

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 15 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591732

研究課題名（和文） 直腸癌の側方リンパ節転移のホップ遺伝子メチル化による検出と予測に関する検討

研究課題名（英文） DNA diagnosis of lateral lymph nodes of rectum by HOPX methylation

研究代表者

中村 隆俊（NAKAMURA TAKATOSHI）

北里大学・医学部・講師

研究者番号：10286304

研究成果の概要（和文）：

われわれは、大腸癌における HOPX メチル化を利用したリンパ節転移診断を企画した。特に直腸癌における HOPX メチル化の存在が予後にどのような影響をおよぼすかを検討した。検討にあたって、微小転移癌の存在にどの程度の確からしさがあるか微小 DNA 検出系を確立するべく検討する予定であった。大腸癌における HOPX メチル化は約 50%に認められるが、検出感度を求めてみると 500 分の 1 の感度であった。この場合の感度とはぎりぎりの感度で明らかにバンドが検出されるレベルとなると 100 分の 1 程度の感度であり微小転移検出にはふさわしくないレベルであることが判明した。さらに大腸癌の半数しかメチル化が存在しないことから、微小転移診断に対してのハードルとして次の 2 点に注目した。(1) 頻度のより高いメチル化遺伝子を同定し検討すること。(2) DNA抽出の質を上げることにより微小転移の検出率を上げること。さらに、(3) PCR 以外の新たな technology を用いて検出感度を上げることが重要であることが判明した。現在より高い頻度でメチル化がみられる CD01 について微小転移のマーカーとしての可能性を検討中であるが、CD01 は 90%以上の癌特異性を示すものの、血漿中 DNA はわずか 20%にしか検出されず微小転移検出の感度増大に向け更なる検討を要する段階にある。

研究成果の概要（英文）：

DNA diagnosis of colorectal cancer is now challenging to develop minimal residual disease of cancer. HOPX methylation could be detected in 1/500 of cancer cells, and, however, this would not be enough to detect minimal residual disease. In order to increase the sensitivity, exploration of better markers, improvement of DNA quality or other technology must be developed. We have not yet challenged the nested PCR may be promising for this purpose (DNA shortage makes us failure to continue this experminets). CD0-1 was such candidates, however even this novel candidates were only to detect at most 20% in plasma of CRC patients, and hardly found in metastatic lymph nodes. Still ongoing for further challenge to detect the minimal residual disease.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野： 医歯薬学

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・直腸

1. 研究開始当初の背景

癌の微小転移診断でより正確な診断ができれば予後の正確な把握も可能となる。

2. 研究の目的

われわれは、大腸癌における HOPX メチル化を利用したリンパ節転移診断を企画した。特に直腸癌における HOPX メチル化の存在が予後にどのような影響をおよぼすかを検討する予定であった。

3. 研究の方法

検討にあたって、微小転移癌の存在にどの程度の確からしさがあるか微小 DNA 検出系を確立するべく検討を行った。大腸癌における HOPX メチル化は約 50%に認められるが、検出感度を求めてみると 500 分の 1 の感度であった。

4. 研究成果

この場合の感度とはぎりぎりの感度で明らかにバンドが検出されるレベルとなると 100 分の 1 程度の感度であり微小転移検出にはふさわしくないレベルであることが判明した。さらに大腸癌の半数しかメチル化が存在しないことから、微小転移診断に対してのハードルとして次の 2 点に注目した。(1) 頻度のより高いメチル化遺伝子を同定し検討すること。(2) DNA 抽出の質を上げることにより微小転移の検出率を上げること。さらに、(3) PCR 以外の新たな technology を用いて検出感度を上げることが重要であることが判明した。

現在より高い頻度でメチル化がみられる CD01 について微小転移のマーカーとしての可能性を検討中であるが、CD01 は 90%以上の癌特異性を示すものの、血漿中 DNA はわずか 20%にしか検出されず微小転移検出の感度増大に向け更なる検討を要する段階にある。

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 11 件)

1: Nakamura T, Mitomi H, Onozato W, Sato T, Ikeda A, Naito M, Ogura N, Kamata H, Ooki A, Watanabe M. Laparoscopic resection of a gastrointestinal stromal tumor of the rectum after treatment with imatinib mesylate: report of a case. Surg Today. 2012 Jan-Feb; DOI:10.1007/s00595-012-0134-8

2: Nakamura T, Mitomi H, Onozato W, Sato T, Ikeda A, Naito M, Ogura N, Kamata H, Ooki A, Watanabe M. Short- and long-term outcomes of laparoscopic surgery in patients with pathological stage II and III colon cancer. Hepatogastroenterology. 2011 Nov-Dec;58(112):1947-50.

3: Katoh H, Yamashita K, Wang G, Sato T, Nakamura T, Watanabe M. Prognostic significance of preoperative bowel obstruction in stage III colorectal cancer. Ann Surg Oncol. 2011 Sep;18(9):2432-41.

