパクは SNPs や遺伝子変異に対応し、リン酸化、糖鎖修飾など翻訳後修飾の解析も可能である。よって患者の臨床病理学的、遺伝的情報に蛋白質レベルの詳細な分子情報を加え、個々に対する最適な医療を明らかにすることを主眼とした疾患プロテオミクスの基盤整備が重要である。また、遺伝子とタンパクの発現・動態を比較することで、癌の発育・進展において共に大きく発現・変動する最重要責任分子をはじめて同定することが可能となる。今後は種々のオームクスの中でも解析基盤が最も整っている遺伝子とタンパクの発現相互ネットワークを明確にすることで、個々の病勢、治療応答性をよりの確に表現することが可能になると考えられる。

2. 研究の目的

(1) 本研究の目的は、これまでの病理組織診断では困難であった消化器癌の転移・再発や、治療応答性などに対する予測診断システムを確立し、外科腫瘍学における臨床診断・予後の改善を目指すことである。各種消化器癌における包括的な遺伝子・タンパク発現からみた個別化医療の臨床応用化を図る。すなわち今までに我々がヒト全遺伝子発現解析で得ている大腸癌：肝転移・再発予測、抗癌剤感受性予測、胃癌：腹膜播種・再発予測、抗癌剤感受性予測、食道癌：放射線化学療法感受性予測、肝細胞癌：再発・抗癌剤感受性予測の結果に、現在 prospective に集積している症例を用いて十分な validation を行い、臨床現場で応用しうる予測診断体制を確立

する。さらにそれぞれの予測診断結果を消化器癌ごとに臨床試験で検証する。例えば化学療法の実行をランダム割付する群と、感受性予測診断に基づき決定する群にわけ、その成績を比較するデザインなど各臓器の臨床的重要性に応じたデザインによって個別分子診断の有用性を検証する。

3. 研究の方法

(1) 本研究は、これまでに得られた癌の遺伝子・タンパクの各基礎的研究の成果を、大規模症例を対象にトランスレショナルリサーチの推進によって実践的な臨床癌治療への応用を目指したものであり、以下の点に重点を置いている。

基礎データの信頼性：感度と再現性に極めて優れ、ヒト全遺伝子に対して特異的配列をもった DNA チップ (30000 種類) を用い消化器癌の遺伝子発現を調べる。また従来の二次元電気泳動法に比べ、感度・汎用性の高い MALDI-TOF/MS(matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry) と安定同位体標識試薬 NBS(2-nitrobenzenesulfonyl)法を組合せ、ハウスキーピングタンパク質であるアルブミン等の影響を受けにくく定量性の高いプロテオミクス手法を用い消化器癌のタンパク発現を調べる。

臨床データの均一性と信頼性：関連病院との協力体制により、すでに確立されている multi-center 臨床検体収集システムを継続し、一定の外科治療方針とサンプリング手法により採取された 5000 例におよぶ消化器癌標本と、詳細かつ統一された臨床病理情報の集積に取り組んでいる。

解析手法の確立：本研究によって得られるデータの質・量は全世界中で未曾有のものである。得られた情報は公共データベースを基にネットワーク解析によって段階的に整理する。さらにスーパーコンピューターによる 10 億回以上のランダム組み合わせ検討

(supervised learning 法) と、独立した症例による十分な validation study を行なうことで、世界最高水準の遺伝子・タンパク発現解析研究となることが期待される。

臨床試験の実施：関連病院を含め、各病院の倫理委員会に試験デザインを申請し、臨床的効果の検証を行う。

4. 研究成果

(1) 大阪大学関連施設との共同研究による症例集積コンソーシアムにより約 4500 例の消化器癌組織と臨床情報が集積された。ヒト全遺伝子型 DNA チップによる遺伝子発現解析では、大腸癌 490 例、肝臓癌 170 例、胃癌 230 例、食道癌 100 例の発現プロファイルを取得した。network pathway 解析により大腸癌で

は根治切除後の異時性再発予測が 79%、肝臓癌では根治切除後の残肝早期再発予測が 78%、胃癌では根治切除後の腹膜再発予測が 75%、食道癌では生検材料よりリンパ節転移予測が 70%可能な遺伝子群の同定と予測判別式を構築した。大腸癌では特に悪性度関与する 150 種類の遺伝子群につき RT-PCR 法でデータの信頼性を実証し、それらの遺伝子を中心に搭載した廉価な臨床チップの開発により基礎的成果の臨床応用をすすめている。NBS 法によるタンパク発現解析では大腸癌 24 例、肝臓癌 10 例の NBS 解析により、大腸癌で特異的に発現する 38 種類のタンパクと、特に肝転移に関与する 15 種類にタンパクを同定した。また肝臓癌で特異的に発現する 57 種類のタンパクを同定し、それぞれについてウェスタンブロット法および免疫染色法でそれぞれデータの信頼性を実証した。さらに現在 GSEA(Gene Set Enrichment Analysis)法により遺伝子とタンパクで共通な発現動態をしめす分子について検証をすすめている。

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 10 件)

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.* 有 32(2) : 367-375, 2008.

