

課題番号	LS094
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成25年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	癌の再発・転移に関与する non-coding RNA の同定とその機序解明
研究機関・ 部局・職名	九州大学・大学病院・教授
氏名	三森 功士

1. 当該年度の研究目的

全体の研究計画：本研究は当初、癌の転移再発に関与する non-coding RNA (ncRNA) の同定ということで研究を開始したが、ncRNA を含めた転移・再発特異性の高い新規マーカーを検出するためには、転移カスケードの解明が最重要課題であることに再認識した。その進捗に伴い、転移再発を規定する癌細胞の明確な（単一の）driver 因子は必ずしも存在せず、多様性(heterogeneity)を生み出すシステムの解明こそが癌細胞の進化・進展の解明に最も寄与すると考えられた。

したがって、本研究の申請時の当初目標に加えて原発巣における癌ゲノム・エピゲノムの進化、heterogeneity を生じる clonal evolution と、それによる癌の発生から転移の成立までの機構を解明することを全体の目的とした。特に下記の2点に注目して解析をすすめた。

●転写産物：転移陽性大腸癌症例の原発巣または血液中において過剰発現する、lncRNA、microRNA を含めた全ての転写産物を対象に転移再発に重要な標的分子を同定する

●ゲノムレベル・エピゲノムレベル進化の解明：エキソーム解析により、ゲノム・エピゲノム変異マッピングおよび発現転写産物プロファイルのマッピングを行い、原発巣から転移巣にいたる「進化」および「転移」の過程を明らかにして、最終的に本課題の目的である転移関与ドライバーを同定する。

【大腸癌】 昨年度まで大腸発癌過程において重要な癌関連多型領域より non-coding RNA を同定し、機能解析を併施した。今回、さらに大腸癌原発巣におけるゲノムレベル・エピゲノムレベルにおける原発巣から転移巣にいたる「進化」の過程を明らかにして、non-coding RNA 含む転移に関与するドライバー変異候補を同定する。

【胃 癌】 これまで腹膜播種に関連する non-coding RNA/遺伝子 経路を同定した。今回、胃癌重要な進展形式である腹膜播種につき in vitro または in vivo レベルで癌細胞側の因子を明らかにする。。

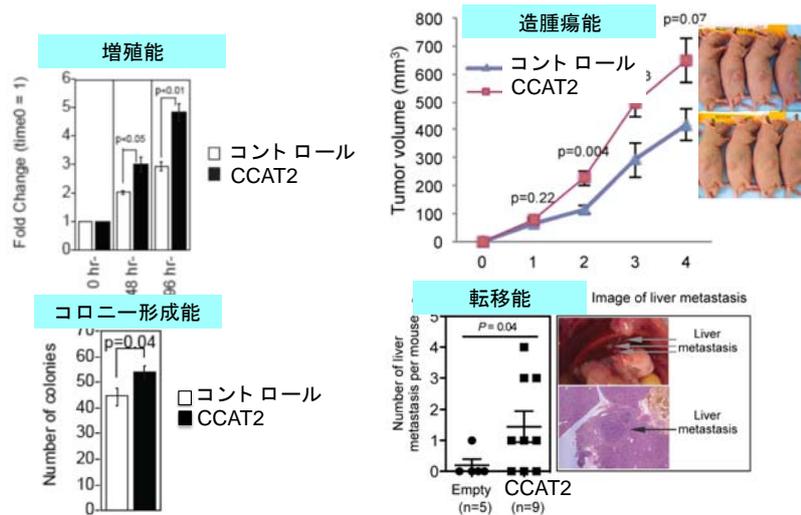
【食道癌】 進展、転移再発を決定するゲノムレベルの変異：144 例の食道癌症例より LMD(うち 59 例)は癌細胞を採取し、全エキソン変異解析を実施。同時に発現遺伝子プロファイル、ゲノム・コピー数変異も明らかにして数理的に食道癌の進化を解明する。

2. 研究の実施状況

【大腸癌】

(1) 発がん関連遺伝子多型 直上の lincRNA 同定:

染色体8番の遺伝子多型直上において存在する転写産物 Colon cancer associated transcripts 2 (CCAT2)を同定した。CCAT2は long non-coding RNA に属し、MSS 陽性の 大腸癌症例において認められ、染色体不安定性に関与している。MSI 陽性大腸癌株化細胞に強制発現させると、MSS 同様の所見を示す様になることを確認した。また、この転写産物は遺伝子多型のアリルの違いにより発現量が異なることを明らかにしており、下流遺伝子として MYC 遺伝子経路が重要であることも明らかにしている。さらに転移再発と発現レベルとの相関もある。oncogenic SNP における世界で最初の ncRNA である。

