

## 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 25 年 4 月 30 日現在

機関番号：32713

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22501038

研究課題名（和文） ESD 症例より得た胃洗浄廃液は早期胃がんのメチル化マーカー探索を可能にする

研究課題名（英文） Clinical Application of DNA Methylation Analysis Using Gastric Washes as an ESD Treatment Marker for Early Gastric Cancer

研究代表者

渡邊嘉行（Yoshiyuki Watanabe）

聖マリアンナ医科大学・医学部・講師

研究者番号：90329243

研究成果の概要（和文）：EMR 前後の胃洗浄廃液 DNA を用いた網羅的メチル化解析（マイクロアレイ）により早期胃がん特異的にメチル化異常を来す候補遺伝子の同定に成功した。また、候補遺伝子を用い、臨床検体における前向き試験においても良好な再現性結果を得ることに成功した。この結果をもとに、ESD 症例より得た胃洗浄廃液が早期胃がん内視鏡治療後再発のよきメチル化マーカーになりえるかを検証すべく、現在前向き臨床試験を遂行中である（全 4 年間の観察期間のなかで現在 1 年経過）。

研究成果の概要（英文）：We have developed a new methodology for gastric cancer detection by DNA methylation in gastric washes. It is easy and useful for early detection of recurrence after endoscopic treatment in GCa patients. We now have on going prospective studies.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2011 年度	600,000	180,000	780,000
2012 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：胃がん、メチル化、胃洗浄廃液

## 1. 研究開始当初の背景

現在、有用な胃がんスクリーニング検査と考えられている内視鏡検査をもってしても見逃しとも考えられる症例が 22.2%-25.5%も存在している。我々は、胃がんにおける DNA のメチル化異常がジェネティックな異常より高頻度に認めることに注目し、臨床診断へ

の応用を検討してきた。

## 2. 研究の目的

我々は、胃がんにおける DNA のメチル化異常がジェネティックな異常を診断マーカーとして応用するため、内視鏡検査時に廃棄される胃洗浄廃液から回収した DNA に注目し、

通常内視鏡で診断することの出来ない（可視できない）胃癌内視鏡治療（EMR: Endoscopic Mucosal Resection）後残胃の「微小再発診断」、「再発予測診断」、「リスク群選定」を可能にできるかを検討することとした。

### 3. 研究の方法

ESD 治療前後に回収した胃洗浄廃液から DNA を抽出、網羅的メチル化解析法である H/H-MCAMicroarray を用い、胃癌特異的に異常メチル化を認める候補遺伝子の選出を行った。さらに検証セット症例におけるメチル化検証解析を定量性の高い Bisulfite-Pyrosequencing 法にて行った。

### 4. 研究成果

EMR 前後の胃洗浄廃液 DNA を用いた H/H-MCAMicroarray 解析（マイクロアレイ解析を基本としたオリジナルメチル化解析法）により早期胃癌に特異的にメチル化する遺伝子「MINT25」および「SOX17」の同定に成功した。

この2つの遺伝子メチル化異常は、胃癌細胞株においても高頻度に高度メチル化を示し、さらに検証セットを用いたメチル化解析においても EMR 前胃洗浄廃液で高メチル化を、EMR 後胃洗浄廃液で著明なメチル化の低下を認めた。

さらに、EMR 治療による断端陽性症例では EMR 後胃洗浄廃液で高メチル化にあり、胃洗浄廃液による EMR 治療後遺残診断が可能性と考えられた。現在、胃癌 EMR 症例における切除後2次再発の予測が「MINT25、SOX17」のメチル化異常解析で可能かどうかを判断すべく、前向き試験として追跡調査を4年間行うこととし、異時再発予測へつなげる。

### 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5件）

1. Watanabe Y, Castoro RJ, Kim HS, North B, Oikawa R, Hiraishi T, Ahmed SS, Chung W, Cho MY, Toyota M, Itoh F, Estecio MR, Shen L, Jelinek J, Issa JP. Frequent alteration of MLL3 frameshift mutations in microsatellite deficient colorectal cancer. PLoS One 2011, 6: e23320
2. Baba S, Oishi Y, Watanabe Y, Oikawa R, Morita R, Yoshida Y, Hiraishi T, Maehata T, Nagase Y, Fukuda Y, Nakazawa M, Ishigouoka S, Hattori N, Suzuki H, Toyota M, Niwa H, Suzuki M, Itoh F. Gastric wash-based molecular testing for antibiotic resistance in helicobacter pylori. Digestion 2011, 84: 299-305
3. Watanabe Y, Konishi K, Shen L, Guo Y, Castoro RJ, Kondo K, Chung W, Ahmed S, Jelinek J, Boumber YA, Estecio MR, Maegawa S, Kondo Y, Itoh F, Imawari M, Hamilton SR, Issa JP. DNA methylation profiles of primary colorectal carcinoma and matched liver metastasis. PLoS One 2011, 6: e27889
4. Watanabe Y, Oishi Y, Yoshida Y, Sato Y, Hiraishi T, Oikawa R, Maehata T, Suzuki H, Toyota M, Niwa H, Suzuki M, Itoh F. Hypermethylation of Sox17 gene is useful as a molecular diagnostic application in early gastric cancer. Tumour Biol 2012, 33(2):383-93.
5. Watanabe Y, Hama R, Shinada K, Yamada Y, Ogata Y, Yoshida Y, Tamura

T, Hiraishi T, Oikawa R, Sakurai J, Maehata T, Koizumi H, Itoh F. Characterization of DNA hypermethylation in two cases of peritoneal mesothelioma. Tumor Biol. 2012, 33(6):2031-40.

[学会発表] (計 3 件)

1. Hama R, Watanabe Y et al. The Sox17 Gene Hypermethylation is Useful as a Molecular Diagnostic Application in Early Stage of Gastric Cancer. American Association for Cancer Research Annual Meeting 2012. April 2 2012, Chicago IL. United States
2. Watanabe Y et al. The BARHL2 Gene Hypermethylation is Useful as a Molecular Diagnostic Application in Early Stage of Gastric Cancer. American College of Gastroenterology Annual Meeting 2012. October 20 2012 Las Vegas NV. Unites States
3. Watanabe Y et al. Gastric Wash-Based Sox17 Methylation is Useful as a Molecular Diagnostic Application in Early Stage of Gastric Cancer. Digestive Disease Week 2012. May 20 2012. San Diego CA United States

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

下記特許に関して一部で出願中にあり

名称: 「胃粘膜洗浄液を利用した疾患関連マーカー検出方法」

発明者: 渡邊 嘉行、豊田 実、今井 浩三、

篠村 恭久、伊東 文生、時野 隆至

権利者: 学校法人聖マリアンナ医科大学、北海道公立大学法人札幌医科大学

種類: 特許

番号: 国際出願番号: PCT/J P 2 0 0 7 / 0 5 9 9 5 3 国際出願日: 平成 1 9 年 5 月 1 5 日、優先権主張番号: 特願 2 0 0 6 - 1 3 4 8 7

出願年月日: 平成 1 8 年 5 月 1 5 日

国内外の別: 日本、米国、欧州、中国、インド、韓国 (各国にて審査中)

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡邊 嘉行 (WATANABE YOSHIYUKI)

聖マリアンナ医科大学・医学部・講師

研究者番号: 90329243

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし