

<特集「がん研究・診療を巡る最新トピックス」>

臨床応用に向けた消化器がん研究 —ゲノム構造解析による治療標的遺伝子の探索と microRNA を 用いたリキッドバイオプシー・抗がん核酸治療法の開発—

小松 周平*^{1,2}, 大辻 英吾¹

¹京都府立医科大学大学院医学研究科消化器外科学

²京都第一赤十字病院外科

Clinical Application of Cancer-related Amplified Genes and Circulating MicroRNAs for Molecular Targeted Therapy and Liquid Biopsy in Digestive System Cancers

Shuheï Komatsu^{1,2} and Eigo Otsuji¹

¹*Department of Digestive Surgery,*

Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science

²*Department of Surgery, Japanese Red Cross Kyoto Daiichi Hospital*

抄 録

2005年に米国で始まった「がんゲノムプロジェクト」により、がんの包括的な「がんゲノム・アトラス (The Cancer Genome Atlas: TCGA)」が整備され、個々に最適な疾患の治療法と予防法の確立を目指すプレジジョン・メディシン (Precision Medicine) (精密医療) という医療・医療研究推進の政策が世界中で開始されている。また「がんゲノム変異」を指標に、リキッドバイオプシー (Liquid Biopsy) (体液生検) という非侵襲的な体液診断を、再発の評価や薬物治療の効果予測のためのコンパニオン診断として用いる臨床応用も進んでいる。本邦でも「がんゲノム医療」の導入にむけての体制整備が急速に進められている。我々の教室も、腫瘍外科医の視点から「がんゲノム」「リキッドバイオプシー」分野で、世界に先駆けて様々な研究成果を報告してきた。本稿では (1) ゲノム構造解析による消化器がんの治療標的遺伝子の探索、(2) エピゲノム解析による microRNA を用いたリキッド・バイオプシーによる消化器がん診療と抗がん核酸治療の開発、分野での我々の最新の研究成果とトピックスについて述べてたい。

キーワード：ゲノム構造解析、遺伝子増幅、リキッド・バイオプシー、遊離核酸、抗がん核酸治療。

平成31年1月17日受付 平成31年2月7日受理

*連絡先 小松周平 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上路梶井町465番地
skomatsu@koto.kpu-m.ac.jp

doi:10.32206/jkpum.128.02.101

Abstract

Cancer genome project, which has started since 2005 in U.S., contributes to developing 'The Cancer Genome Atlas: TCGA' and promoting so-called 'Precision Medicine' for cancers in the world. Moreover, clinical application of detected numerous gene alterations and information for liquid biopsy as a companion diagnosis could be realized in clinical settings. Thus, also in Japan, the frameworks providing cancer genome medicine have been implemented under the government initiatives. From viewpoints of surgical oncologists, we have identified various cancer-related amplified genes for targeted therapy and more than 20 candidate microRNAs for liquid biopsy in digestive system cancers, which could be useful in early cancer detection, monitoring disease status, predicting malignant potential and prognosis, and treatment sensitivity. In this review, we present our recent research topics and discuss the possibility and issues of clinical applications for molecular targeted therapy, liquid biopsy and nucleic acids medicine in digestive system cancers.

Key Words: Copy-number analysis, Gene amplification, Liquid biopsy, Circulating nucleic acids, Nucleic acids medicine.

はじめに

1990年に米国で始まったヒトゲノムプロジェクトは2003年に完了し、ヒトゲノム全体の99%のDNA配列が決定された。2005年からの「がんゲノムプロジェクト」により、20種類以上のがんの包括的な「がんゲノム・アトラス (The Cancer Genome Atlas: TCGA)」が整備された。この膨大なデータなどを駆使して、がん患者をサブグループ化し、個々に最適な疾患の治療法と予防法の確立を目指すプレジジョン・メディスン (Precision Medicine) (精密医療) (2015年オバマ大統領演説) という医療・医療研究推進の政策が開始されている。具体的には、Foundation OneやMSK-IMPACTなどのがん遺伝子パネル検査が、米国、フランスなどで日常診療として開始され始めている。また、同定された「がんゲノム変異」を指標に、リキッドバイオプシー (Liquid Biopsy) (体液生検) を再発の評価や薬物治療の効果予測のためのコンパニオン診断として用いる臨床応用も進んでいる。

本邦でも、腫瘍のゲノム変異を調べて治療介入の方針を決定する「がんゲノム医療」の導入にむけて施設、体制整備が進められている。そして、本年にNCCオンコパネルやFoundation One CDxなどのがん遺伝子パネル検査が保険収載され、「がんゲノム医療」が本格的に開始され

ようとしている。リキッドバイオプシー (Liquid Biopsy) (体液生検) の分野でも、コンパニオン診断としてEGFRチロシキナーゼ阻害剤の適応を決めるためのEGFR T790Mの定性診断法が保険収載されている。今後、本邦でも「がん精密医療」をめざした医療が益々拡大していくと思われる。

我々の教室も、腫瘍外科医の視点から臨床現場で役立つ研究成果を得ることを目標に「がんゲノム」「リキッドバイオプシー」分野で、世界に先駆けて様々な研究成果を報告してきた。本稿では(1)ゲノム構造解析による消化器がんの治療標的遺伝子の探索、(2)エピゲノム解析によるmicroRNAを用いたリキッドバイオプシーによる消化器がん診療と抗がん核酸治療の開発、分野での我々の最新の研究成果とトピックスについて述べたい。

ゲノム1次構造変化に注目した 消化器がんの治療標的遺伝子探索

1. 高密度オリゴアレイCGH解析による遺伝子増幅・欠失の再評価と治療標的遺伝子探索

がんの発生と進展の過程には、多くの遺伝子異常が認められ、これらが悪性形質の獲得に深く関わっている。がんのゲノムレベルで生じる遺伝子異常には、ゲノムDNAに直接異常が刻まれるゲノム1次構造異常、すなわち点突然変異、