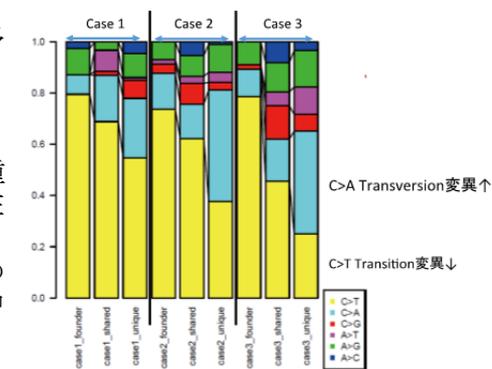
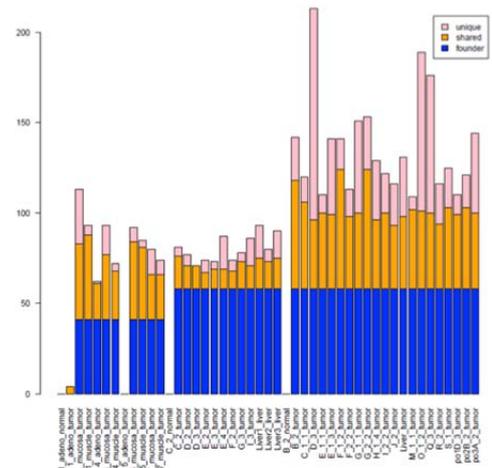


(2) 原発巣から転移巣への進化の解明:

各々の sample の多数に病変について全エクソームシーケンスを行い、突然変異の同定をおこなった。多数の病変についてのエクソームシーケンスを行いその共起性を見ることで、全病変に共通する遺伝子を同定することができる。この遺伝子変異は癌発生初期から腫瘍全体に広がる前の親クローンになるまでの間に起こっており、腫瘍発生初期に重要な役割を担っている可能性が比較的高いと考えられる。本研究ではこのような変異を founder 変異と定義し、逆にすべての病変には存在しない変異を progressor 変異と定義した。さらに progressor 変異の中で、2つ以上の病変に存在する変異を shared 変異、一つの病変にしか存在しない変異を unique 変異と定義した。

それぞれの症例において founder 変異はそれぞれ 41 個、48 個、48 個認め、全変異における founder 変異の割合はそれぞれ 20.4%、28.6%、6.0%であった。sample 3 は shared 変異 190 個 (19.7%)、unique 変異 718 個 (74.3%) という非常に多くの progressor 変異を持っており、20 か所の原発巣それぞれで独自の深い進化を遂げていることがわかる。また sample1、sample2 についても sample3 ほどではないにせよ、progressor 変異が 7~8 割を占めており、同じ腫瘍内でも多様な不均一性 (intratumor heterogeneity) が存在することが明らかになった (右図)。

founder mutation の中には APC, KRAS といった大腸がんの発生に重要な遺伝子が含まれていたが、progressor 変異の中にも TP53, PIK3CA, BRAF 等といった大腸癌が adenoma から進化する過程で重要といわれているような遺伝子が含まれ



様式19 別紙1

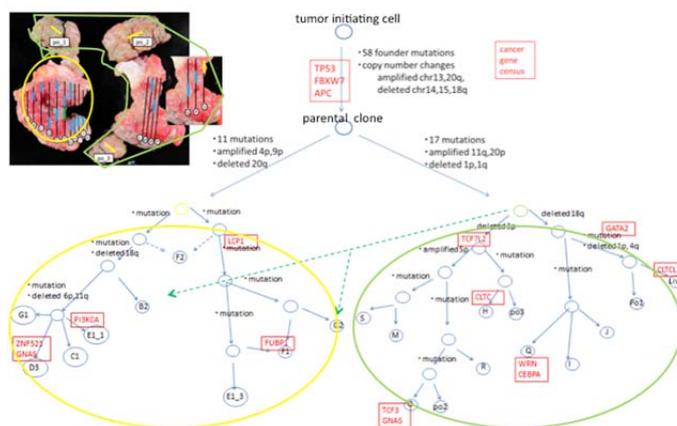
ており、これらの重要な遺伝子が一概に(すべての症例で)発生初期から役割を担っているわけではないことが明らかになった。また本研究における3症例において共起する founder 変異は2症例に認められた APC のみであった。このことから大腸癌は発生初期においてもサンプル間の多様性をもっていることが明らかとなった。

遺伝子変異解析において、変異スペクトラム解析を実施、今回の founder 変異, shared 変異, unique 変異それぞれでスペクトラムの違いを検討した。TCGA の報告によれば大腸癌は一つ後ろの塩基が G の C 塩基(CpG)における C→T(G→A) 変異が変異パターンの多くを占めている。今回の3症例いずれにおいても、founder 変異についてはこのような C→T 変異が多数を占めていたが、比較的新しい変異と考えられる shared 変異, unique 変異となるにしたがって、C→T 変異の割合は減少し、起こりにくいと考えられる C→A(G→T) 変異の割合の上昇を認めた。C→T のようなトランジション変異に比し、C→A のようなトランスバージョン変異は起こりにくい変異とされている。癌進化に伴い通常では起こりにくいような変異がより起こりやすくなることが示唆された。

