

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月5日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21390178

研究課題名（和文） 肺癌・食道癌の迅速病態診断系の構築：未病・早期癌検出と悪性度評価による個別化治療

研究課題名（英文） Establishment of molecular pathological diagnosis of lung and esophageal cancers: Detection of precancerous region and early stage cancer and evaluation of their malignant level.

研究代表者

醍醐 弥太郎 (DAIGO YATARO)

滋賀医科大学・医学部・特任教授

研究者番号：30345029

研究成果の概要（和文）：

肺癌・食道癌の早期診断および疾患増悪を早期に感知する統合的分子病態診断系を開発し、それを迅速に癌予防・診断・治療へ応用することを目的として、網羅的遺伝子発現解析と数百例のがん組織の解析が可能な腫瘍組織マイクロアレイ、そして血清プロテオミクス解析により肺癌・食道癌の複数の血清診断バイオマーカーと予後予測バイオマーカー候補分子を同定した。さらに、複数のマーカーを組み合わせた新規診断システムの構築を行った。

研究成果の概要（英文）：

To establish integrated molecular pathological diagnosis system of lung and esophageal cancers applicable as prevention and early cancer detection biomarkers and molecular therapies, we performed gene expression profile analysis of archived lung and esophageal carcinomas. Through a subsequent systematic approach using tissue microarray covering hundreds of clinical cancers as well as proteomics approach, we have identified a set of molecules that are potentially promising candidates for the development of novel serum and/or prognostic biomarkers for lung and esophageal cancers. By combining these markers, we constructed new cancer diagnosis system.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	5,700,000	1,710,000	7,410,000
2010年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2011年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
年度			
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・病態検査学

キーワード：病態診断、個別化医療

1. 研究開始当初の背景

癌は依然として我が国で死亡原因第1位の疾患であるが、画期的な診断・治療法の開発による癌の制圧は、国民の保健、医療、福祉の向上のみならず、少子高齢化社会を迎える我が国においては国民の健康寿命の延長に

よる経済産業活力の維持向上のためにも急務である。とりわけ肺癌は悪性腫瘍による死亡数の第1位、食道癌は第8位で現在も増加中であり、壮年期に好発し早期発見が困難なこと、根治的手術による治療後も高率に再発し予後が不良であることから、より分子病態

に基づいた定量的な発症予防と早期診断、そして手術に加えた集学的治療（化学療法・放射線療法）の適切な選択指標となる診断法の開発が切望される。2005年、米国食品医薬局（FDA）が薬剤の開発・使用に際してバイオマーカーの活用を推奨したことに例示されるとおり、癌の診断・治療に応用可能なバイオマーカーは癌克服に向けた最有力の基盤資源と考えられており、その開発の国際競争は激化している。安定的な国民医療保険制度を維持し、国民の医療福祉を守るためにも、疾患関連遺伝子・蛋白研究を早急に推進し知的財産権を確保する必要が生じている。

2. 研究の目的

本研究では肺癌・食道癌の発症初期および疾患増悪を早期に感知する統合的病態診断系を開発し、その迅速な癌予防・診断・治療への展開による癌年齢層の健康寿命の延長をめざす。ゆえに本研究の目的は以下の3項目よりなる。

- (1) 肺癌・食道癌の未病状態および疾患発症を早期に感知する診断系の開発
- (2) 肺癌・食道癌の集学的治療適用の指標となる悪性度診断系の開発
- (3) 肺癌・食道癌の実用的な低侵襲迅速病態診断系の臨床展開による個別化医療の実現化

3. 研究の方法

臨床応用を含む社会還元を常に念頭に置きながら、ヒト腫瘍の診断・治療の標的分子となる候補バイオマーカー群の同定・ゲノム情報を含めた包括的データベース化、選別された複数のバイオマーカーの迅速病態診断法を確立する。生体試料のバンク化、実験設備、人材面での整備、各種腫瘍の遺伝子発現データベースの構築を踏まえ、本研究計画ではより利用目的の明確化されたバイオマーカー探索に最適の癌患者血清検体でのゲノム・プロテオーム解析情報と臨床情報の統合化（第1段階）と、候補マーカーの臨床病理学的評価（第2段階）、迅速病態診断システム構築（第3段階）の手順で進める。