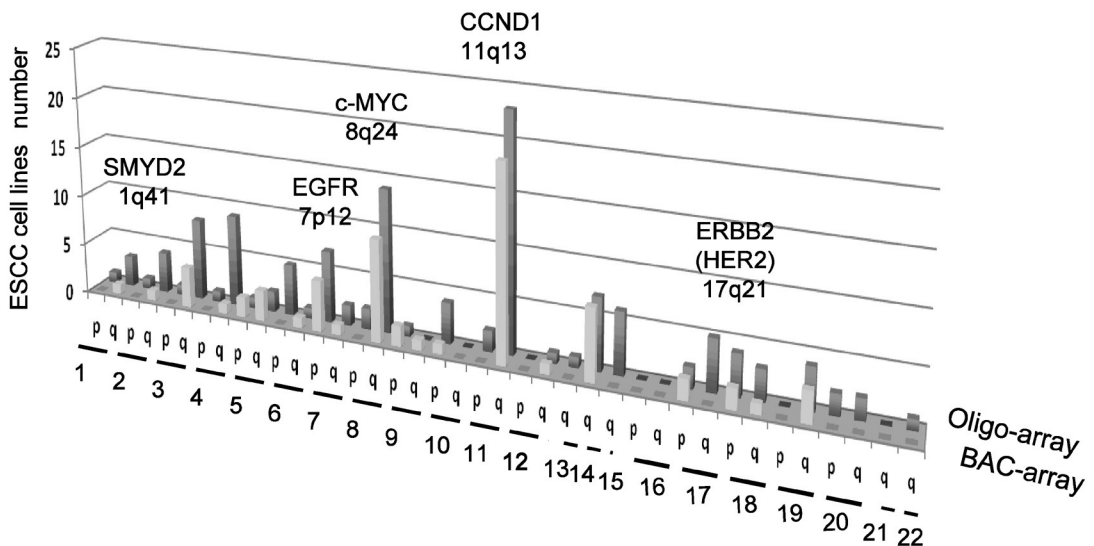
欠失、挿入、増幅、転座、融合などと、ゲノムDNAのメチル化あるいはヒストンなどのDNA結合タンパク質のメチル化・アセチル化などで生じるエピゲノム異常がある。例えば、がんのゲノム1次構造異常として、様々な増幅領域からEGFR (7p12), MYC (8q24), CCND1 (11q13), ERBB2 (17q21) などの標的治療遺伝子が同定されてきた。しかし、これらはヒトゲノムプロジェクト以前に同定されたものである。ヒトゲノムプロジェクトにより整備された新たなゲノム配列情報と、近年飛躍的に進歩した解析技術により、既知の増幅・欠失領域に注目して、より詳細なゲノム・エピゲノム解析による再評価を行うことで、新規の診断・治療の標的遺伝子の探索が可能と考えて解析を行った。

比較ゲノム・ハイブリダイゼーション (comparative genomic hybridization; CGH) 法という、がんと正常細胞から抽出した等量のDNAのゲノムコピー数を比較し、がんの遺伝子増幅 (ゲノム1次構造異常) の程度を評価する方法がある¹⁾。具体的には、43種類 (KYSE31株, TE12株) の食道扁平上皮癌細胞株に対して、ア

ジレント社の合成オリゴDNAを用いた244K高密度オリゴアレイCGH解析を行い、増幅・欠失を再評価した (図1)。結果、過去にバクテリア染色体 (BAC) アレイCGH解析¹⁾と比較し、オリゴアレイCGH解析では、増幅領域ではより微細な遺伝子のコピー数変化が明らかとなり²⁾、極めて多くの欠失領域が明らかとなった³⁾。

特に、食道扁平上皮癌の1q増幅領域から、個々の遺伝子に対しTaqManアッセイ (リアルタイムPCR) 法による発現解析, RNA干渉理論を用いたsiRNA (small interfering RNA) による細胞増殖抑制効果の解析等で網羅的に絞り込み、種々の機能解析を行い最終的にヒトのがんの悪性度や不良な予後に関わる新規の癌関連増幅遺伝子としてSMYD2 (SET and MYND domain-containing protein 2) (1q41) を同定した²⁾。SMYD2は、メチルトランスフェラーゼであり、ヒストンH3のLysin4, p53のLysin370をメチル化することによってp53の機能を阻害することから、癌遺伝子的に働く。メチルトランスフェラーゼ阻害剤は世界で注目されている次世代医薬であり、既にSMYD2の特異的阻害剤で

食道扁平上皮癌43株



Carcinogenesis 2009. Komatsu S, Imoto I, Inazawa J et al.

あるAZ505 (AstraZeneca, London, UK) が開発されている。我々は、食道癌で76.5%²⁾、胃癌で38.1%⁴⁾、咽頭癌の64.0%の臨床検体でSMYD2過剰発現を認めることを明らかにしている。将来、ERBB2遺伝子によるHER2過剰発現に対する、抗体医薬・ハーセプチンなどと同様に、ゲノムレベルでの増幅やタンパク過剰発現を認めるがん患者の治療への応用が期待される。

2. 遺伝子増幅領域に坐位する消化器がんの新規癌関連遺伝子の探索

食道癌、胃癌の増幅遺伝子MYCの坐位する8q24増幅領域の近傍からは、8q22.3に坐位するYWHAZ (14-3-3 ζ) 遺伝子が、胃癌の増殖、遊走、浸潤能などの悪性度に関わり、胃癌の51%に過剰発現を認め、独立して不良な予後に関わることを明らかにした。同時に、YWHAZ過剰発現の機序の一つに、YWHAZをターゲットとする癌抑制型microRNAであるmiR-375の発現抑制を認めることを明らかにした⁵⁾。また、YWHAZはHER2遺伝子と協調的に働くことで、HER2陽性の胃癌、食道接合部腺癌の悪性度にも強く関わることも明らかにした⁶⁾。

同様の解析手法を用いて、消化器癌の増幅領域に坐位する様々な新規の癌関連遺伝子の治療標的遺伝子候補としての可能性を報告してきた。具体的には、増幅領域の11p13からユビキチンE3酵素の一つであるTRIM44 (Tripartite motif-containing protein 44) 遺伝子を同定した⁷⁾。胃癌の25%⁷⁾、食道癌の57.3%⁸⁾、の臨床検体で過剰発現し、がんの悪性度と不良な予後に関わることを明らかにした。8p21からはMAPキナーゼ経路に関わるPBK/TOPK (PDZ binding kinase/T-LAK cell originated protein kinase) が胃癌の16.6%⁹⁾、食道癌の18.5%¹⁰⁾に過剰発現し、p53の機能に依存的に癌の悪性度と不良な予後に関わることを明らかにした⁹⁾¹⁰⁾。既に、OTS964やOTS514等の本邦発のPBK/TOPK特異的阻害剤が開発されており、PBK/TOPK増幅または過剰発現のあるがん患者に対しPBK/TOPKを治療標的分子とした新たな癌治療の実現が期待される。

1q32増幅領域からは、SMYD2の他にユビキ

チンE3酵素の一つであるDTL (Denticleless E3 ubiquitin protein ligase homolog) 遺伝子が、食道癌、胃癌で過剰発現し、癌の悪性度や不良な予後に関わることも明らかにした¹¹⁾。17q21増幅領域からは、テンシンファミリーであるCTEN (C-terminal tensin-like) 遺伝子が、食道胃接合部腺癌、胃癌で過剰発現し、癌の悪性度や不良な予後に関わることも明らかにした¹²⁾。また、最近では、胃癌の7q22-31.1増幅領域に坐位する、ZRF1 (Zuotin-related factor 1) 遺伝子に注目し解析した。リン酸化タンパク質であるZRF1がヒストンH2Aユビキチン化タンパクに誘導され、クロマチンからポリコーム抑制複合体1 (PRC1) を解離させて転写活性化を促進し、ポリコーム群タンパク質によって抑制される遺伝子群が活性化状態に切り換えられ、がんの進展に関わることが明らかにされている¹³⁾。今回、胃癌の39.1%に過剰発現を認め、新たにp53の機能に依存的に癌の悪性度、不良な予後に関わることを明らかにした¹⁴⁾。その他、1q21からSETDB1¹⁵⁾、13q13増幅領域からRFC3 (replication factor C 3)¹⁶⁾、12q15からYEATS4¹⁷⁾など、ゲノム1次構造変化である増幅領域を指標として治療標的遺伝子として魅力的な様々な候補の探索が可能であった。今後、標的治療薬が開発されゲノムレベルでの増幅やタンパク過剰発現を認めるがん患者への治療応用が期待される。