sample2, sample3 では転移巣の全エキソームシーケンスを行い、その変異パターンを見ることで、ひとつの癌の中のどこの病変が最も転移した細胞に近いかの推察を行った。Sample2 では原発巣において founder 変異以外の肝転移巣と共通する shared 変異を認めることはできなかった。標本取得の際に病理診断に使用した箇所にもにそのような転移巣と共通する shared 変異が含まれていた可能性を考え、肝転移巣3か所に共通してみられる肝転移巣特異的な変異について、病理診断に使用した箇所のパラフィン包埋を用いて、サンガーシーケンスを行った。しかしながら肝転移巣特異的な変異を同定することはできなかった。このことから founder 変異のみを持つ親クローンの時点で肝転移を起こした可能性が高いと考えられた。sample3 については肝転移巣に mutation pattern が非常に近く、肝転移巣とのみ share する変異を9個もつ原発巣病変を同定することができた。この肝転移巣に近い変異を持つ原発巣病変は後述する copy 数解析や methylation 解析においても近い status を持っていることからこの2か所が共通する親クローンを持つことが強固に示唆された。この原発巣と肝転移巣に共通する変異の中で、癌に関連する遺伝子のデータベースである COSMIC の cancer gene census に登録されている遺伝子として GATA2 を同定した。

●copy 数解析

本研究ではレーザーマイクロダイセクションを行うことによって、通常より純度の高い癌組織を用いた実験を行っているが、同一サンプル内の位置の違う病変という細かい違いを見るために、Allele-Specific Copy number Analysis of Tumors という手法を用いて腫瘍含有率を補正することにより、より正確な copy 数の推定を行った。Copy 数解析においても同一症例内の位置の違う病変では異なる copy 数変化を認めることができた。特に sample3 については非常に多様な copy 数異常を認めていた。



●遺伝子変異、copy 数異常の統合解析による系統樹の作成 (右図)

ひとつの症例の中で、共通する copy 数異常を持つ病変については共通する遺伝子変異を持つ場合がほとんどであり、この copy 数異常と、遺伝子変異パターンを大きな矛盾なく統合することにより、別図のような非常に詳細な癌の進化の系統樹を書くことができた。この遺伝子変異パターンおよび copy 数異常パターンから書き上げた sample3 の系統樹をみると、founder 変異のみ持つ親クローンから、大きく違う2つの進化クラスターに分かれることがわかる。これらの違う進化を遂げた2つのクラスターは図のように肉眼的な geographical mapping においてもきれいに分かれた。

●methylation 解析

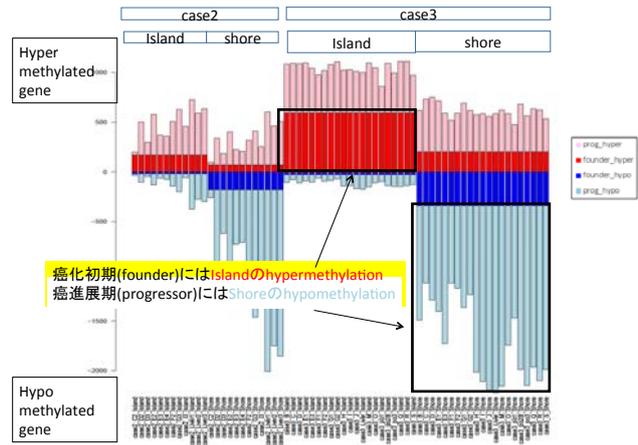
methylation についてもひとつの腫瘍の中で heterogeneity が存在することが明らかになった。また前述のように作成した系統樹の中のクラスターと methylation status によるクラスタリングを比較すると、近い genetic status をもつ病変は、近い methylation status を持つことがあきらかとなった。Genetic な進化と epigenetic な進化は相互に影響し合っていることが明らかになった。

さらに methyl 化には、一般に知られる island と shore とがあり、癌化初期には island の hyper methyl 化、癌進展期には shore の hypo methylation を認めた。

