

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461975

研究課題名(和文) 胃癌腹膜播種に關与する lncRNA の解明 新規診断・治療法への応用を目指して

研究課題名(英文) Identification of biomarker for peritoneal dissemination from gastric cancer: analysis of lnc RNA

研究代表者

毛利 靖彦 (Mohri, Yasuhiko)

三重大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：70345974

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000 円

研究成果の概要(和文)：腹膜播種に關与する lncRNA の miniRNA が腹膜播種診断血清マーカーとして有用かどうかを lncRNA の発現とその臨床病理学的因子や異時性再発の有無(時期)と再発臓器、予後との相関を解析し、2つの lncRNA を同定した。1つは MALAT 1、もう1つは HOTAIR である。HOTAIR は組織増殖、細胞浸潤、アノイキスと關与し、HOTAIR siRNA にてトランスフェクトさせた胃癌細胞株では腹膜播種出現が有意に抑制された。血清 angiopoietin-like protein 2、mir-203 が遠隔転移陽性胃癌あるいは術後再発症例で有意に高値を示す血清バイオマーカーであることが検証できた。

研究成果の概要(英文)：The prognosis of gastric cancer (GC) patients with peritoneal dissemination remains poor, and a better understanding of the underlying mechanisms is critical for the development of new treatments that will improve survival in these patients. This study aimed to clarify the clinical and biological role of two key metastasis-associated long non-coding RNAs (lncRNAs) in GC. We analyzed the expression levels of two lncRNAs in gastric tissues. Expression of 2 lncRNAs was significantly higher in cancerous tissues than in corresponding normal mucosa, and higher expression of these lncRNAs significantly correlated with peritoneal metastasis in GC patients. Our data provide novel evidence for the biological and clinical significance of HOTAIR expression as a potential biomarker for identifying patients with peritoneal metastasis, and as a novel therapeutic target in patients with gastric neoplasia.

研究分野：胃癌

キーワード：胃癌 腹膜播種

1. 研究開始当初の背景

胃癌腹膜播種に対しては、近年の化学療法の進歩を考慮に入れても、いまだに「標準的治療」と言うべき治療法は存在しないのが現状である。したがって、腹膜播種の診断と治療は胃癌治療の中でも非常に重要な位置を占め、その成績は胃癌の予後を大きく左右するといえる。

2. 研究の目的

胃癌腹膜播種に関与する lncRNA を同定し、次世代シーケンサーを用いることで新たな Non invasive biomarker の確立と播種転移機序解明からの新規治療法開発を目的とする Two way approach を行い、現在、極めて予後不良な経過をたどる胃癌腹膜播種転移に苦しむ胃癌患者の予後・QOL の向上をめざすことを目的とする。

3. 研究の方法

同時性腹膜播種を認めた原発巣と、同一患者の播種巣、腹膜播種を認めなかったほぼ同一深達度の原発巣、そして健常粘膜の4群間の profiling からアプローチすることで、様々な観点からの腹膜播種関連候補 lncRNA の同定を行う。さらに、次世代シーケンサーを利用し、原発組織、播種組織と同一患者の血液からのバイオマーカー検索を行い、さらに胃癌患者のマッチした原発腫瘍、血清ともにプロファイリングすることで、胃癌分泌血清バイオマーカーを同定することは本研究の斬新的な点と言える。また治療への応用を考慮した腹膜播種進展機序解明を行う。

4. 研究成果

腹膜播種に関与する lncRNA の miRNA が腹膜播種診断血清マーカーとして有用かどうかを原発巣組織サンプルが存在する胃癌患者の術前血清を使用し、lncRNA の発現とその臨床病理学的因子や異時性再発の有無(時期)と再発臓器、予後との相関を解析した。また、胃癌腹膜播種関連候補 lncRNA のうち発現抑制 lncRNA 群で特にそのプロモーター領域もしくは周囲上流領域に CpG island をもっているもの

のを候補とし、当院ですでに臨床病理学的因子並びに予後が判明している胃癌切除症例を対象に正常胃粘膜ならびに胃癌部より DNA を抽出し、上記で候補とした CpG island methylation status に関して pyrosequencer にて評価し、臨床病理学的因子や予後との相関を後方視的に解析した。この解析より、2つの lncRNA を同定した(図1a,b)。1つは MALAT1、もう1つは HOTAIR である。HOTAIR は組織増殖、細胞浸潤、アノキスと関与し(図2a~d、図3a~d)、HOTAIR siRNA にてトランスフェクトさせた胃癌細胞株では腹膜播種出現が有意に抑制された(図4a、b)。さらに血清 angiopoietin-like protein 2(図5)、mir-203(図6、表1)が遠隔転移陽性胃癌あるいは術後再発症例で有意に高値を示す血清バイオマーカーであることが検証できた。