3. 増幅遺伝子を指標としたリキッドバイオプシーによる消化器がん診断、悪性度予測、コンパニオン診断への応用

近年、担がん患者の血中遊離DNAはがん細胞のゲノム情報を反映し、極めて有用性が高いとの報告が散見される。がん組織の癌抑制遺伝子(p53, APC)で同定した点突然変異に注目し、血中の遊離DNAからがん組織由来のDNAを検出し、再発時や化学療法後の腫瘍の変化をリアルタイムにモニタリングする方法¹⁸⁾の報告や、分子標的治療薬の効果判定のために、従来のがん組織のKRAS遺伝子変異を同定するかわりに血中遊離DNA中のKRAS遺伝子変異で評価が十分に可能との報告などがある。当教室でも2000

年頃から、癌抑制遺伝子の発現に関わるプロモーター領域近傍のCpGアイランドのがん特異的なメチル化機構（遺伝子発現抑制機構）に注目し、p16、E-カドヘリンなどの癌抑制遺伝子に対してメチル化特異的PCR（MSP）法を用いて、がん組織由来の血中遊離DNAのメチル化を評価し、診断や悪性度評価の可能性を調べてきた¹⁹⁾。

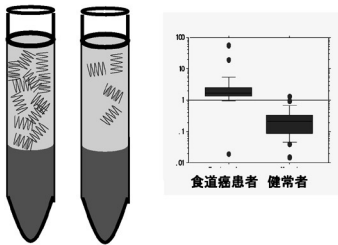
新たな試みとして固形がんで高頻度に見られるゲノム1次構造変化、特に増幅遺伝子を指標とした血中遊離核酸を用いたリキッドバイオプシーの有用性に注目した²⁰⁾。すなわち、血中遊離DNA中のがん関連増幅遺伝子のコピー数を定量化し、リキッドバイオプシーによる消化器がん診断、悪性度・予後予測、コンパニオン診断が可能と考えて研究を開始した。具体的には、まず食道癌において最も増幅頻度の高い11q13に座位するCCND1増幅遺伝子に注目した（図1）。症例間の血中DNAの濃度差や染色体異数性の影響を除外してCCND1増幅の程度を評価する工夫として、CCND1と同じ11番染色体の長腕に存在し、ゲノムデータベースで増幅の報告の

ないDRD2遺伝子をリファレンス遺伝子として選択し、CCND1のコピー数をCCND1の量とDRD2の量の比であるCCND1/DRD2（C/D）比で測定することにした（図2）。結果、血中遊離核酸のCCND1コピー数を定量化することで、存在診断（早期診断、再発診断）、治療経過のモニタリング、悪性度、不良な予後予測が可能であった²¹⁾²²⁾。

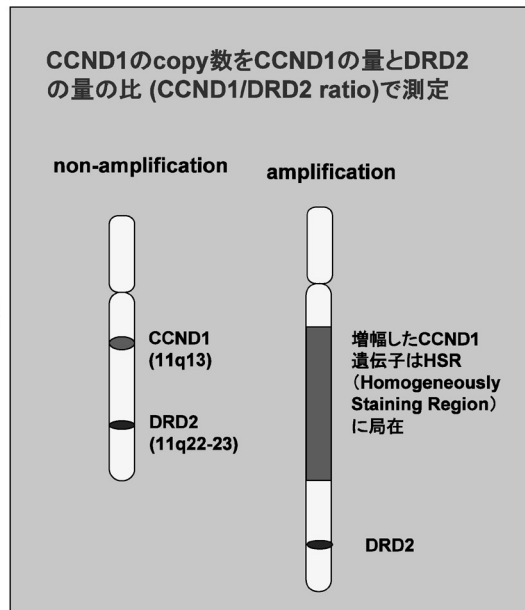
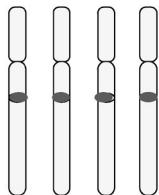
胃癌の分子標的治療薬・ハーセプチンの標的タンパクであるHER2をコードするERBB2遺伝子の増幅に注目し、リキッドバイオプシーとしてERBB2増幅を血中遊離核酸を用いて評価できること明らかにした²³⁾。高度進行・再発胃癌患者のうちHER2過剰発現症例に対する分子標的治療薬・ハーセプチン療法は保険治療で認められている。しかし、胃癌はがん細胞のheterogeneity（不均一性）を高度に認めるがんであり、臨床の現場では腫瘍の全てのHER2発現を固定標本で病理評価することが現実的には困難なため、HER2過剰発現が見落とされる可能性がある。したがって、腫瘍全体のゲノム情報が反映

遊離DNAの増幅解析の問題点

1. DNA濃度の影響



2. 癌細胞の染色体異数性の影響



Br J Cancer 2010. Takeshita H, Komatsu S et al.

図2

される血中の遊離核酸で評価することの方が、正確なERBB2増幅の程度を評価でき、より多くの患者の治療に標的治療薬を使うことが可能となる。また、生検が困難な部位にある再発がん患者にもリキッド・バイオプシーは極めて有用な診断方法となる。現在、臨床応用を目指してDigital PCR法を用いた前向き解析をすすめる予定である。

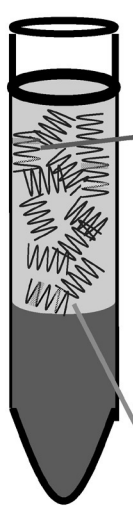
がん関連microRNAを用いたリキッドバイオプシーによる消化器がん診療法と抗がん核酸治療法の開発

1. 体液中のmicroRNAの安定性と消化器がんの病態評価への応用

リキッドバイオプシーとして血中遊離核酸であるDNAを臨床に用いることは世界的に研究が進んでいる。我々は、新たな方法で高感度、高特異度のリキッドバイオプシーによるがん診療法が可能と考え研究を行ってきた。具体的には、血中でRNA分解酵素にも安定している存在して

いる22塩基ほどの小さなRNA：microRNA (miRNA) に注目した。機能性の短鎖型 non-coding RNAであるmiRNAは、1993年に同定されて以来、ヒトゲノムでは1000種類以上同定されている。miRNAは標的遺伝子のmRNAの3'末端の非翻訳領域に結合してmRNAの分解や転写の抑制を行うことで全遺伝子の約30%もの発現調節に関わり、様々な生命現象の維持に深く関与している。一方で、その発現異常は多くのヒトの疾患で検出され、疾患の病態形成にも深く関与しており、特にがんの発症、進展において極めて重要な役割を果たすことが明らかとなっている。