様式19 別紙1

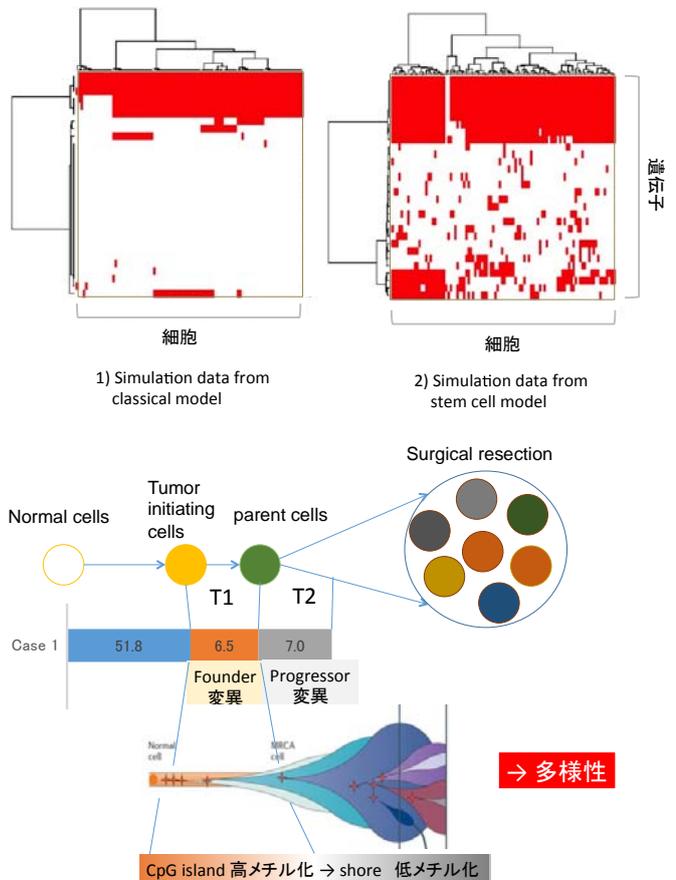
●expression 解析

expression array を用いた発現プロファイルについても一つの腫瘍内での heterogeneity が存在することが明らかになった。また発現プロファイルを用いたクラスターにおいても genetic status を用いて作成した系統樹のクラスターと相関することが示された。発現解析ではひとつずつの遺伝子の発現のみでなく、共同研究者である東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センターの新井田氏の考案した EEM 法を用いて pathway などの module レベルでの解析も行った。この解析により sexpression module レベルでの stem phenotype が必ずしも肝転移に必須ではない可能性が示唆された。下図はエキソーム解析とメチル化解析と発現アレイ (gene set) とを統合したものであるが、エキソームでクラスタリングされたグループは、発現アレイでも同様にクラスタリングされていた。また、肝転移巣癌細胞と市場近いクローンの原発巣癌細胞はともに、E-Cadherin 関連遺伝子群が軒並み低下をしていることを明らかにした。



●数理的解析

統合解析により明らかにされた大腸がん一腫瘍内の heterogeneity を生み出す機構を解明するために、一細胞を一つの agent とする agent based model を用いて細胞を増やしながら腫瘍が成長する様子をシミュレーションにより再現した。各細胞は k 個のドライバー遺伝子を含む n 個の遺伝子を持ち、単位時間あたり確率 g で分裂し確率 d で死ぬと仮定する。更に細胞が分裂する際、変異率 m で各遺伝子にランダムに変異を導入され、ドライバー遺伝子に変異がはいると一変異あたり f 倍に増殖速度 g が増加するとするし、このステップを n 個の細胞が N 個に増えるまで繰り返す。このモデルでは変異遺伝子の組み合わせにより様々なクローンが考えられるが、ドライバー遺伝子群に変異をもつ増殖速度の高いクローンは増殖が早くなるので進化的に選択されてそう出ないクローンと比べて population 内での割合が増える。今回の exome データからは各 region に共通な founder mutation がある一方で各 region に固有 progresser 変異の存在し、一腫瘍内の heterogeneity 生み出している事が明らかとなっている。この現象を裏打ちするメカニズムを解明するために、東大医科研ヒトゲノム解析センターのスーパーコンピューターを用いて、上記のシミュレーションモデルを様々なパラメータセットで実行し、実験データを同様の変異パターン (つまり高い heterogeneity, founder 及び progresser mutation の存在) を生み出す条件を探索した。その結果、1) 変異率 m が高く、2) ドライバー遺伝子の数が高く、d 3) ドライバー変異あたりの増殖率の増加量 f が低いことが実験データと同様なパターンを生み出すのに重要であることがわかった。更に cancer stem cell の存在の変異パターンに与える影響を検討した。上記のシミュレーションモデル (以下 classical model) を拡張し stem cell 及び non-stem cell 二種類の細胞を組み込んだ。cancer stem model では classical モデルと比べ実験データと同様に高い heterogeneity を生み出す傾向が観察された。



最終的にはたとえば症例 3 は、右図のごとく、健常細胞が癌初期化するまでに 51.8 年。多様化を始めるまでの蓄積期間が 6.5 年。さらに多様化をはじめて手術にいたるまでが約 7 年と推察された。

【胃癌】

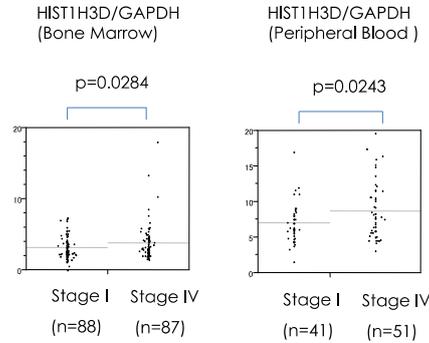
(1)miR760

胃癌骨髄中細胞の次世代シーケンサーによる whole transcriptome 解析 (19870 遺伝子)。Stage I (4 例) vs Stage IV (4 例) の差異により候補遺伝子の抽出 (Fold change>5.0, RPKM>2.0, p<0.05)。その結果、Histone cluster gene を抽出した。その臨床的意義の検証を 175 症例の骨髄中細胞 (Stage I vs IV)、92 症例の末梢血細胞 (Stage I vs IV)、114 症例の原発巣 (All stages) で確認した。