図 1

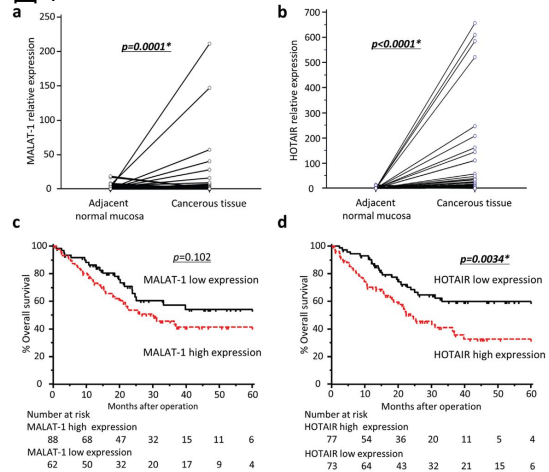


图 2

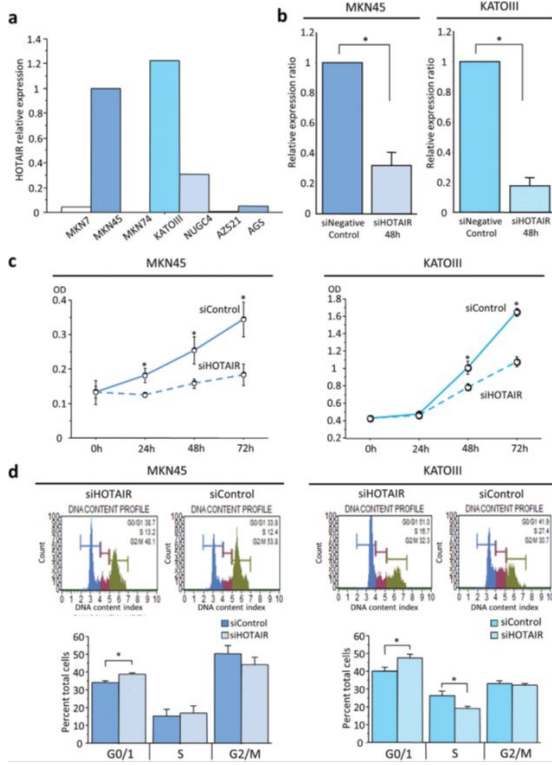


图 3

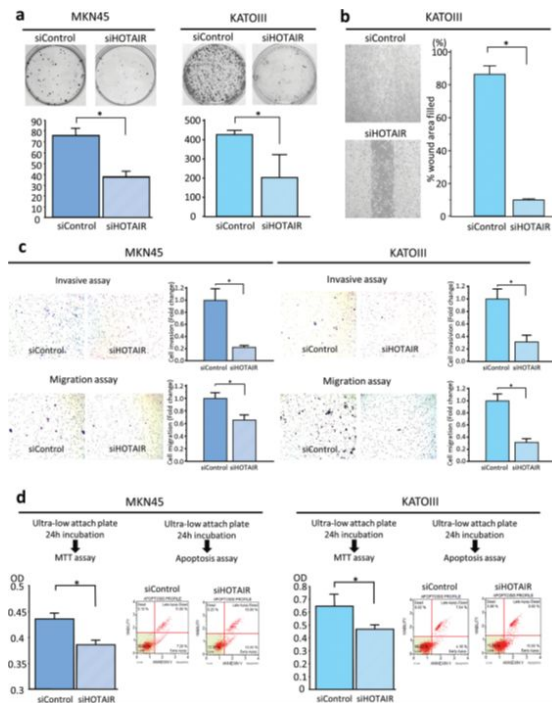


图 4

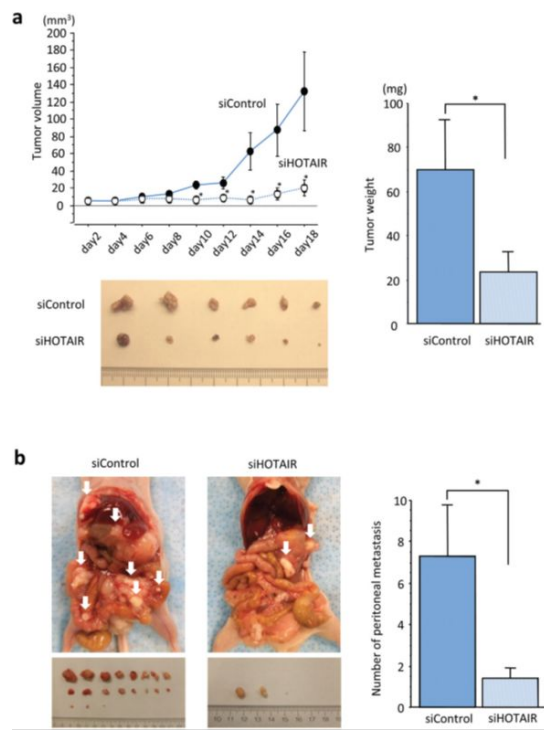


图 5

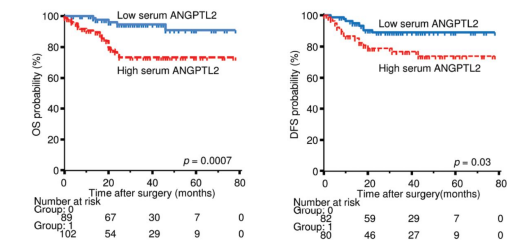


图 6

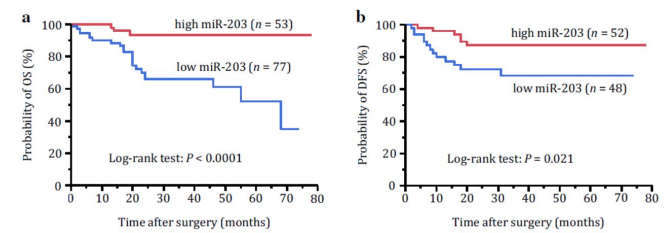


表 1

Variables	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	Odds ratio	95 % CI	P value	Odds ratio	95 % CI	P value
Histology (poorly vs well/moderately differentiated)	1.49	0.65-3.41	0.34	-	-	-
Tumor size (≥ 45 mm vs < 45 mm)	2.35	1.02-5.71	0.045	1.32	0.43-4.23	0.63
Lymphatic invasion (positive vs negative)	NA	NA	0.0002	NA	NA	0.43
Venous invasion (positive vs negative)	8.16	3.09-25.80	<0.0001	3.77	1.18-13.80	0.025
T classification (T3/T4 vs T1/T2)	30.18	6.08-547.79	<0.0001	7.03	1.03-142.28	0.046
Lymph node metastasis (positive vs negative)	15.79	4.42-101.05	<0.0001	4.39	0.94-32.36	0.061
Serum miR-203 expression (low vs high)	31.42	6.33-570.18	<0.0001	12.04	2.07-230.05	0.0032

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 7 件)

Imaoka H, Toiyama Y, Okigami M, Yasuda H, Saigusa S, Ohi M, Tanaka K, Inoue Y, Mohri Y, Kusunoki M. Circulating microRNA-203 predicts metastases, early recurrence, and poor prognosis in human gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2016 Jul;19(3):744-53.