Kittaka N., Takemasa I., Takeda Y., Marubashi S., Nagano H., Umeshita K., Dono K., Matsubara K., Matsuura N., Monden M.: Molecular mapping of human hepatocellular carcinoma provides deeper biological insight from genomic data.: *Eur J Cancer* 有 44 885-897, 2008.

Monden M.: Changing Society, Evolving Surgery.: *Surgery Today.*: 3 有 8:195-205, 2008

Takeo A., Takemasa I., Doki Y., Yamasaki M., Miyata H., Takiguchi S., Fujiwara Y., Matsubara K., Monden M.: Integrative approach for differentially overexpressed genes in gastric cancer by combining large-scale gene expression profiling and network analysis.: *Br J Cancer* 有 21(99) : 1307-1315, 2008.10.

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.* 有 2 925-935, 2008.

山本浩文、竹政伊知朗、池田正孝、関本真嗣、門田守人.: 転移因子を標的とした肝転移の治療戦略.: *癌の臨床* 無 54(3) : 169-174, 2008.

竹政伊知朗、池田正孝、山本浩文、関本真嗣、森正樹、門田守人.: 大腸癌の個別化医療に向けて.: *Frontiers in Gastroenterology* 無 13(3) : 224-231, 2008.

竹政伊知朗、池田正孝、山本浩文、関本真嗣、門田守人.: 遺伝子発現プロファイルによる消化器癌転移推測の可能性を探る.: *分子消化器病.*: 無 4(1) 35-40

竹野淳、竹政伊知朗、土岐祐一郎、藤原義之、門田守人.: 腹膜播種-予測診断-*日本臨床.*: 無 66(5) : 581-585, 2008

竹政伊知朗、岩本康男、濱田星紀、橋本博美、梅原 宜之、藤井洋平、堀次元気、桃井理紗.: 大腸癌術前 3D PET-CT 検査の有用性、方法、および画像解析法.: *GE Today* 無 23.: 37-42, 2007

[学会発表](計 16 件)

Takeo A., Motoori M., Takemasa I., Doki Y., Yamasaki M., Miyata H., Takiguchi S., Fujiwara Y., Matsubara K., Monden M.: Prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in ESCC(esophageal squamous cell carcinoma) using endoscopic biopsies.: 11th world congress of the international society for diseases of the esophagus.: 2008.9.10-13. (Budapest, Hungary)

Asaoka T., Marubashi S., Dono K., Hama N., Takahashi H., Kobayashi S., Takeda Y., Takemasa I., Nagano H., Umeshita K., Ruiz P., Matsubara K., Monden M., Doki Y., Mori M.: Gene Identification of Acute Cellular Rejection in Recipients with Recurrent Hepatitis C after Liver Transplantation.: *The Transplantation Society.*: 2008. 8.10-16. (Sydney)

Asaoka T., Marubashi S., Dono K., Hama N., Takahashi H., Kobayashi S., Takeda Y., Takemasa I., Nagano H., Umeshita K., Kato T., Ruiz P., Andreas GT., Monden

M.:Gene Identification of Acute Cellular Rejection in Recipients with Recurrent.:Hepatitis C after Liver Transplantation.:The 2008 Joint International Congress of ILTS, ELITA & LICAGE 2008.7.9-12.(Paris)

橘高信義、竹政伊知郎、武田裕、丸橋繁、永野浩昭、梅下浩司、堂野恵三、松原謙一、松浦成昭、門田守人、森正樹、土岐祐一郎.:Molecular mapping of human hepatocellular carcinoma to gain deeper biological insights from genomic deta.:第 67 回日本癌学会学術総 2008.10.28-30.(名古屋)

竹野淳、土岐祐一郎、竹政伊知郎、山崎誠、宮田博志、瀧口修司、藤原義之、門田守人.:胃癌原発巣の遺伝子発現プロファイルから見た転移再発形式の特徴とチロシンキナーゼの関連について.:第 17 回日本がん転移学会総会.:2008.7.24-25(鹿児島)