胃癌骨髄 whole transcriptome 解析施行症例

Case No.	Age	Sex	pTNM Stage	Tumor size (diameter)	T	N	M	Peritoneal dissemination	Liver metastasis
GC 33	74	Male	I	57mm	T1	N0	M0	(-)	(-)
GC 72	57	Male	I	60mm	T1	N0	M0	(-)	(-)
GC 53	83	Male	I	53mm	T2	N0	M0	(-)	(-)
GC 155	80	Male	I	60mm	T2	N0	M0	(-)	(-)
GC 57	59	Male	IV	40mm	T3	N2	M1	(-)	(+)
GC 67	74	Male	IV	84mm	T3	N1	M1	(-)	(+)
GC 620	64	Male	IV	101mm	T3	Nx	M1	(+)	(+)
GC 785	67	Male	IV	35mm	T3	N0	M1	(-)	(+)

骨髄・末梢血中 HIST1H3D 発現



Results of univariate and multivariate analysis of clinicopathological factor for 5-year overall survival (Cox proportional regression model)

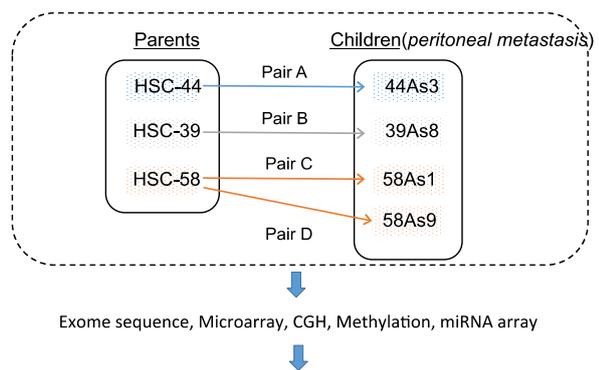
Factors	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	RR	95%CI	p value	RR	95%CI	p value
Age (<65/>65)	0.93	0.68-1.26	0.6276			
Sex (Female/Male)	1.12	0.81-1.60	0.5054			
Tumor size (<5cm/>5cm)	1.63	1.19-2.27	0.0021	0.95	0.62-1.48	0.8316
Histological differentiation (well, mod/por, sig, others)	1.32	0.97-1.83	0.0749			
Tumor depth (T1/T2-T4)	3.31	1.83-8.20	<0.0001	1.13	0.45-5.05	0.8306
Lymphnode metastasis (negative/positive)	6.41	2.98-27.02	<0.0001	3.3	1.45-14.24	0.0016
Lymphatic invasion (negative/positive)	5.05	2.35-21.30	<0.0001	1.59	0.64-7.13	0.3623
Venous invasion (negative/positive)	2.17	1.58-2.98	<0.0001	1.62	1.04-2.56	0.032
miR760 expression (high/low)	1.96	1.23-3.63	0.0035	1.67	1.03-3.11	0.0374

以上の結果、胃癌骨髄中における癌細胞由来の miR760-Histone 遺伝子群を明らかにした。miR760 自身も独立予後予測因子。(Iwaya T. et al. *Clin Cancer Res* 2013)

(2) 腹膜播種ドライバー因子の同定

胃癌患者の生命予後を決める腹膜播種を制圧するために、われわれは胃癌細胞株および動物実験を実施した。他方、シンガポール大タン教授は胃癌 200 症例の全エクソーム、発現アレイのデータを有するが、われわれとの共同研究を合意いただき、数理統合的かつ俯瞰的解析を推進した。

本研究は①胃癌腹膜播種モデルマウスの樹立②腹膜播種性転移細胞株を用いた解析③胃癌腹膜播種モデルマウスの遺伝情報と胃癌臨床検体の遺伝情報の統合解析④確認実験からなる。