近年、驚くべきことに、このmiRNAは、細胞外の血液、尿、唾液、母乳等の体液中でも比較的安定して存在することが明らかとなっている²⁴⁾²⁵⁾。その理由として、Argonaute2やHDL等の血漿タンパクと結合して血中で安定化して存在したり、エクソソーム等のベジクルに封入されて血中をはじめ体液中で極めて高い安定性を獲得して存在



	Detection, monitoring	Malignant potential, prognosis, drug sensitivity	
Oncogenic microRNA			
● miR-17-5p Gastric Cancer	○		(Br J Cancer., 2010)
● miR-18a Pancreatic Cancer	○		(Br J Cancer., 2011)
● miR-18a Esophageal Cancer	○		(Br J Cancer., 2013)
● miR-18a Gastric Cancer	○		(Gastric Cancer., 2014)
● miR-21 Gastric Cancer	○	○	(Br J Cancer., 2010)
● miR-21 Esophageal Cancer	○	○	(Br J Cancer., 2011)
● miR-23a Esophageal Cancer	○	○	(Oncotarget., 2016)
● miR-25 Esophageal Cancer	○		(Br J Cancer., 2015)
● miR-106a Gastric Cancer	○		(Br J Cancer., 2010)
● miR-106b Gastric Cancer	○		(Br J Cancer., 2010)
● miR-221 Pancreatic Cancer	○	○	(Br J Cancer., 2013)
● miR-223 Pancreatic Cancer	○	○	(EOBT., 2015)
● miR-744 Pancreatic Cancer	○	○	(Br J Cancer., 2015)
● miR-224 Hepatocellular Carcinoma	○	○	(Oncotarget., 2016)
● > 3 microRNAs			Ongoing
Tumor suppressor microRNA			
● Let-7a Gastric Cancer	○		(Br J Cancer., 2010)
● miR-375 Esophageal Cancer	○	○	(Br J Cancer., 2011)
● miR-375 Pancreatic Cancer	○		(Br J Cancer., 2013)
● miR-451 Gastric Cancer	○		(Br J Cancer., 2012)
● miR-486 Gastric Cancer	○		(Br J Cancer., 2012)
● miR-107 Pancreatic Cancer	○	○	(Sci Rep., 2017)
● miR-101 Gastric Cancer	○	○	(Oncotarget., 2017)
● miR-655 Esophageal Cancer	○	○	(Mol Cancer., 2019)
● > 3 microRNAs			Ongoing

図3

しているのである²⁴⁾。さらに興味深いことに、miRNAがサイトカインなどと同様に細胞間の情報伝達を目的として能動的に体液中に分泌され、分泌型のmiRNAは生体内における恒常性の維持のみならず、がんの発症、進展の新たなメカニズムとして一躍脚光を浴びてきているのである²⁶⁾。

我々は、2008年にmiRNAが血中で極めて高い安定性を獲得してリボヌクレアーゼ活性から守られた状態であることを知り²⁴⁾²⁵⁾、血中miRNAを指標として、消化器がん患者の臨床に役立つバイオマーカーの探索や標的治療法の開発が可能と考えて研究を開始した。特に、食道癌、胃癌、膵癌、肝癌などの消化器がん患者で、①過去の文献からがん組織中で高頻度に高発現するmiRNA群や集団的に高発現を示すmiRNAクラスター内のmiRNA群に注目し^{27,34)}、あるいは②血中miRNAのマイクロアレイを用いた網羅的解析により^{35,37)}、がん患者と健常人、術前と術後の比

較から、がんの早期診断に有用な新規のmiRNA候補を多数同定した。また、モニタリング診断³⁶⁾、悪性度診断²⁸⁾³⁰⁾³³⁾³⁴⁾、予後予測診断^{37,39)}、治療感受性³⁷⁾⁴⁰⁾⁴¹⁾に有用な可能性のある20種類以上のmiRNAを同定し、次世代型のバイオマーカー候補としての高い有用性があることを腫瘍外科医の視点から世界に先駆けて報告してきた²⁶⁾⁴²⁻⁴⁵⁾(図3)。

2. 血中の分泌型癌抑制型microRNAを用いた消化器がんの病態評価と悪性度の予測

最近では、がん患者の血中で濃度低下している分泌型癌抑制miRNAを用いた抗がん核酸治療法を開発している。これまで担がん患者の血中で高頻度かつ高濃度に検出される癌遺伝子型miRNAを中心に解析を進めてきたが、がん組織で発現低下している癌抑制型miRNAのうち、Let-7aやmiR-375などの一部の癌抑制型miRNA