4: Nakamura T, Mitomi H, Onozato W, Sato T, Ikeda A, Naito M, Ogura N, Kamata H, Ooki A, Watanabe M. Oncological outcomes of laparoscopic surgery in elderly patients with colon cancer: a comparison of patients 64 years or younger with those 75 years or older. Hepatogastroenterology. 2011 Jul-Aug;58(109):1200-4.

5: Tsutsui A, Nakamura T, Mitomi H, Onozato W, Sato T, Ozawa H, Naito M, Ikeda A, Ihara A, Watanabe M. Successful laparoscopic resection of a sacrococcygeal teratoma in an adult: report of a case. Surg Today. 2011 Apr;41(4):572-5.

6: Sato T, Ozawa H, Hatate K, Onosato W, Naito M, **Nakamura T**, Ihara A, Koizumi W, Hayakawa K, Okayasu I, Yamashita K, Watanabe M. A Phase II trial of neoadjuvant preoperative chemoradiotherapy with S-1 plus irinotecan and radiation in patients with locally advanced rectal cancer: clinical feasibility and response rate. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011 Mar 1; 79(3):677-83.

7: Katoh H, Yamashita K, Wang G, Sato T, **Nakamura T**, Watanabe M. Anastomotic leakage contributes to the risk for systemic recurrence in stage II colorectal cancer. *J Gastrointest Surg.* 2011 Jan;15(1):120-9.

8: Onozato W, Yamashita K, Yamashita K, Kuba T, Katoh H, **Nakamura T**, Sato T, Ihara A, Okayasu I, Watanabe M. Genetic alterations of K-ras may reflect prognosis in stage III colon cancer patients below 60 years of age. *J Surg Oncol.* 2011 Jan 1;103(1):25-33.

9: **Nakamura T**, Onozato W, Mitomi H, Sato T, Hatate K, Naito M, Ihara A, Watanabe M. Analysis of the risk factors for wound infection after surgical treatment of colorectal cancer: a matched case control study. *Hepatogastroenterology.* 2009 Sep-Oct;56(94-95):1316-20.

10: Katoh H, Yamashita K, Sato T, Ozawa H, **Nakamura T**, Watanabe M. Prognostic significance of peritoneal tumour cells identified at surgery for colorectal cancer. *Br J Surg.* 2009 Jul;96(7):769-77.

11: **Nakamura T**, Onozato W, Mitomi H, Naito M, Sato T, Ozawa H, Hatate K, Ihara A, Watanabe M. Retrospective, matched case-control study comparing the oncologic outcomes between laparoscopic surgery and open surgery in patients with right-sided colon cancer. *Surg Today.* 2009;39(12):1040-5.

〔学会発表〕 (計5件)

1. 内藤正規, 佐藤武郎, 池田篤, 小倉直人, 三浦啓寿, 筒井敦子, 原田宏輝, **中村隆俊**, 渡邊昌彦: 腹腔鏡下大腸癌手術における自動縫合器を用いたリンパ節郭清の妥当性の検討. 第49回日本癌治療学会学術集会, 2011年10月27日, 名古屋 (日本癌治療学会誌, 46巻2号: 569頁, 2011)
2. 三浦啓寿, **中村隆俊**, 筒井敦子, 小倉直人, 内藤正規, 池田篤, 佐藤武郎, 渡邊昌彦: 右側結腸切除におけるリンパ節郭清. 第17回神奈川大腸肛門手術手技研究会学術集会, 2011年6月1日, 横浜
3. 内藤正規, 佐藤武郎, 小澤平太, **中村隆俊**, 池田篤, 小野里航, 井原厚, 渡邊昌彦: 結腸癌における転移陽性リンパ節個数と予後の検討: 第72回大腸癌研究会, 2010年1月15日, 久留米 (日本大腸肛門病学会雑誌, 63巻7号:450頁, 2010.07)
4. **中村隆俊**, 小野里航, 井原厚, 佐藤武郎, 小澤平太, 旗手和彦, 内藤正規, 渡邊昌彦: 大腸 sm, mp 癌のリンパ節転移の危険因子および再発、予後の検討: 第64回日本大腸肛門病学会学術集会, 2009年11月6日, 福岡 (日本大腸肛門病学会雑誌, 62巻5号: 358頁, 2009.05)
5. 小野里航, **中村隆俊**, 内藤正規, 旗手和彦, 小澤平太, 佐藤武郎, 井原厚, 渡邊昌彦: 結腸癌の至適郭清範囲: 第64回日本消化器外科学会総会, 2009年7月16日, 大阪 (日本消化器外科学会雑誌, 42巻7号: 1058頁, 2009.07)

〔図書〕 (計0件)

〔産業財産権〕

- 出願状況 (計0件)
- 取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 隆俊 (NAKAMURA TAKATOSHI)

北里大学・医学部・講師

研究者番号：10286304