

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19390351

研究課題名 (和文) 消化器癌早期診断のためのエピジェネティックバイオマーカの開発

研究課題名 (英文) Development of epigenetic biomarker for early diagnosis of gastrointestinal cancer

研究代表者

松原 長秀 (MATSUBARA NAGAHIDE)

岡山大学・医学部・歯学部附属病院・助教

研究者番号：70314672

研究成果の概要：

日本人の死因における第一位が癌になって久しいが、癌の中では大腸癌が今や第一位とならんとしており、大腸癌はまさに国民病といって過言ではない。大腸癌は切除可能な時期に診断されれば、治癒する可能性の非常に高い癌である。従って大腸癌の激減をめざそうとすれば、癌の早期診断に勝るものは無い。しかし、現行の大腸癌検診の受診率は 18%にとどまり、要精検率は 7%前後、要精検者のうち大腸癌が見つかったのは約 2%にすぎない。我々は、簡便さを落とさず、癌由来の DNA を便中に検出するすぐれた方法を開発した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	7,600,000	2,280,000	9,880,000
2008 年度	6,900,000	2,070,000	8,970,000
年度			
年度			
年度			
総計	14,500,000	4,350,000	18,850,000

研究分野：消化器外科 分子生物学

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，スクリーニング，DNAメチル化，消化器癌，早期診断，epigenetic alteration

1. 研究開始当初の背景

我が国では大腸癌患者が急激に増加しており、年間死亡が約 4 万人で、ここ 1-2 年内にがん死亡の 1 位になることが予想されている。がんの罹患率と死亡率の激減を目指した「第 3 次

対がん 10 年総合戦略」が策定されたが、大腸癌死亡を下げる最も効果的な方法は的確なスクリーニング法の開発による早期（手術可能な状態での）発見に他ならない。現行の便潜血反応による大腸癌スクリーニング法は

感度が低く、便潜血反応陽性患者のうち大腸癌が発見されるのは極わずかであり、それが検診受診者数の少なさにつながっている可能性がある。従って精度の高いコストのかからない非侵襲性の診断法がすみやかに開発される必要性がある。

2. 研究の目的

これらの問題を解決する手段として、癌細胞由来DNAプロモーターのメチル化を新規のバイオマーカーとする、便および体液を材料にした消化器癌の画期的な診断法を確立することにある。さらに本法は腫瘍の性格診断、治療効果の判定等への応用をはかり、安価で実用的で最も実利性のある臨床手段としての意義を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

便DNA診断に関して5つのマーカーからなる第一世代診断法を完成させた(PCT特許出願)。また少量の便からメチル化を検出する簡便かつ効率的な方法を発明した(PCT特許出願)。マーカーに関しては、多数の大腸癌関連遺伝子のプロモーターのメチル化を解析し、大腸癌のみならず大型のポリープを検出可能なマーカーを検索した。

4. 研究成果

メチル化の検出方法としてはmethylation specific PCR (MSP)を改良し、internal controlをもうけたMSSP法を完成させた。マーカーは同一遺伝子プロモーター上で、ポリープから癌になるにつれ、メチル化されたCpGアイランドが広がってくることを考慮して、同一遺伝子上に2つのマーカーを設定した。これにより、早期病変か進行病変のある程度の判断が可能となった。

一方、本法は今後需要の急激に増加すると思われる大腸内視鏡によるスクリーニングをい

かに効率よく行うか、つまりリスクの高い個人と、低い個人の選別にも有用で、まず大腸癌が、前駆病変も含めてないだろう、従って内視鏡検査を省いて良いだろうとの判断にも非常に有用であることが解った。

一方、胃癌についても便中のDNAの検出により診断可能なことが解った。膀胱癌に関してもマーカーの絞り込みがなされ、今後診断方法が開発される可能性が明確となった。

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10件)

1. Takeshi Nagasaka, Minoru Koi, Matthias Kloor, Johannes Gebert, Alex Vilkin, Naoshi Nishida, Sung Kwan Shin, Hiromi Sasamoto, Noriaki Tanaka, Nagahide Matsubara, C. Richard Boland, and Ajay Goel: Mutations in both *KRAS* and *BRAF* contribute to the methylator phenotype in colon cancer. **Gastroenterology** 134: 1950-1960 (2008) (査読有り)
2. Takeshi Nagasaka, Ajay Goel, Kenji Notohara, Takaomi Takahata, Hiromi Sasamoto, Takuyuki Uchida, Naoshi Nishida, Noriaki Tanaka, C. Richard Boland, Nagahide Matsubara: Methylation pattern of the O6-methylguanine-DNA methyltransferase gene in colon during progressive colorectal tumorigenesis. **Int. J. Cancer** 122: 2429-2436 (2008) (査読有り)
3. 松原長秀: リンチ症候群screening上の課題 家族性腫瘍 8:58-60 (2008) (査読有り)
4. Sung Kwan Shin, Takeshi Nagasaka, Barbara H. Jung, Nagahide Matsubara, Won

- Ho Kim, John M. Carethers, C. Richard Boland, and Ajay Goel: Epigenetic and Genetic Alterations in Netrin-1 Receptors UNC5C and DCC in Human Colon Cancer. **Gastroenterology** 133:1849-1857 (2007) (査読有り)
5. Matsumoto, Y., Nagasaka, T., Kambara, T., Hoshizima, N., Murakami, J., Sasamoto, H., Hosokawa, M., Naomoto, Y., Isozaki, H., Shimizu, K., Tanaka, N., Matsubara, N.: Microsatellite instability and clinicopathological features in esophageal squamous cell cancer. **Oncol. Rep.** 18, 1123-1127 (2007) (査読有り)
 6. Murakami J, Lee YJ, Kokeguchi S, Tsujigiwa H, Asaumi J, Nagatsuka H, Fukui K, Kuroda M, Tanaka N, Matsubara N: Depletion of O6-methylguanine-DNA methyltransferase by O6-benzylguanine enhances 5-FU cytotoxicity in colon and oral cancer cell lines. **Oncol. Rep.** 17(6):1461-1467 (2007) (査読有り)
 7. Kimura, K., Nagasaka, T., Sasamoto, H., Notohara, K., Takeda, M., Komnami, K., Ishii, T., Tanaka, N., Matsubara, N.: No duplicate *KRAS* mutation is identified on the same allele of gastric or colorectal cancer cells with multiple *KRAS* mutations. **J. Int. Med. Res.** 35, 450-457 (2007) (査読有り)
 8. Ishii, T., Murakami, J., Notohara, K., Cullings, H. M., Sasamoto, H., Kambara, T., Shirakawa, Y., Naomoto, Y., Ouchida, M., Shimizu, K., Tanaka, N., Jass, J. R., Matsubara, N.: Oesophageal squamous cell cancer may develop within a background of accumulating DNA methylation in normal and dysplastic mucosa. **Gut** 56, 13-19 (2007). [Doi:10.1136/gut.2005.089813] (査読有り)
 9. 松原長秀: 便中DNAによる大腸癌発見法 (1週1話) 医事新報 4326:85 (2007) (査読有り)
 10. 松原長秀、永坂岳司、田中紀章: リンチ症候群のリクルートにおける病理組織・免疫染色・MSIテスト・somatic遺伝子検査の意義 家族性腫瘍 7: 11-14 (2007) (査読有り)
- [学会発表] (計 10 件)
1. (パネルディスカッション)松原長秀、永坂岳司、近藤喜太、田中紀章: 大腸癌の epigenetic 変異をコントロールする パスウェイとこれに基づく亜分類の診断・治療への応用 第 63 回日本大腸肛門病学会学術集会 2008 年 10 月 17、18 日 ホテル日航東京
 2. (Workshop) Nagahide Matsubara, Yoshitaka Kondo, Naoya Kobayashi, Noriaki Tanaka: Does laparoscopic surgery for colorectal cancer really contribute a lot to the post-operative patient's life? 11th World Congress of Endoscopic Surgery September 2-5, 2008 Yokohama, Japan
 3. (ミニシンポジウム) 松原長秀、長尾厚樹、神原健、田中紀章: 大腸癌鋸歯状病変よりの発癌機構と大腸癌に於ける位置づけ 第 19 回日本消化器癌発生学会総会 2008 年 8 月 28、29 日 別府亀の井ホテル
 4. (ワークショップ)松原長秀、永坂岳司、内田卓之、笹本博美、戸田桂介、谷口信将、

- 岡哲弘、田中紀章：大腸癌の前癌病変を含めた早期診断法の確立とtranslational researchへの問題点 第63回日本消化器外科学会総会 2008年7月16-18日札幌
5. (シンポジウム)松原長秀、永坂岳司、田中紀章：便中DNAによる大腸癌発見法 第14回日本家族性腫瘍学会学術集会 2008年6月20, 21日 国立がんセンター 東京
6. 松原長秀、長尾厚樹、神原健、田中紀章：大腸鋸歯状ポリープよりの発癌機構とその病変の大腸癌における位置づけ 第88回日本消化器病学会中国支部例会 平成19年12月1-2日岡山コンベンションセンター 岡山
7. 松原長秀、永坂岳司、神原健、田中紀章：リンチ症候群の大腸癌におけるepigeneticの関与 第45回日本癌治療学会総会 平成19年10月24-26日 京都
8. (Symposia, International Sessions): Nagahide Matsubara: Genetic and epigenetic alterations in Lynch syndrome and sporadic colorectal cancers. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. Yokohama, October 3-5, 2007.
9. 松原長秀、永坂岳司、能登原憲司、笹本博美、田中紀章：HNPCC screening上の課題：シンポジウム [家族性腫瘍-基礎と臨床] 第13回日本家族性腫瘍学会 平成19年6月15-16日 高知
10. Nagahide Matsubara, Noriaki Tanaka: Multimodal treatment for rectal cancer. Symposium: Current topics of the surgical treatment for rectal cancer. The International College of Surgeons. 17th Joint Congress of Asia & Pacific Federations & 53rd Annual Congress of

the Japanese Section. June 9-10, 2007. Westin Miyako Hotel Kyoto, Kyoto, Japan.

[図書] (計1件)

1. 松原長秀：大腸鋸歯病変の分子生物学的特徴 大腸疾患 NOW2008 武藤徹一郎監修 杉原健一・藤盛孝博・五十嵐正広・渡邊聡明編集 日本メディカルセンター

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

1. メチル化核酸又は非メチル化核酸を増幅する方法、発明者；永坂岳司、松原長秀、田中紀章、権利者；岡山大学、特願2007-153086、出願年月日；2007/06/08、日本国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松原 長秀 (MATSUBARA NAGAHIDE)
岡山大学・医学部・歯学部附属病院・助教
研究者番号：70314672

(2) 研究分担者

田中 紀章 (TANAKA NORIAKI)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：10127566

清水 憲二 (SHIMIZU KENJI)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：10037286

永坂 岳司 (NAGASAKA TAKESHI)
岡山大学・医学部・歯学部附属病院・助教
研究者番号：30452569

(3) 連携研究者

なし