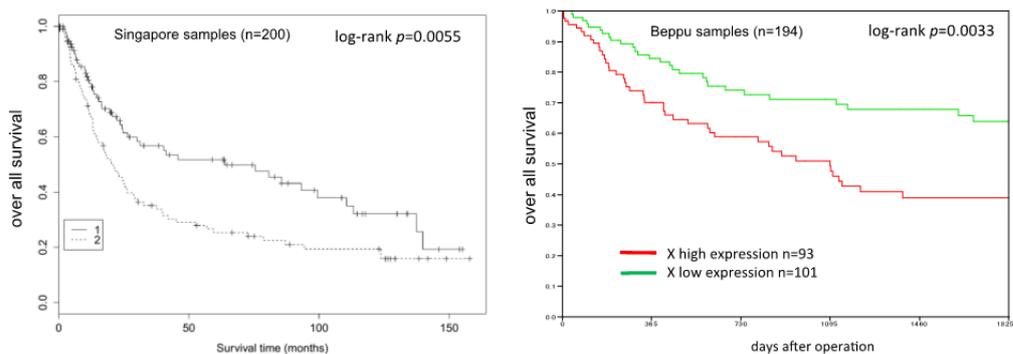


To determine expression signature for peritoneal dissemination

親株 VS、12 回の接種を繰り返して作製した子株との間で作製された株との間で exome seq、メチル化アレイ、SNP、発現遺伝子アレイを実施。

特に、最も差のあった遺伝子に着目したところ、シンガポール大学のサンプルと当科のサンプルの異なる 2 群において、有意差のあることを確認した。

さらに、同遺伝子 X は、coding における突然変異を 10% 有しており、この変異陽性例が特に悪性度が高いことを明らかにした。



スキルス胃癌は若年者に発症し、高い死亡率を有するにも関わらず、これまで解明されている情報は極めて限られており、腹膜播種転移機序については未知な部分が多く、有効な予防法や治療法の確立は依然確立していない。分子メカニズムの解明が遅れている原因としては、細胞株や動物におけるモデルが極めて限られており、また臨床検体での解析用のサンプルを得ることが難しいことが挙げられる。われわれは、これらの課題から、われわれが現在有する細胞生物学的視点、実験動物学的視野に、大規模症例研究の解析による臨床病理学的視点を加えて、スーパーコンピューターを駆使し統合的かつ俯瞰的に現在までになかった全く新しい視点から胃癌腹膜播種の分子メカニズムについて解析を行った。

【食道癌】

1) 食道発癌および癌進展に関わるゲノム変異(特に 17q12 の GRB7 について):

われわれは 10 領域において癌特異的ゲノム変異を認め、11q13.2、7p11.2、3q26.33、17q12 にはそれぞれ CCND1、EGFR、SOX2、ERBB2 遺伝子が局在していた。特に 17q12 において増幅を認め GRB7 遺伝子が細胞増殖能、運動能、浸潤能と関連した。さらに GRB7 特異的阻害により HER2 抗体 trastuzumab の抗腫瘍効果を補助することを明らかにした。さらに GRB7 自身の発現量が予後と関連していた。

2) 食道癌におけるエキソーム解析の結果:

(1) 突然変異解析; 144 例の exome シーケンスの結果、平均の depth は 120.01 で、標的塩基の 91.4% をカバーしている。20,836 個の体細胞変異を検出。0.73-2.79 個/Mb 変異が同定されている。ミスマッチ修復遺伝子 (MLH3, MSH3, MSH6, EXO1, PRA1, PCNA, ATM) 変異のある症例については 3.64 個/Mb と高頻度である。

(2) ドライバー遺伝子の解析; 3261 遺伝子に変異があり、高頻度に recurrent している突然変異遺伝子として、TP53 (75.7%), NOTCH1 (18.7%), MLL2 (18.1%) NFE2L2 (15.9%), ZNF750 (14.6%), FAT1 (13.9%), EP300 (8.3%), CREBBP (7.6%), NOTCH3 (6.9%), TET2 (6.3%), FBXW7 (4.9%), TGFBR2 (4.9%) and CDKN2A (4.9%) が存在した。多くは TSG であった。

(3) コピー数解析; 123 例につき SNP アレイを行い多くの変異を確認した。高頻度に増幅しているのは CCND1, SOX2, PIK3CA, TERT, EGFR および MYC。TGFBR2, CDKN2A, RB1 SMAD はコピー数減である。LOH は 34.4% にあった。TP53, NOTCH1, ZNF750, FAT1, TET2, FBXW7, TGFBR2, CDKN2A は LOH と変異が併存した。LOH が高頻度の存在する症例は突然変異率が高い。