4. 研究成果

バイオマーカー候補分子の同定を進めるとともに、複数のバイオマーカーを統合した新規診断システムの構築を行った。

- (1) ELISA法等を用いた肺癌・食道癌の迅速血清診断系の構築

血清バイオマーカー候補に対する抗体を用いたELISA法による肺癌の早期血清診断システムの構築を行い複数の新規血清診断マ

ーカーを同定した。さらに複数のマーカーを組み合わせて、最小のマーカー数で最大の感度・特異度を示す診断系を検討した。糖鎖プロテオミクス解析と血清ペプチドーム解析による肺癌患者血清中のタンパクを探索して複数の候補バイオマーカーを同定した。

- (2) 免疫組織学的マーカーによる肺癌・食道癌の迅速悪性度診断法の構築

組織染色マーカーについて腫瘍組織マイクロアレイ（肺、食道癌他）および正常組織マイクロアレイを使用し免疫組織染色を行い、蛋白発現レベルと臨床病理・予後情報との相関を検討し、複数の予後予測マーカーを同定した。さらに最小のマーカー数で定量的に癌の悪性度を予測する診断法を検討した。

- (3) 肺癌・食道癌の迅速病態診断系の構築と検証

上記の血清および免疫組織学的マーカーを各診断段階で有機的に使い分ける肺癌・食道癌の迅速病態診断系を検討した。

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20件）

- ① Koinuma J, Akiyama H, Fujita M, Hosokawa M, Tsuchiya E, Kondo S, Nakamura Y, Daigo Y. Characterization of an Opa interacting protein 5 involved in lung and esophageal carcinogenesis. *Cancer Sci* 103: 577-586, 2012. (査読有)
[DOI. 10.1111/j.1349-7006.2011.02167.x](https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2011.02167.x).
- ② Kato T, Daigo Y, Aragaki M, Ishikawa K, Sato M, Kaji M. Overexpression of CDC20 predicts poor prognosis in primary non-small cell lung cancer patients. *J Surg Oncol* 2012 Apr 4. [Epub ahead of print] (査読有)
[DOI. 10.1002/jso.23109](https://doi.org/10.1002/jso.23109).
- ③ Toyokawa G, Cho HS, Masuda K, Yamane Y, Yoshimatsu M, Hayami S, Takawa M, Iwai Y, Daigo Y, Tsuchiya E, Tsunoda T, Field HI, Kelly JD, Neal DE, Maehara Y, Ponder BA, Nakamura Y, Hamamoto R. Histone lysine methyltransferase Wolf-Hirschhorn syndrome candidate 1 is involved in human carcinogenesis through regulation of the Wnt pathway. *Neoplasia* 13: 887-898, 2011. (査読有)
- ④ Cho HS, Toyokawa G, Daigo Y, Hayami S, Masuda K, Ikawa N, Yamane Y, Maejima K, Tsunoda T, Field HI, Kelly JD, Neal DE, Ponder BA, Maehara Y, Nakamura Y, Hamamoto R. The JmjC domain-containing histone demethylase KDM3A is a positive regulator of the G(1)/S transition in

