

科学研究費補助金研究成果報告書

平成24年5月31日現在

機関番号：17501

研究種目：新学術領域研究（研究課題提案型）

研究期間：2009～2011

課題番号：21200001

研究課題名（和文） 抗がん剤感受性に関わるゲノム異常の同定

研究課題名（英文） Identification of genomic aberrations responsible for chemosensitivity of anti-cancer drugs

研究代表者

守山 正胤（MORIYAMA MASATSUGU）

大分大学・医学部・教授

研究者番号：90239707

研究成果の概要（和文）：

胃癌、腎癌、大腸癌のゲノム異常解析（ゲノムコピー数異常解析、mRNA発現解析、microRNA発現解析）を行い、それらのデータをバイオインフォマティクスにより解析することによって、1）miR-375が胃癌の癌抑制microRNAであることを発見した。2）腎癌においてmiR-210が発現亢進することでaneuploidyをもたらすことを発見した。3）SAV1が腎癌の癌抑制遺伝子であることを発見した。

研究成果の概要（英文）：We analyzed genomic aberrations (gene copy number aberrations, aberrant expressions of mRNA and microRNA) of gastric carcinomas, renal cell carcinomas and colon carcinomas using microarray. Our study revealed that 1) miR-375 is a tumor suppressor microRNA of gastric carcinoma; 2) Upregulated miR-210 in renal cell carcinomas brought about aneuploidy to carcinoma cells; and 3) Sav1 gene is a tumor suppressor gene of renal cell carcinoma.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	8,200,000	2,460,000	10,660,000
2010年度	7,600,000	2,280,000	9,880,000
2011年度	7,600,000	2,280,000	9,880,000
年度			
年度			
総計	23,400,000	7,020,000	30,420,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ゲノム化学・ゲノム情報科学

キーワード：バイオインフォマティクス・アレイ CGH・メチル化・トランスクリプトーム・microRNA・抗がん剤感受性・がん化学療法

1. 研究開始当初の背景

がんのゲノム異常には、1）ゲノムコピー数異常解析（アレイCGH法）、2）mRNA発現異常（トランスクリプトーム解析）、3）ゲノムの異常メチル化、4）蛋白質をコードしていない小さなRNA（microRNA）の発現異常など多くのパラメーターが存在し、それぞれの網

羅的解析がおこなわれている。このように個々の症例のゲノム異常の解析が複数のパラメーターで評価されるようになってきており、研究が複雑化してきている。つまり、これらの複数のデータを統合して評価するシステムの必要性が高まっている。

2. 研究の目的

我々はこれまでの研究を進展させ、胃がん、大腸がん、肺がん、腎がんの抗がん剤感受性に関わるゲノム異常を特定したいと考えた。そのためには同一症例に関して、**1) ゲノムコピー数異常解析 (アレイ CGH 法)、2) mRNA 発現異常 (トランスクリプトーム解析)、3) ゲノムの異常メチル化や、4) microRNA の発現異常**をすべて解析し、かつそれらのデータを統合して効率的に解析することが必要である。したがって、本研究では第一に、がん組織から抽出されたゲノム DNA ならびに RNA をアレイ CGH 解析、メチル化ゲノムの網羅的解析、トランスクリプトーム解析および microRNA の網羅的解析を行う。第二に、これらの異なる性質の多チャンネル網羅的遺伝情報 (アレイ CGH データ、メチル化データ、mRNA 発現データ、microRNA 発現データ) を統合し、情報のエンリッチメントができるバイオインフォマティクス手法を開発する。第三に、これらの統合されたゲノムデータを臨床データと統合し、抗がん剤感受性に関わる責任遺伝子を同定する。

3. 研究の方法

胃がん、大腸がん、肺がんの凍結組織から Laser Captured Microdissection (LCM) を用いて顕微鏡下で癌組織のみを切り取り、ゲノム DNA を抽出して、1) ゲノムコピー数異常の解析 (アレイ CGH 解析)、2) ゲノムのメチル化を網羅的に解析する。また同様に、RNA を抽出して 3) mRNA、4) microRNA の発現を網羅的に解析する。それらの複合的網羅的遺伝情報を、バイオインフォマティクス法を用いたエンリッチメントにより統合してそれぞれのがんの治療標的となり得る遺伝子異常を同定し、それらの遺伝子の機能を解明する。

4. 研究成果

1) 近年、様々な癌腫の発生・進行にマイクロ RNA の異常発現が関わっていることが報告されている。私たちは世界に先駆けて胃癌におけるマイクロ RNA 発現を網羅的に解析し、異常発現するものを同定した。さらに、同定したマイクロ RNA の中でもっとも発現低下していた MicroRNA-375 については培養胃癌細胞株を用いた機能解析を行い、胃癌における癌抑制型マイクロ RNA 候補であることを世界で初めて報告した。

2) 進行胃癌におけるゲノムコピー数異常は我々を含む様々なグループにより解析されてきたが、胃癌の最も早期である粘膜内癌、さらに胃腺腫についてはほとんど明らかにされていない。我々は、Array Comparative Genomic Hybridization 法 (アレイ CGH 法)