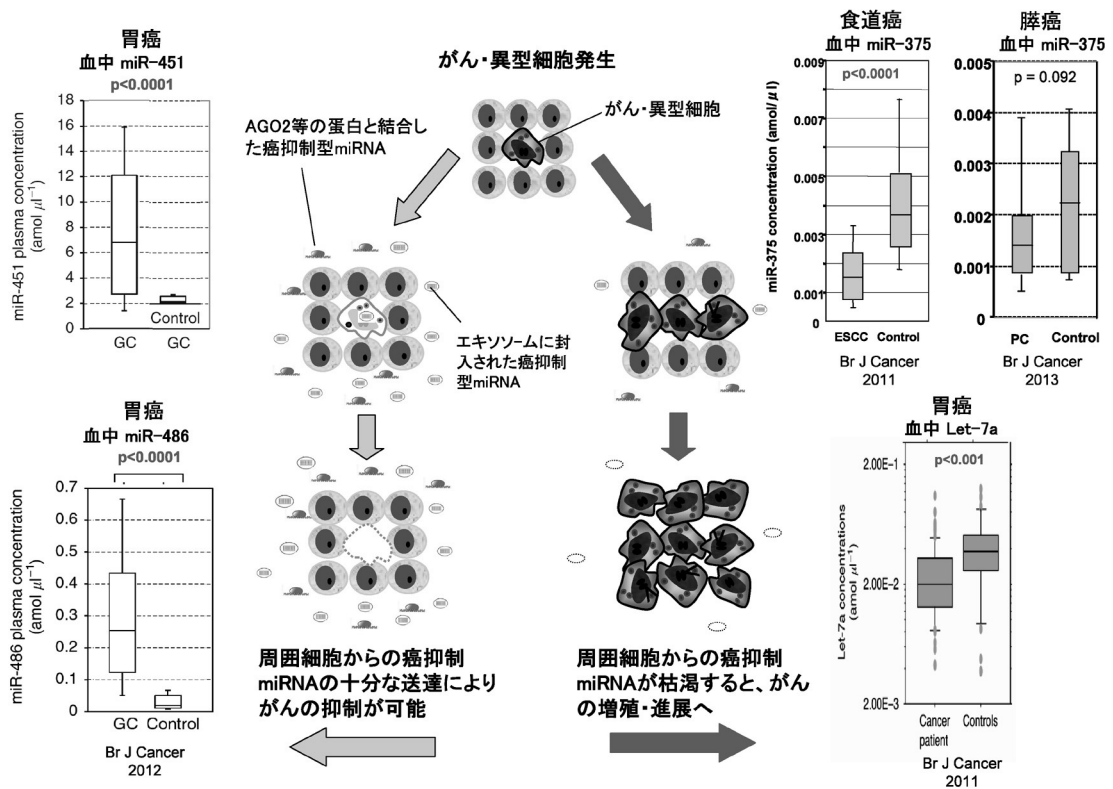


図4

が、担がん患者の血中에서도健常人より著しく濃度低下していることに注目していた²⁷⁾²⁸⁾³⁰⁾。本来、血中には生体内の情報伝達を目的として正常細胞からも大量のmiRNAが分泌されている。腫瘍で著しく発現低下している癌抑制型miRNAの多寡の程度は、生体内全体の細胞のmiRNA量と比べるとごく僅かであり、生体内全体のmiRNA量を反映する末梢血中濃度の有意な変化として反映されるのには疑問が残っていた。

国立がん研究センターの小坂展慶博士、落谷孝広博士らは、生体内に異型細胞が来ると、周囲の正常細胞からの分泌型の癌抑制型miRNAが送達され異型細胞の増殖や進展を抑制するという仮説を提唱していた⁴⁶⁾。同博士らと協議をかさね、我々の解析結果はこれらを反映しており、がんの発症や進展に周囲細胞からの癌抑制型miRNAの分泌の有無も血中濃度で評価できる可能性が高いと考えた。実際、miR-451, miR-486, miR-375などの一部の癌抑制型miRNAは、初期のステージの癌では血中濃度が保たれ、癌の進行とともに血中濃度が低下することが明らかとなった³⁵⁾³⁸⁾。一方では、進行癌でも予後の良い症例においては、これらの癌抑制型miRNAの血中濃度が有意に高いことも明らかとなった³⁸⁾⁴⁷⁻⁴⁹⁾ (図4)。

3. 難治性の膵癌、食道癌患者に対する分泌型癌抑制miRNAを用いた抗がん核酸治療法の開発

膵癌患者血中で著しく濃度低下している癌抑制型miR-107を、血中遊離核酸を用いたmiRNAマイクロアレイで網羅的に絞り込み選出した。ヌードマウスの皮下に膵癌細胞株を移植・増殖させると、非担がんマウスに比し、腫瘍の増殖とともに癌抑制型miR-107の血中レベルが著しく低下した。さらに、人工的に作成した癌抑制型miR-107 mimicを担がんマウスの腫瘍から離れた皮下にコラーゲンと共に投与すると、血中の癌抑制型miR-107レベルの回復とともに腫瘍の著しい増殖抑制を認めた⁴⁸⁾。また、食道扁平上皮癌でも、癌抑制miRを網羅的に絞り込み、患者血中で著しく濃度低下している癌抑制型miR-655を同定した。血中のmiR-655濃度低下はリンパ節転移の独立した危険因子であり、独立した予後因子となった。さらに、人工的に作成した癌抑制型miR-655 mimicを食道癌リンパ節転移モデルマウスの皮下にコラーゲンと共に投与すると、血中の癌抑制型miR-655レベルの回復とともに、リンパ節転移抑制効果を認めた⁴⁹⁾ (図5)。

以上から、一部の癌抑制型miRNAは正常細胞からもがん細胞の増殖抑制を目的として血中に分泌されるが、それらが枯渇することでがんの増殖、浸潤、転移などの悪性化、抗癌剤への耐性化が導かれる可能性があると考えた (図4)。

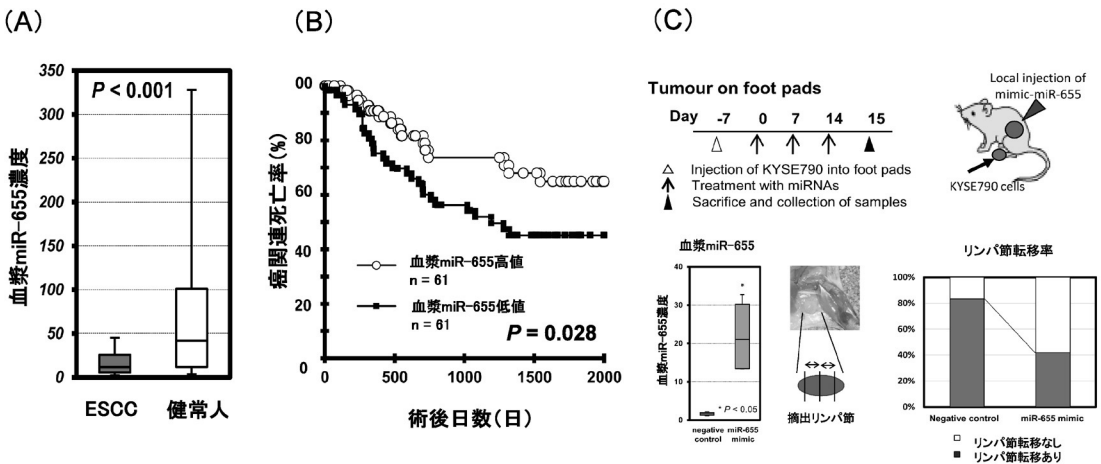


図5

また、枯渇した一部の癌抑制型 miRNA を生体内に再補充し血中濃度を回復させて維持することで、抗腫瘍効果、転移抑制効果を得ることができ、抗がん核酸治療の実現の可能性がある (図 5)。実臨床では、海外で癌抑制型 miRNA をヒトに投与する臨床試験が開始されている。免疫抑制などの副作用が問題となっている。我々が同定した癌抑制型 miR はがん患者で枯渇しており、正常レベルに戻すことで十分に抗がん作用を持っており、副作用を認めていない⁴⁹⁾。がん患者への臨床応用にむけて、臨床現場で有効かつ安全に使用可能となるように、更なる詳細な解析をすすめている。

おわりに

「がんのゲノム解析」「リキッドバイオプシー」を用いた医療が始まっている。「がんのゲノム解析」を行うことで、実際に標的治療薬を使える

患者は未だ全体の 10% といわれている。免疫チェックポイント阻害剤などの新規のがん治療薬も出来ているが、引き続き臨床の現場で役立つ臓器横断的な標的治療薬、診断法の開発が必要である。ゲノム構造解析による治療標的遺伝子の探索と、血中遊離核酸を用いたリキッドバイオプシー、抗がん核酸治療法の更なる開発が可能と考えられる。

謝 辞

本研究は、東京医科歯科大学・難治疾患研究所の稲澤譲治教授、井本逸勢准教授 (現 愛知県がんセンター研究所)、国立がん研究センターの津田 均博士 (現 防衛医科大学校病態病理学講座教授)、山梨大学第一外科の市川大輔教授らと共同研究を行った。ここに深謝いたします。