- cancer cells via transcriptional regulation of the HOXA1 gene. *Int J Cancer* 2011 Oct 23. [Epub ahead of print] (査読有)
- ⑤ Masuda K, Takano A, Oshita H, Akiyama H, Tsuchiya E, Kohno N, Nakamura Y, Daigo Y. Chondrolectin is a novel diagnostic biomarker and a therapeutic target for lung cancer. *Clin Cancer Res* 17:7712-7722, 2011. (査読有)
- ⑥ Nishino R, Takano A, Oshita H, Ishikawa N, Akiyama H, Ito H, Nakayama H, Miyagi Y, Tsuchiya E, Kohno N, Nakamura Y, Daigo Y. Identification of Epstein-Barr Virus-Induced Gene 3 as a Novel Serum and Tissue Biomarker and a Therapeutic Target for Lung Cancer. *Clin Cancer Res* 17: 6272-6286, 2011. (査読有)
- ⑦ Aragaki M, Takahashi K, Akiyama H, Tsuchiya E, Kondo S, Nakamura Y, Daigo Y. Characterization of a Cleavage Stimulation Factor, 3' pre-RNA, Subunit 2, 64kDa (CSTF2) as a Therapeutic Target for Lung Cancer. *Clin Cancer Res* 7:5889-5900, 2011. (査読有)
- ⑧ Kato T, Daigo Y, Aragaki M, Ishikawa K, Sato M, Kaji M. Overexpression of KIAA0101 predicts poor prognosis in primary lung cancer patients. *Lung Cancer* 2011 Jun 18. [Epub ahead of print] (査読有)
- ⑨ Toyokawa G, Masuda K, Daigo Y, Cho HS, Yoshimatsu M, Takawa M, Hayami S, Maejima K, Chino M, Field HI, Neal DE, Tsuchiya E, Ponder BA, Maehara Y, Nakamura Y, Hamamoto R. Minichromosome Maintenance Protein 7 is a potential therapeutic target in human cancer and a novel prognostic marker of non-small cell lung cancer. *Mol Cancer* 10: 65, 2011. (査読有)
- ⑩ Takawa M, Masuda K, Kunizaki M, Daigo Y, Takagi K, Iwai Y, Cho HS, Toyokawa G, Yamane Y, Maejima K, Field HI, Kobayashi T, Akasu T, Sugiyama M, Tsuchiya E, Atomi Y, Ponder BA, Nakamura Y, Hamamoto R. Validation of the histone methyltransferase EZH2 as a therapeutic target for various types of human cancer and as a prognostic marker. *Cancer Sci* 102: 1298-1305, 2011. DOI. 10.1111/j.1349-7006.2011.01958.x. (査読有)
- ⑪ Ueda K, Saichi N, Takami S, Kang D, Toyama A, Daigo Y, Ishikawa N, Kohno N, Tamura K, Shuin T, Nakayama M, Sato TA, Nakamura Y, Nakagawa H. A comprehensive peptidome profiling technology for the identification of early detection biomarkers for lung adenocarcinoma. *PLoS One* 6: e18567, 2011. (査読有)
- ⑫ Toyama A, Nakagawa H, Matsuda K, Ishikawa N, Kohno N, Daigo Y, Sato TA, Nakamura Y, Ueda K. Deglycosylation and label-free quantitative LC-MALDI MS applied to efficient serum biomarker discovery of lung cancer. *Proteome Sci* 9: 18, 2011. (査読有)
- ⑬ Kato T, Daigo Y, Aragaki M, Ishikawa K, Sato M, Kondo S, Kaji M. Overexpression of MAD2 predicts clinical outcome in primary lung cancer patients. *Lung Cancer* 74: 124-131. 2011. (査読有)
- ⑭ Tomita Y, Imai K, Senju S, Irie A, Inoue M, Hayashida Y, Shiraishi K, Mori T, Daigo Y, Tsunoda T, Ito T, Nomori H, Nakamura Y, Kohroggi H, Nishimura Y. A novel tumor-associated antigen, cell division cycle 45-like can induce cytotoxic T-lymphocytes reactive to tumor cells. *Cancer Sci* 102: 697-705, 2011. DOI. 10.1111/j.1349-7006.2011.01865.x. (査読有)
- ⑮ Miki D, Kubo M, Takahashi A, Yoon KA, Kim J, Lee GK, Zo JI, Lee JS, Hosono N, Morizono T, Tsunoda T, Kamatani N, Chayama K, Takahashi T, Inazawa J, Nakamura Y, Daigo Y. Variation in *TP63* is associated with lung adenocarcinoma susceptibility in Japanese and Korean populations. *Nature Genetics* 42: 893-896, 2010. (査読有)
- ⑯ Ueda K, Takami S, Saichi N, Daigo Y, Ishikawa N, Kohno N, Katsumata M, Yamane A, Ota M, Sato TA, Nakamura Y, Nakagawa H. Development of serum glycoproteomic profiling technique: simultaneous identification of glycosylation sites and site-specific quantification of glycan structure changes. *Mol Cell Proteomics* 9: 1819-1828, 2010. (査読有)
- ⑰ Sato N, Yamabuki T, Takano A, Koinuma J, Aragaki M, Masuda K, Ishikawa N, Kohno N, Ito H, Miyamoto M, Nakayama H, Miyagi Y, Tsuchiya E, Kondo S, Nakamura Y, Daigo Y. Wnt inhibitor Dickkopf-1 as a target for passive cancer immunotherapy. *Cancer Res* 70: 5326-5336, 2010. (査読有)
- ⑱ Nguyen MH, Koinuma J, Ueda K, Ito T, Tsuchiya E, Nakamura Y, Daigo Y. Phosphorylation and activation of cell division cycle associated 5 by mitogen-activated protein kinase play a crucial role in human lung carcinogenesis. *Cancer Res* 70: 5337-5347, 2010. (査読有)