doi:10.1007/s10120-015-0521-0. (査読有)

Toiyama Y, Tanaka K, Kitajima T, Shimura T, Imaoka H, Mori K, Okigami M, Yasuda H, Okugawa Y, Saigusa S, Ohi M, Inoue Y, Mohri Y, Goel A, Kusunoki M. Serum angiopoietin-like protein 2 as a potential biomarker for diagnosis, early recurrence and prognosis in gastric cancer patients. *Carcinogenesis*. 2015 Dec;36(12):1474-83. doi:10.1093/carcin/bgv139. (査読有)

Ohi M, Mori K, Toiyama Y, Mohri Y, Okigami M, Yasuda H, Saigusa S, Tanaka K, Inoue Y, Kusunoki M. Preoperative prediction of peritoneal metastasis in gastric cancer as an indicator for neoadjuvant treatment. *Anticancer Res*. 2015 Jun;35(6):3511-8. (査読有)

Saigusa S, Tanaka K, Mohri Y, Ohi M, Shimura T, Kitajima T, Kondo S, Okugawa Y, Toiyama Y, Inoue Y, Kusunoki M. Clinical significance of RacGAP1 expression at the invasive front of gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2015 Jan;18(1):84-92. doi:10.1007/s10120-014-0355-1. (査読有)

Okugawa Y, Toiyama Y, Hur K, Toden S, Saigusa S, Tanaka K, Inoue Y, Mohri Y, Kusunoki M, Boland CR, Goel A. Metastasis-associated long non-coding RNA drives gastric cancer development and promotes peritoneal metastasis.