により粘膜内癌、胃腺腫のゲノムコピー数を網羅的に解析することで、胃癌の発生時期に蓄積されるゲノム異常を同定した。さらに、すでに我々が報告していた進行胃癌におけるゲノムコピー数と比較することで、胃癌の進行時期に蓄積されるゲノム異常の同定に成功した。

3) 癌は進行に伴いゲノム異常が蓄積されることが知られているが、胃癌におけるゲノムコピー数異常が遺伝子発現にどのような影響を与えるか、明らかにされていない。我々は進行胃癌 30 症例についてゲノムコピー数と遺伝子発現を網羅的に解析し、ゲノム異常により異常発現する遺伝子を 125 個同定した。これらの遺伝子の中には 過去に癌との関連が報告されているものだけでなく、新規の癌関連候補遺伝子も含まれており、新規の治療候補であることを示した。

4) 粘膜下浸潤胃癌の粘膜内部分と粘膜下部分を別々に回収し、それぞれのゲノムコピー数異常を比較することで、粘膜浸潤の過程で付加されるゲノム異常の同定した。次に粘膜下浸潤胃癌のリンパ節転移がある症例とない症例のゲノム異常を比較することによって、早期のリンパ節転移に関わるゲノム異常を同定した。そして抽出されたゲノム異常領域を過去に報告した粘膜内癌と進行胃癌の結果と比較することによって、11q13, 11q14, 11q22, 14q32 の gain と 17q21 の amplification が胃癌の転移と関連することを発見した。

5) 腎がんのゲノムを網羅的に解析して、以下の知見を得た。1) 14q loss 領域にある遺伝子の発現を解析して、SAV1 遺伝子が 14q loss と関連して発現低下し、それが癌細胞のアポトーシスを抑制していること (BMC Cancer, 2011)、2) ccRCC における microRNA 発現プロファイルを解析して、miR-200c, -141 の発現低下により ZEB2 の発現が亢進し結果として E-cadherin が発現低下すること (J Pathol, 2008)、3) さらに ccRCC において miR-210 が発現亢進し、それが染色体の中心体増幅をもたらし、aneuploid cell の増加につながることを発見した (J Pathol, 2011)。

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 18 件)

① Integrated analysis of genetic and epigenetic alterations reveals CpG island methylator phenotype associated with distinct clinical characters of lung

adenocarcinoma.

Shinjo K, Okamoto Y, An B, Yokoyama T, Takeuchi I, Fujii M, Osada H, Usami N, Hasegawa Y, Ito H, Hida T, Fujimoto N, Kishimoto T, Sekido Y, Kondo Y.

Carcinogenesis. 2012 May 7. [Epub ahead of print]

② Pharmacokinetic parameters from 3-Tesla DCE-MRI as surrogate biomarkers of antitumor effects of bevacizumab plus FOLFIRI in colorectal cancer with liver metastasis.

Hirashima Y, Yamada Y, Tateishi U, Kato K, Miyake M, Horita Y, Akiyoshi K, Takashima A, Okita N, Takahari D, Nakajima T, Hamaguchi T, Shimada Y, Shirao K.

Int J Cancer. 2012 May 15;130(10):2359-65.

③ Genomic profiling of renal cell carcinoma in patients with end-stage renal disease.

Inoue T, Matsuura K, Yoshimoto T, Nguyen LT, Tsukamoto Y, Nakada C, Hijiya N, Narimatsu T, Nomura T, Sato F, Nagashima Y, Kashima K, Hatakeyama S, Ohyama C, Numakura K, Habuchi T, Nakagawa M, Seto M, Mimata H, Moriyama M.

Cancer Sci. 2012 Mar;103(3):569-76.

④ Downregulation of SAV1 plays a role in pathogenesis of high-grade clear cell renal cell carcinoma.

Matsuura K, Nakada C, Mashio M, Narimatsu T, Yoshimoto T, Tanigawa M, Tsukamoto Y, Hijiya N, Takeuchi I, Nomura T, Sato F, Mimata H, Seto M, Moriyama M.

BMC Cancer. 2011 Dec 20;11:523.

⑤ Identification of FOXO3 and PRDM1 as tumor-suppressor gene candidates in NK-cell neoplasms by genomic and functional analyses.

Karube K, Nakagawa M, Tsuzuki S, Takeuchi I, Honma K, Nakashima Y, Shimizu N, Ko YH, Morishima Y, Ohshima K, Nakamura S, Seto M.

Blood. 2011 Sep 22;118(12):3195-204.

⑥ A phase II study of biweekly mitomycin C and irinotecan combination therapy in patients with fluoropyrimidine-resistant advanced gastric cancer: a report from the Gastrointestinal Oncology Group of the Japan Clinical Oncology Group (JCOG0109-DI Trial).

Hamaguchi T, Shirao K, Ohtsu A, Hyodo I, Arai Y, Takiuchi H, Fujii H, Yoshida M, Saito H, Denda T, Koizumi W, Iwase H, Boku N; Gastrointestinal Oncology Study Group of Japan Clinical Oncology Group.

Gastric Cancer. 2011 Aug;14(3):226-33.