村上昌裕、永野浩昭、竹政伊知郎、野田剛広、吉岡慎一、小林省吾、丸橋繁、武田裕、堂野恵三、梅下浩司、松原謙一、門田守人.:クリプトーム解析診断による肝細胞癌切除後早期再発予測.:第 108 回日本外科学会定期学術集会 2008.5.15-17.(長崎)

徳岡優佳、竹政伊知郎、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.:2008.5.15-17(長崎)

徳岡優佳、三宅正和、竹政伊知郎、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.:2008.5.15-17(長崎)

橘高信義、竹政伊知郎、三宅正和、竹野淳、池田正孝、山本浩文、関本貢嗣、松原謙一、門田守人.:臨床型custom-made microarrayを用いた大腸癌異時性再発予測に関する検討.:第 108 回日本外科学会定期学術集会.:2008.5.15-17.(長崎)

竹野淳、竹政伊知郎、土岐祐一郎、山崎誠、木村豊、三木宏文、高地耕、藤谷和正、今村博司、本告正明、藤田淳也、飯島正平、丸山憲太郎、宮田博志、瀧口修司、藤原義之、松原謙一、門田守人.:網羅的遺伝子発現解析に基づく胃癌根治切除後異時性腹膜播種の予測診断と臨床応用への可能性.:第 108 回日本外科学会定期学術集会.:2008.5.15-17.(長崎)

土岐祐一郎、竹野淳、山崎誠、竹政伊知郎、藤原義之、瀧口修司、宮田博志、牧野知紀、西田俊朗、松原謙一、門田守人.:胃癌におけるチロシンキナーゼ包括的解析と

予後再発形式との関連についての検討.:第 108 回日本外科学会定期学術集会.:2008.5.15-17.(長崎)

竹野淳、竹政伊知郎、土岐祐一郎、山崎誠、宮田博志、瀧口修司、藤原義之、松原謙一、門田守人.:網羅的遺伝子発現解析とネットワーク解析にもとづく新規胃癌関連分子の探索.:第 80 回日本胃癌学会総会.:2008.2.27-29(横浜)

竹政伊知郎、渡辺真、三宅正和、徳岡優佳、人羅俊貴、池田正孝、山本浩文、関本貢嗣、松浦成昭、西村紀、永井克、門田守人.:NBS法を用いた新規プロテーム解析-大腸癌のタンパクプロファイル解析-.:第 18 回日本消化器癌発生学会総会.:2007.11.8-9(札幌)

山崎誠、土岐祐一郎、竹政伊知郎、藤原義之、瀧口修司、宮田博志、関本貢嗣、松原謙一、門田守人.:大腸癌肝転移形成過程における遺伝子発現プロファイル解析.:第 66 回日本癌学会学術総会.:2007.10.3-5(横浜)

竹野淳、竹政伊知郎、本告正明、山崎誠、木村豊、三木宏文、青木太郎、平尾素宏、今村博司、高地耕、藤田淳也、飯島正平、丸山憲太郎、飯島正平、丸山憲太郎、宮田博志、瀧口修司、藤原義之、土岐祐一郎、松原謙一、門田守人.:網羅的遺伝子発現解析による胃癌根治切除後の予後予測診断とその臨床応用.:第 107 回日本外科学会定期学術集会.:2007.4.11-14(大阪)

浅岡忠史、丸橋繁、堂野恵三、濱直樹、吉岡慎一、後藤邦仁、高橋秀典、宮本敦史、武田裕、竹政伊知郎、永野浩昭、梅下浩司、加藤友朗、Phillip Ruiz、Andreas Tzakis、松原謙一、門田守人.:肝移植後の急性拒絶に関する網羅的遺伝子発現解析.:第 107 回日本外科学会定期学術集会.:2007.4.11-13(大阪)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

門田 守人 (MONDEN MORITO)
大阪大学・医学系研究科・教授
研究者番号:00127309

(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
土岐 祐一郎 (DOKI YUICHIRO)
大阪大学・医学系研究科・教授
研究者番号:20291445
竹政 伊知郎 (TAKEMASA ICHIRO)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号:50379252

西村 紀 (NISHIMURA OSAMU)
大阪大学・蛋白質研究所・特任教授
研究者番号：10374125
堂野 恵三 (DONO KEIZO)
大阪大学・医学系研究科・講師
研究者番号：60283769