開示すべき潜在的利益相反状態はない。

文 献

- 1) Inazawa J, Inoue J, Imoto I. Comparative genomic hybridization (CGH)-arrays pave the way for identification of novel cancer-related genes. *Cancer Sci* 2004; 95: 559-563.
- 2) Komatsu S, Imoto I, Tsuda H, Kozaki KI, Muramatsu T, Shimada Y, Aiko S, Yoshizumi Y, Ichikawa D, Otsuji E, Inazawa J. Overexpression of SMYD2 relates to tumor cell proliferation and malignant outcome of esophageal squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis* 2009; 30: 1139-1146.
- 3) Haruki S, Imoto I, Kozaki K, Matsui T, Kawachi H, Komatsu S, Muramatsu T, Shimada Y, Kawano T, Inazawa J. Frequent silencing of protocadherin 17, a candidate tumour suppressor for esophageal squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis* 2010; 31: 1027-1036.
- 4) Komatsu S, Ichikawa D, Hirajima S, Nagata H, Nishimura Y, Kawaguchi T, Miyamae M, Okajima W, Ohashi T, Konishi H, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Tsuda H, Imoto I, Inazawa J, Otsuji E. Overexpression of SMYD2 contributes to malignant outcome in gastric cancer. *Br J Cancer* 2015; 112: 357-364.
- 5) Nishimura Y, Komatsu S, Ichikawa D, Nagata H, Hirajima S, Takeshita H, Kawaguchi T, Arita T, Konishi H, Kashimoto K, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Tsuda H, Otsuji E. Overexpression of YWHAZ relates to tumor cell proliferation and malignant outcome of gastric carcinoma. *Br J Cancer* 2013; 108: 1324-1331.
- 6) Watanabe N, Komatsu S, Ichikawa D, Miyamae M, Ohashi T, Okajima W, Kosuga T, Konishi H, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Tsuda H, Otsuji E. Overexpression of YWHAZ as an independent prognostic factor in adenocarcinoma of the esophago-gastric junction. *Am J Cancer Res* 2016; 6: 2729-2736.
- 7) Kashimoto K, Komatsu S, Ichikawa D, Arita T, Konishi H, Nagata H, Takeshita H, Nishimura Y, Hirajima S, Kawaguchi T, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Tsuda H, Otsuji E. Overexpression of TRIM44 contributes to malignant outcome in gastric carcinoma. *Cancer Sci* 2012; 103: 2021-2026.
- 8) Kawaguchi T, Komatsu S, Ichikawa D, Hirajima S, Nishimura Y, Konishi H, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Tsuda H, Otsuji E. Overexpression of TRIM44 is related to invasive potential and malignant outcomes in esophageal squamous cell carcinoma.

- Tumour Biol 2017; 39: 1010428317700409.
- 9) Ohashi T, Komatsu S, Ichikawa D, Miyamae M, Okajima W, Imamura T, Kiuchi J, Kosuga T, Konishi H, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Tsuda H, Otsuji E. Overexpression of PBK/TOPK relates to tumour malignant potential and poor outcome of gastric carcinoma. *Br J Cancer* 2017; 116: 218-226.
 - 10) Ohashi T, Komatsu S, Ichikawa D, Miyamae M, Okajima W, Imamura T, Kiuchi J, Nishibeppu K, Kosuga T, Konishi H, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Tsuda H, Otsuji E. Overexpression of PBK/TOPK Contributes to Tumor Development and Poor Outcome of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Anticancer Res* 2016; 36: 6457-6466.
 - 11) Kobayashi H, Komatsu S, Ichikawa D, Kawaguchi T, Hirajima S, Miyamae M, Okajima W, Ohashi T, Kosuga T, Konishi H, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Tsuda H, Otsuji E. Overexpression of denticleless E3 ubiquitin protein ligase homolog (DTL) is related to poor outcome in gastric carcinoma. *Oncotarget* 2015; 6: 36615-36624.
 - 12) Aratani K, Komatsu S, Ichikawa D, Ohashi T, Miyamae M, Okajima W, Imamura T, Kiuchi J, Nishibeppu K, Kosuga T, Konishi H, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Tsuda H, Otsuji E. Overexpression of CTEN relates to tumor malignant potential and poor outcomes of adenocarcinoma of the esophagogastric junction. *Oncotarget* 2017 Sep 20; 8: 84112-84122.
 - 13) Richly H, Rocha-Viegas L, Ribeiro JD, Demajo S, Gundem G, Lopez-Bigas N, Nakagawa T, Rospert S, Ito T, Di Croce L. Transcriptional activation of polycomb-repressed genes by ZRF1. *Nature* 2010; 468: 1124-1128.
 - 14) Imamura T, Komatsu S, Ichikawa D, Miyamae M, Okajima W, Ohashi T, Kiuchi J, Nishibeppu K, Kosuga T, Konishi H, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Tsuda H, Otsuji E. Overexpression of ZRF1 is related to tumor malignant potential and a poor outcome of gastric carcinoma. *Carcinogenesis* 2018; 39: 263-271.
 - 15) Okajima W, Komatsu S, Ichikawa D, Imamura T, Kiuchi J, Nishibeppu K, Otsuji E. Overexpression of SETDB1 Is Related to Poor Outcome in Gastric Carcinoma. *J Am Coll Surg* 2017; 225: e91-92.
 - 16) Kiuchi J, Komatsu S, Mahito M, Kosuga T, Konishi H, Shiozaki A, Kubota T, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Overexpression of RFC3 Relates to Tumor Development and Poor Outcome of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *J Am Coll Surg* 2018; 227: S246.
 - 17) Kiuchi J, Komatsu S, Imamura T, Nishibeppu K, Shoda K, Arita T, Kosuga T, Konishi H, Shiozaki A, Kubota T, Okamoto K, Fujiwara H, Ichikawa D, Tsuda H, Otsuji E. Overexpression of YEATS4 contributes to malignant outcomes in gastric carcinoma. *Am J Cancer Res* 2018; 8: 2436-2452.
 - 18) Diehl F, Schmidt K, Choti MA, Romans K, Goodman S, Li M, Thornton K, Agrawal N, Sokoll L, Szabo SA, Kinzler KW, Vogelstein B, Diaz LA Jr. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat Med* 2008; 14: 985-990.
 - 19) Koike H, Ichikawa D, Ikoma H, Otsuji E, Kitamura K, Yamagishi H. Comparison of methylation-specific polymerase chain reaction (MSP) with reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) in peripheral blood of gastric cancer patients. *J Surg Oncol* 2004; 87: 182-186.
 - 20) Gotoh T, Hosoi H, Iehara T, Kuwahara Y, Ozone S, Tsuchiya K, Ohira M, Nakagawara A, Kuroda H, Sugimoto T. Prediction of MYCN amplification in neuroblastoma using serum DNA and real-time quantitative polymerase chain reaction. *J Clin Oncol* 2005; 23: 5205-5210.
 - 21) Takeshita H, Ichikawa D, Komatsu S, Tsujiura M, Kosuga T, Deguchi K, Konishi H, Morimura R, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Prediction of CCND1 amplification using plasma DNA as a prognostic marker in oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2010; 102: 1378-1383.
 - 22) Komatsu S, Ichikawa D, Hirajima S, Takeshita H, Shiozaki A, Fujiwara H, Kawaguchi T, Miyamae M, Konishi H, Kubota T, Okamoto K, Yagi N, Otsuji E. Clinical impact of predicting CCND1 amplification using plasma DNA in superficial esophageal squamous cell carcinoma. *Dig Dis Sci* 2014; 59: 1152-1159.
 - 23) Shoda K, Ichikawa D, Fujita Y, Masuda K, Hiramoto H, Hamada J, Arita T, Konishi H, Komatsu S, Shiozaki A, Kakihara N, Okamoto K, Taniguchi H, Imoto I, Otsuji E. Monitoring the HER2 copy number status in circulating tumor DNA by droplet digital PCR in patients with gastric cancer. *Gastric Cancer* 2017; 20: 126-135.
 - 24) Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, Peterson A, Noteboom J, O'Briant KC, Allen A, Lin DW, Urban N, Drescher CW, Knudsen BS, Stirewalt DL, Gentleman R, Vessella RL, Nelson PS, Martin DB, Tewari M. Circulating

- microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 10513-10518.
- 25) Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, Guo J, Zhang Y, Chen J, Guo X, Li Q, Li X, Wang W, Zhang Y, Wang J, Jiang X, Xiang Y, Xu C, Zheng P, Zhang J, Li R, Zhang H, Shang X, Gong T, Ning G, Wang J, Zen K, Zhang J, Zhang CY. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 2008; 18: 997-1006.
- 26) Ichikawa D, Komatsu S, Konishi H, Otsuji E. Circulating microRNA in digestive tract cancers. *Gastroenterology* 2012; 142: 1074-1078.e1.
- 27) Tsuchiura M, Ichikawa D, Komatsu S, Shiozaki A, Takeshita H, Kosuga T, Konishi H, Morimura R, Deguchi K, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Circulating microRNAs in plasma of patients with gastric cancers. *Br J Cancer* 2010; 102: 1174-1179.
- 28) Komatsu S, Ichikawa D, Takeshita H, Tsuchiura M, Morimura R, Nagata H, Kosuga T, Iitaka D, Konishi H, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Circulating microRNAs in plasma of patients with oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2011; 105: 104-111.
- 29) Morimura R, Komatsu S, Ichikawa D, Takeshita H, Tsuchiura M, Nagata H, Konishi H, Shiozaki A, Ikoma H, Okamoto K, Ochiai T, Taniguchi H, Otsuji E. Novel diagnostic value of circulating miR-18a in plasma of patients with pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2011; 105: 1733-1740.
- 30) Kawaguchi T, Komatsu S, Ichikawa D, Morimura R, Tsuchiura M, Konishi H, Takeshita H, Nagata H, Arita T, Hirajima S, Shiozaki A, Ikoma H, Okamoto K, Ochiai T, Taniguchi H, Otsuji E. Clinical impact of circulating miR-221 in plasma of patients with pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2013; 108: 361-369.
- 31) Hirajima S, Komatsu S, Ichikawa D, Takeshita H, Konishi H, Shiozaki A, Morimura R, Tsuchiura M, Nagata H, Kawaguchi T, Arita T, Kubota T, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Clinical impact of circulating miR-18a in plasma of patients with oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2013; 108: 1822-1829.
- 32) Tsuchiura M, Komatsu S, Ichikawa D, Shiozaki A, Konishi H, Takeshita H, Morimura R, Nagata H, Kawaguchi T, Hirajima S, Arita T, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Circulating miR-18a in plasma contributes to cancer detection and monitoring in patients with gastric cancer. *Gastric Cancer* 2015; 18: 271-279.
- 33) Okajima W, Komatsu S, Ichikawa D, Miyamae M, Kawaguchi T, Hirajima S, Ohashi T, Imamura T, Kiuchi J, Arita T, Konishi H, Shiozaki A, Morimura R, Ikoma H, Okamoto K, Taniguchi H, Itoh Y, Otsuji E. Circulating microRNA profiles in plasma: identification of miR-224 as a novel diagnostic biomarker in hepatocellular carcinoma independent of hepatic function. *Oncotarget* 2016; 7: 53820-53836.
- 34) Komatsu S, Ichikawa D, Miyamae M, Kawaguchi T, Morimura R, Hirajima S, Okajima W, Ohashi T, Imamura T, Konishi H, Shiozaki A, Ikoma H, Okamoto K, Taniguchi H, Otsuji E. Malignant potential in pancreatic neoplasm; new insights provided by circulating miR-223 in plasma. *Expert Opin Biol Ther* 2015; 15: 773-785.
- 35) Konishi H, Ichikawa D, Komatsu S, Shiozaki A, Tsuchiura M, Takeshita H, Morimura R, Nagata H, Arita T, Kawaguchi T, Hirajima S, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Detection of gastric cancer-associated microRNAs on microRNA microarray comparing pre- and post-operative plasma. *Br J Cancer* 2012 Feb 14; 106: 740-747.
- 36) Komatsu S, Ichikawa D, Hirajima S, Kawaguchi T, Miyamae M, Okajima W, Ohashi T, Arita T, Konishi H, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Yagi N, Otsuji E. Plasma microRNA profiles: identification of miR-25 as a novel diagnostic and monitoring biomarker in oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2014; 111: 1614-1624.
- 37) Miyamae M, Komatsu S, Ichikawa D, Kawaguchi T, Hirajima S, Okajima W, Ohashi T, Imamura T, Konishi H, Shiozaki A, Morimura R, Ikoma H, Ochiai T, Okamoto K, Taniguchi H, Otsuji E. Plasma microRNA profiles: identification of miR-744 as a novel diagnostic and prognostic biomarker in pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2015; 113: 1467-1476.
- 38) Komatsu S, Ichikawa D, Takeshita H, Konishi H, Nagata H, Hirajima S, Kawaguchi T, Arita T, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Prognostic impact of circulating miR-21 and miR-375 in plasma of patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Expert Opin Biol Ther* 2012; 12: S53-59.
- 39) Komatsu S, Ichikawa D, Tsuchiura M, Konishi H, Takeshita H, Nagata H, Kawaguchi T, Hirajima S, Arita T, Shiozaki A, Kubota T, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Prognostic impact of circulating miR-21 in the plasma of patients with gastric carcinoma. *Anticancer*