⑦ Aberrant DNA methylation status of endometriosis: epigenetics as the pathogenesis, biomarker and therapeutic target.

Nasu K, Kawano Y, Tsukamoto Y, Takano M, Takai N, Li H, Furukawa Y, Abe W, Moriyama M, Narahara H.

J Obstet Gynaecol Res. 2011 Jul;37(7):683-95.

⑧ Genomic profiling of submucosal-invasive gastric cancer by array-based comparative genomic hybridization.

Kuroda A, Tsukamoto Y, Nguyen LT, Noguchi T, Takeuchi I, Uchida M, Uchida T, Hijiya N, Nakada C, Okimoto T, Kodama M, Murakami K, Matsuura K, Seto M, Ito H, Fujioka T, Moriyama M.

PLoS One. 2011;6(7):e22313.

⑨ Overexpression of miR-210, a downstream target of HIF1 α , causes centrosome amplification in renal carcinoma cells.

Nakada C, Tsukamoto Y, Matsuura K, Nguyen TL, Hijiya N, Uchida T, Sato F, Mimata H, Seto M, Moriyama M.

J Pathol. 2011 Jun;224(2):280-8.

⑩ Novel target genes responsive to the anti-growth activity of triptolide in endometrial and ovarian cancer cells.

Li H, Takai N, Yuge A, Furukawa Y, Tsuno A, Tsukamoto Y, Kong S, Moriyama M, Narahara H.

Cancer Lett. 2010 Nov 28;297(2):198-206.

⑪ Vesicocutaneous fistula formation during treatment with sunitinib malate: Case report.

Watanabe K, Otsu S, Morinaga R, Kawano S, Hirashima Y, Sakashita H, Shirao K.

BMC Gastroenterol. 2010 Nov 1;10:128.

⑫ Second-line chemotherapy with irinotecan plus cisplatin after the failure of S-1 monotherapy for advanced gastric cancer.

Takahari D, Shimada Y, Takeshita S, Nishitani H, Takashima A, Okita N, Hirashima Y, Kato K, Hamaguchi T, Yamada Y, Shirao K.

Gastric Cancer. 2010 Aug;13(3):186-90.

⑬ Genomic profiling of gastric carcinoma in situ and adenomas by array-based comparative genomic hybridization.

Uchida M, Tsukamoto Y, Uchida T, Ishikawa Y, Nagai T, Hijiya N, Nguyen LT, Nakada C, Kuroda A, Okimoto T, Kodama M, Murakami K, Noguchi T, Matsuura K, Tanigawa M, Seto M, Ito H, Fujioka T, Takeuchi I, Moriyama M.

J Pathol. 2010 May;221(1):96-105.

⑭ MicroRNA-375 is downregulated in gastric carcinomas and regulates cell survival by targeting PDK1 and 14-3-3zeta. Tsukamoto Y, Nakada C, Noguchi T, Tanigawa M, Nguyen LT, Uchida T, Hijiya N, Matsuura K, Fujioka T, Seto M, Moriyama M. Cancer Res. 2010 Mar 15;70(6):2339-49.

⑮ Analysis of p53 mutations and the expression of p53 and p21WAF1/CIP1 protein in 15 cases of sebaceous carcinoma of the eyelid.

Kiyosaki K, Nakada C, Hijiya N, Tsukamoto Y, Matsuura K, Nakatsuka K, Daa T, Yokoyama S, Imaizumi M, Moriyama M.

Invest Ophthalmol Vis Sci. 2010 Jan;51(1):7-11.

⑯ Analysis of virulence factors of Helicobacter pylori isolated from a Vietnamese population.

Uchida T, Nguyen LT, Takayama A, Okimoto T, Kodama M, Murakami K, Matsuhisa T, Trinh TD, Ta L, Ho DQ, Hoang HH, Kishida T, Fujioka T, Moriyama M. Yamaoka Y.

BMC Microbiol. 2009 Aug 23;9:175.

⑰ The potential of copy number gains and losses, detected by array-based comparative genomic hybridization, for computational differential diagnosis of B-cell lymphomas and genetic regions involved in lymphomagenesis.

Takeuchi I., Tagawa H, Tsujikawa A, Nakagawa M, Katayama-Suguro M, Guo Y, Seto M.

Haematologica. 2009 Jan;94(1):61-9.

⑱ Array comparative genomic hybridization analysis of PTCL-U reveals a distinct subgroup with genetic alterations similar to lymphoma-type adult T-cell leukemia/lymphoma.

Nakagawa M, Nakagawa-Oshiro A, Karnan S, Tagawa H, Utsunomiya A, Nakamura S, Takeuchi I. Ohshima K, Seto M.

Clin Cancer Res. 2009 Jan 15;15(1):30-8.

竹内 一郎(TAKEUCHI ICHIRO)

名古屋工業大学・

工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号:40335146

(3)連携研究者

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

守山 正胤(MORIYAMA MASATSUGU)

大分大学・医学部・教授

研究者番号:90239707

(2)研究分担者

白尾 国昭(SHIRAO KUNIAKI)

大分大学・医学部・教授

研究者番号:10467996