- ⑱ Unoki M*, Daigo Y* (*equal contributors), Koinuma J, Tsuchiya E, Hamamoto R, Nakamura Y. UHRF1 is a novel diagnostic marker of lung cancer. Br J Cancer 103: 217-222, 2010. (査読有)
- ⑳ Sato N, Koinuma J, Ito T, Tsuchiya E, Kondo S, Nakamura Y, Daigo Y. Activation of an oncogenic TBC1D7 (TBC1 domain family, member 7) protein in pulmonary carcinogenesis. Genes Chromosomes Cancer 49: 353-367, 2010. (査読有)

[学会発表] (計 6 件)

- ① Yataro Daigo, Yusuke Nakamura. "VARIATION IN TP63 GENE CONFERS THE RISK OF LUNG ADENOCARCINOMA IN THE EAST ASIAN POPULATION." THE U. S. - JAPAN COOPERATIVE CANCER RESEARCH PROGRAM WORKSHOP: Cancer Genomics and Epigenomics: Towards personalized cancer medicine October, 2011 (Kyoto, Japan) (Symposium Session)
- ② Yataro Daigo, Yusuke Nakamura. "Genome-wide association study of lung cancer: Association of variation in TP63 with lung adenocarcinoma susceptibility" 日本癌学会第 70 回総会 2011 年 10 月 (名古屋) (Symposium Session)
- ③ Yataro Daigo, Yusuke Nakamura. "From Cancer Genomics to Medical Oncology: Novel Biomarker and Therapeutic Target Discovery for Lung and Esophageal Cancer." September, 2011 (Hiroshima, Japan) (Symposium Session)
- ④ Yataro Daigo, Yusuke Nakamura. "From Cancer Genomics to the Cancer Clinic: Novel Biomarker and Therapeutic Target Discovery for Lung and Esophageal Cancer." Cold Spring Harbor Asia Conference on Translational Approaches to Cancer May, 2011 (Suzhou, China) (Symposium Session)
- ⑤ Yataro Daigo, Yusuke Nakamura. "Nectin-4 cell-surface oncoprotein in serum and tumor tissue as a diagnostic and therapeutic target for lung cancer." American Association for Cancer Research 101st Annual Meeting April, 2010 (Washington D.C., USA) (Symposia)
- ⑥ Yataro Daigo "Recent Progress in Carcinogenesis, Progression and Therapy of Lung Cancer: Targeting molecular pathology of lung cancer: hope, promise, and progress." 19th International Symposium of the Hiroshima Cancer Seminar (HCS) November, 2009 (Hiroshima, Japan) (Invited Speaker)

[図書] (計 5 件)

- ① 醍醐弥太郎 カレントセラピー「分子腫瘍マーカー研究と遺伝子」VOL. 19 NO. 12 ライフメディコム社 2011 年□
- ② 醍醐弥太郎, 中村祐輔 呼吸器内科「遺伝子・蛋白質の網羅的発現情報解析による肺癌の個別化医療の開発」p246-54 科学評論社 2010 年
- ③ 醍醐弥太郎, 中村祐輔 分子呼吸器病「特集 呼吸器病学 TOPICS 2009: ゲノミクス解析による肺癌のバイオマーカー探索と臨床移行」VOL. 14 NO. 1 p50-3 先端医学社 2010 年
- ④ 醍醐弥太郎, 中村祐輔 最新医学「肺癌の分子マーカー」p100-10 最新医学社 2009 年
- ⑤ 醍醐弥太郎, 中村祐輔 肺癌「網羅的発現解析による肺癌の分子病態理解と新規治療標的分子の探索」p917-27 日本肺癌学会 2009 年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

醍醐 弥太郎 (DAIGO YATARO)

滋賀医科大学・医学部・特任教授

研究者番号：30345029

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：