- Res 2013; 33: 271-276.
- 40) Komatsu S, Ichikawa D, Kawaguchi T, Miyamae M, Okajima W, Ohashi T, Imamura T, Kiuchi J, Konishi H, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Circulating miR-21 as an independent predictive biomarker for chemoresistance in esophageal squamous cell carcinoma. *Am J Cancer Res* 2016; 6: 1511-1523.
- 41) Komatsu S, Ichikawa D, Kawaguchi T, Takeshita H, Miyamae M, Ohashi T, Okajima W, Imamura T, Kiuchi J, Arita T, Konishi H, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Plasma microRNA profiles: identification of miR-23a as a novel biomarker for chemoresistance in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncotarget* 2016; 7: 62034-62048.
- 42) Komatsu S, Ichikawa D, Takeshita H, Morimura R, Hirajima S, Tsujiura M, Kawaguchi T, Miyamae M, Nagata H, Konishi H, Shiozaki A, Otsuji E. Circulating miR-18a: a sensitive cancer screening biomarker in human cancer. *In Vivo* 2014; 28: 293-297.
- 43) Imamura T, Komatsu S, Ichikawa D, Kawaguchi T, Miyamae M, Okajima W, Ohashi T, Arita T, Konishi H, Shiozaki A, Morimura R, Ikoma H, Okamoto K, Otsuji E. Liquid biopsy in patients with pancreatic cancer: Circulating tumor cells and cell-free nucleic acids. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 5627-5641.
- 44) Kawaguchi T, Komatsu S, Ichikawa D, Tsujiura M, Takeshita H, Hirajima S, Miyamae M, Okajima W, Ohashi T, Imamura T, Kiuchi J, Konishi H, Shiozaki A, Okamoto K, Otsuji E. Circulating MicroRNAs: A Next-Generation Clinical Biomarker for Digestive System Cancers. *Int J Mol Sci* 2016; 17: E1459.
- 45) Okajima W, Komatsu S, Ichikawa D, Miyamae M, Ohashi T, Imamura T, Kiuchi J, Nishibeppu K, Arita T, Konishi H, Shiozaki A, Morimura R, Ikoma H, Okamoto K, Otsuji E. Liquid biopsy in patients with hepatocellular carcinoma: Circulating tumor cells and cell-free nucleic acids. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 5650-5668.
- 46) Kosaka N, Iguchi H, Yoshioka Y, Hagiwara K, Takeshita F, Ochiya T. Competitive interactions of cancer cells and normal cells via secretory microRNAs. *J Biol Chem* 2012; 287: 1397-1405.
- 47) Imamura T, Komatsu S, Ichikawa D, Miyamae M, Okajima W, Ohashi T, Kiuchi J, Nishibeppu K, Kosuga T, Konishi H, Shiozaki A, Okamoto K, Fujiwara H, Otsuji E. Low plasma levels of miR-101 are associated with tumor progression in gastric cancer. *Oncotarget* 2017; 8: 106538-106550.
- 48) Imamura T, Komatsu S, Ichikawa D, Miyamae M, Okajima W, Ohashi T, Kiuchi J, Nishibeppu K, Konishi H, Shiozaki A, Morimura R, Ikoma H, Ochiai T, Okamoto K, Taniguchi H, Otsuji E. Depleted tumor suppressor miR-107 in plasma relates to tumor progression and is a novel therapeutic target in pancreatic cancer. *Sci Rep* 2017; 7: 5708.
- 49) Kiuchi J, Komatsu S, Imamura T, Nishibeppu K, Shoda K, Arita T, Kosuga T, Konishi H, Shiozaki A, Okamoto K, Fujiwara H, Ichikawa D, Otsuji E. Low levels of tumour suppressor miR-655 in plasma contribute to lymphatic progression and poor outcomes in oesophageal squamous cell carcinoma. *Mol Cancer* 2019; 18: 2.

著者プロフィール



小松 周平 Shuhei Komatsu

所属・職：京都第一赤十字病院外科 副部長
京都府立医科大学消化器外科 講師（特任）兼任

略歴：1999年 和歌山県立医科大学医学部卒業
2000年 京都第一赤十字病院外科 医員
2003年 長浜赤十字病院外科 医員
2004年 京都府立医科大学消化器外科 医員
2007年 東京医科歯科大学難治疾患研究所（稲澤譲治教授）
特別派遣研究員
食道癌の新規癌関連遺伝子の網羅的探索に関する研究
2010年 京都府立医科大学大学院医学研究科卒業 医学博士
京都府立医科大学消化器外科 上部消化管外科助教
2012年 日本外科学会・海外派遣研究助成により短期留学研修
Massachusetts General Hospital外科（Keith D. Lillemoe教授）
MD Anderson Cancer Center胸部外科（Ara A. Vaporciyan教授）
2013年 京都府立医科大学消化器外科 上部消化管外科助教
2017年 京都第一赤十字病院外科
京都府立医科大学消化器外科講師（特任）兼任 現在に至る

専門分野：胃外科，食道外科，低侵襲外科，外科代謝栄養学，分子標的治療学，Liquid biopsy

- 主な業績：1. [Komatsu S et al.](#) Evaluation of prognostic value and stage migration effect using positive lymph node ratio in gastric cancer. *Eur J Surg Oncol*, **43**: 203-209, 2017.
2. [Komatsu S et al.](#) Positive Lymph Node Ratio as an Indicator of Prognosis and Local Tumor Clearance in N3 Gastric Cancer. *J Gastrointest Surg*, **20**: 1565-1571, 2016.
3. [Komatsu S et al.](#) Clinical outcomes and quality of life according to types of reconstruction following laparoscopy-assisted distal gastrectomy for gastric cancer. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*, **25**: 69-73, 2015.
4. [Komatsu S et al.](#) Differences of the lymphatic distribution and surgical outcomes between remnant gastric cancers and primary proximal gastric cancers. *J Gastrointest Surg*, **16**: 503-508, 2012.
5. [Kawaguchi T, Komatsu S et al.](#) Nodal counts on MDCT as a surrogate marker for surgical curability in gastric cancer. *Ann Surg Oncol*, **19**: 2465-70, 2012.
6. [Komatsu S et al.](#) Progression of remnant gastric cancer is associated with duration of follow-up following distal gastrectomy. *World J Gastroenterol.*, **18**: 2832-2836, 2012.
7. [Kiuchi J, Komatsu S et al.](#) Low levels of tumour suppressor miR-655 in plasma contribute to lymphatic progression and poor outcomes in oesophageal squamous cell carcinoma. *Mol Cancer.*, **18**: 2, 2019.
8. [Komatsu S et al.](#) Overexpression of SMYD2 contributes to malignant outcome in gastric cancer. *Br J Cancer*, **112**: 357-64, 2015.
9. [Komatsu S et al.](#) Plasma microRNA profiles: identification of miR-25 as a novel diagnostic and monitoring biomarker in oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer.*, **111**: 1614-1624, 2014.
10. [Ichikawa D, Komatsu S et al.](#) Circulating microRNA in digestive tract cancers. *Gastroenterology*, **142**: 1074-1078, 2012.
11. [Komatsu S et al.](#) Circulating microRNAs in plasma of patients with oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer*, **105**: 104-11, 2011.
12. [Komatsu S, Imoto I, Inazawa J et al.](#) Overexpression of SMYD2 relates to tumor cell proliferation and malignant outcome of esophageal squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis*, **30**: 1139-1146, 2009.