Carcinogenesis. 2014 Dec;35(12):2731-9. doi:10.1093/carcin/bgu200. (査読有)

Kawamura M, Tanaka K, Toiyama Y, Okugawa Y, Okigami M, Yasuda H, Saigusa S, Ohi M, Inoue Y, Uchida K, Mohri Y, Kusunoki M. Clinical significance of tartrate-resistant acid phosphatase type-5 expression in human gastric cancer. *Anticancer Res*. 2014 Jul;34(7):3425-9. (査読有)

Mohri Y, Tanaka K, Ohi M, Saigusa S, Yasuda H, Toiyama Y, Araki T, Inoue Y, Kusunoki M. Identification of prognostic factors and surgical indications for metastatic gastric cancer. *BMC Cancer*. 2014 Jun 6;14:409. doi:10.1186/1471-2407-14-409. (査読有)

〔学会発表〕(計 6 件)

奥川喜永、問山裕二、三枝晋、川村幹雄、大井正貴、田中光司、井上靖浩、毛利靖彦、三木誓雄、楠正人。胃癌腹膜播種の基礎と臨床 新たなエビデンスの創出に向けて 転移関連 incRNA の胃癌腹膜播種進展における臨床病理・機能的意義。第 71 回日本消化器外科学会総会。2016 年 7 月 14 日～7 月 16 日。あわぎんホール(徳島県・徳島市)

安田裕美、問山裕二、野口智史、沖上正人、大井正貴、田中光司、毛利靖彦、荒木俊光、井上靖浩、楠正人。胃癌切除後の予後における BMI (Body mass index) の影響。第 77 回日本臨床外科学会総会。2015 年 11 月 26 日～11 月 28 日。福岡国際会議場(福岡県・博多市)

毛利靖彦、田中光司、大井正貴、安田裕美、沖上正人、野口智史、荒木俊光、井上靖浩、楠正人。Inflammation-nutritional index からみた高齢者胃癌根治手術。第 77 回日本利生外科学会。2015 年 11 月 26 日～11 月 28 日。福岡国際会議場(福岡県・博多市)

志村匡信、田中光司、井出正造、小池勇樹、沖上正人、今岡裕基、北嶋貴仁、近藤哲、奥川喜永、三枝晋、問山裕二、大井正貴、荒木俊光、井上靖浩、内田恵一、毛利靖彦、溝口明、楠正人。二光子レーザー顕微鏡を用いたマウス胃癌腹膜播種モデルにおける生体内可視化とpClitaxel 腹腔内投与後の癌細胞の形態学的変化。第 114 回日本外科学会定期学術集会。2014 年 4 月 3 日～4 月 5 日 京都国際会館（京都府・京都市）

沖上正人、大井正貴、志村匡信、安田裕美、三枝晋、問山裕二、荒木俊光、田中光司、井上靖浩、内田恵一、毛利靖彦、楠正人。当院における腹膜播種胃癌および洗浄細胞診陽性胃癌に対する検討。第 114 回日本外科学会定期学術集会。2014 年 4 月 3 日～4 月 5 日 京都国際会館（京都府・京都市）

井出正造、田中光司、志村匡信、今岡裕基、近藤哲、北嶋貴仁、三枝晋、問山裕二、大井正貴、安田裕美、沖上正人、奥川喜永、井上靖浩、荒木俊光、毛利靖彦、楠正人。胃癌腹膜転移巣における抗 MET 抗体の二光子励起顕微鏡下生体内可視化。第 114 回日本外科学会定期学術集会。2014 年 4 月 3 日～4 月 5 日 京都国際会館（京都府・京都市）

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

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

毛利靖彦 (Mohri, Yasuhiko)
三重大学・医学系研究科・准教授
研究者番号：70345974

(2) 研究分担者

問山裕二 (Toiyama, Yuji)
三重大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：00422824

田中光司 (Tanaka, Koji)
三重大学・医学系研究科・客員准教授
研究者番号：10345986

楠正人 (Kusunoki, Masato)
三重大学・医学系研究科・教授
研究者番号：50192026

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()