(4) pathway 解析; NOTCH1 経路の変異が多く

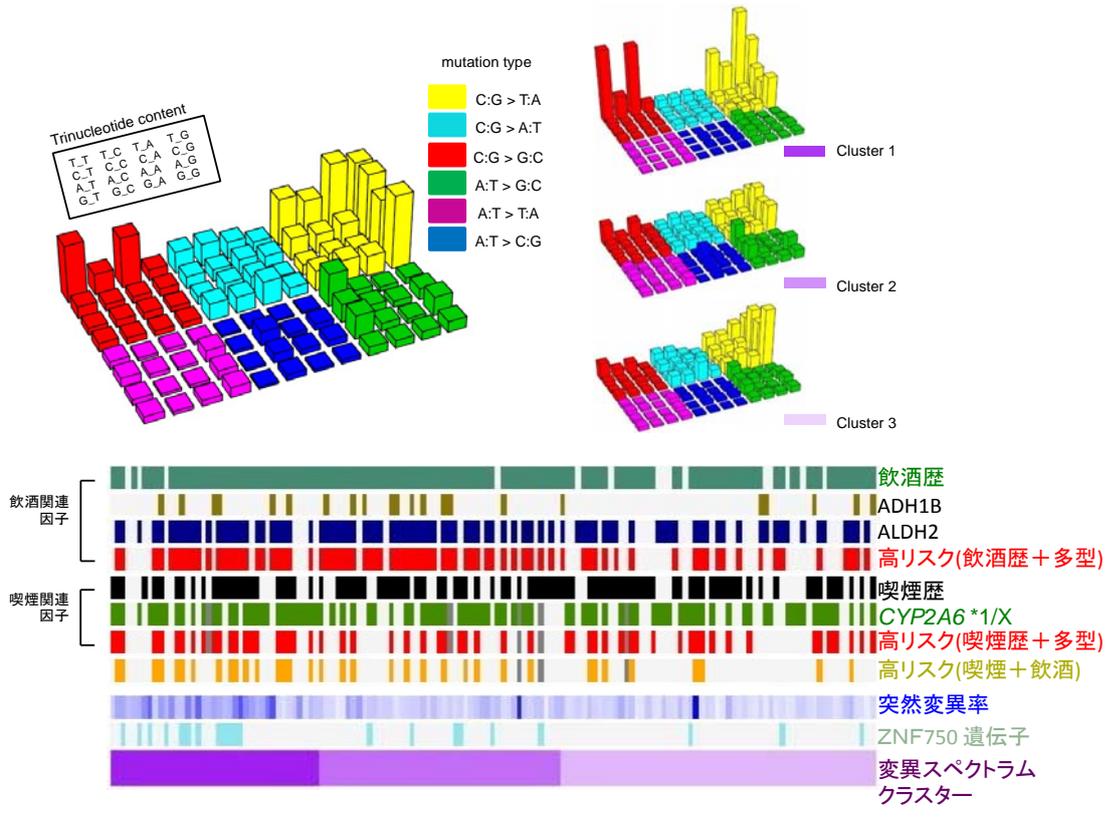
他の扁平上皮癌でもみられた TP63、SOX2、ZNF750 経路に変異があった。ヒストンアセチル化酵素経路 (H3K4)、trithrox group 経路、染色体再構成関連 ARID および CHD 経路 (ポリコム経路には変異はない)。TGFβ 経路、SMAD 経路についても変異が存在した。WNT 経路とそれに関連する FAT フェミリーにも変異が存在した。さらに RTK-PI3K 経路においても変異が散在した。特にコピー数変異が EGFR、ERBB2、PI3K、AKT の増幅と PTEN の減少にみられたが、この経路は治療標的となるだけに今回の発見は極めて有用であった。

3) 飲酒喫煙摂取量および遺伝子多型との三位一体解析の結果:

C→T transition 変異は CpG 配列 (42.1%) に存在する。C→G transversion 変異が (12.2%) に存在し、これは過去の head and neck や肺扁平上皮癌でみられたスペクトラムである。変異スペクトラムで 3 群にクラスタリングできた (Cluster-1 は back-row の変異率が高く、C-3 は CpG に変異率が高い。C-2 はその中間。) C-1 において最も突然変異率が高い。

様式19 別紙1

特に興味深いのは環境因子および遺伝的背景（多型）との関係である。すなわち飲酒喫煙消費量および遺伝子多型とクラスターとの関連である。アルコールと突然変異率との関係がみられたのは、C-1 と C-2 であった。また、多型との関係のみられたのは ALDH2 (rs671) であり AH1B(rs1229984) は無関係。また喫煙発がん高リスク者（CYP2A6 健常代謝）は変異率が高い C1 に有意に多かった。



3. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み－査読有り) 計 26 件
計 26 件	<ol style="list-style-type: none"> 1. Sakashita H, Inoue H, Akamine S, Ishida T, Inase N, Shirao K, Mori M, Mimori K. Identification of the NEDD4L Gene as a Prognostic Marker by Integrated Microarray Analysis of Copy Number and Gene Expression Profiling in Non-small Cell Lung Cancer. <i>Ann Surg Oncol</i>. 2014 Jan 14. 2. Sugimachi K, Niida A, Yamamoto K, Shimamura T, Imoto S, Iinuma H, Shinden Y, Eguchi H, Sudo T, Watanabe M, Tanaka J, Kudo S, Hase K, Kusunoki M, Yamada K, Shimada Y, Sugihara K, Maehara Y, Miyano S, Mori M, Mimori K. Allelic Imbalance at an 8q24 Oncogenic SNP is Involved in Activating MYC in Human Colorectal Cancer. <i>Ann Surg Oncol</i>. 2014 Jan 6. 3. Kagawa Y, Matsumoto S, Kamioka Y, Mimori K, Naito Y, Ishii T, Okuzaki D, Nishida N, Maeda S, Naito A, Kikuta J, Nishikawa K0, Nishimura J, Haraguchi N, Takemasa I, Mizushima T, Ikeda M, Yamamoto H, Sekimoto M, Ishii H, Doki Y, Matsuda M, Kikuchi A, Mori M, Ishii M. Cell cycle-dependent Rho GTPase activity dynamically regulates cancer cell motility and invasion in vivo. <i>PLoS One</i>. 2013 Dec 30;8(12):e83629. 4. Sugimachi K, Yokobori T, Iinuma H, Ueda M, Ueo H, Shinden Y, Eguchi H, Sudo T, Suzuki A, Maehara Y, Mori M, Mimori K. Aberrant Expression of Plastin-3 Via Copy Number Gain Induces the Epithelial-Mesenchymal Transition in Circulating Colorectal Cancer Cells. <i>Ann Surg Oncol</i>. 2013 5. Takahashi Y, Sawada G, Kurashige J, Uchi R, Matsumura T, Ueo H, Takano Y, Eguchi H, Sudo T, Sugimachi K, Yamamoto H, Doki Y, Mori M, Mimori K. Amplification of PVT-1 is involved in poor prognosis via apoptosis inhibition in colorectal cancers. <i>Br J Cancer</i>. 2014 Jan 7;110(1):164-71. 6. Mima K, Fukagawa T, Kurashige J, Takano Y, Uchi R, Ueo H, Matsumura T, Ishibashi M, Sawada G, Takahashi Y, Akiyoshi S, Eguchi H, Sudo T, Sugimachi K, Watanabe M, Ishii H, Mori M, Baba H, Sasako M, Mimori K. Gene expression of bone morphogenic protein 8B in the primary site, peripheral blood and bone marrow of patients with gastric cancer. <i>Oncol Lett</i>. 2013 Aug;6(2):387-392. 7. Iwaya T, Fukagawa T, Suzuki Y, Takahashi Y, Sawada G, Ishibashi M, Kurashige J, Sudo T, Tanaka F, Shibata K, Endo F, Katagiri H, Ishida K, Kume K, Nishizuka S, Iinuma H, Wakabayashi G, Mori M, Sasako M, Mimori K. Contrasting expression patterns of histone mRNA and microRNA 760 in patients with gastric cancer. <i>Clin Cancer Res</i>. 2013 Dec 1;19(23):6438-49. 8. Okano M1, Yamamoto H, Ohkuma H, Kano Y, Kim H, Nishikawa S, Konno M, Kawamoto K, Haraguchi N, Takemasa I, Mizushima T, Ikeda M, Yokobori T, Mimori K, Sekimoto M, Doki Y, Mori M, Ishii H. Significance of INHBA expression in human colorectal cancer. <i>Oncol Rep</i>. 2013 Dec;30(6):2903-8. 9. Takahashi Y, Iwaya T, Sawada G, Kurashige J, Matsumura T, Uchi R, Ueo H, Takano Y, Eguchi H, Sudo T, Sugimachi K, Yamamoto H, Doki Y, Mori M, Mimori K. Up-regulation of NEK2 by microRNA-128 methylation is associated with poor prognosis in colorectal cancer. <i>Ann Surg Oncol</i>. 2014 Jan;21(1):205-12. 10. Uchi R, Kogo R, Kawahara K, Sudo T, Yokobori T, Eguchi H, Sugimachi K, Maehama T, Mori M, Suzuki A, Komune S, Mimori K. PICT1 regulates TP53 via RPL11 and is involved in gastric cancer progression. <i>Br J Cancer</i>. 2013 Oct 15;109(8):2199-206. 11. Sawada G, Ueo H, Matsumura T, Uchi R, Ishibashi M, Mima K, Kurashige J, Takahashi Y, Akiyoshi S, Sudo T, Sugimachi K, Doki Y, Mori M, Mimori K. Loss of

COP1 expression determines poor prognosis in patients with gastric cancer. *Oncol Rep.* 2013 Oct;30(4):1971-5.

12. Takahashi Y, Sawada G, Sato T, Kurashige J, Mima K, Matsumura T, Uchi R, Ueo H, Ishibashi M, Takano Y, Akiyoshi S, Eguchi H, Sudo T, Sugimachi K, Tanaka J, Kudo SE, Doki Y, Mori M, **Mimori K**. Microarray analysis reveals that high mobility group A1 is involved in colorectal cancer metastasis. *Oncol Rep.* 2013 Sep;30(3):1488-96.

13. Sawada G, Ueo H, Matsumura T, Uchi R, Ishibashi M, Mima K, Kurashige J, Takahashi Y, Akiyoshi S, Sudo T, Sugimachi K, Doki Y, Mori M, **Mimori K**. CHD8 is an independent prognostic indicator that regulates Wnt/ β -catenin signaling and the cell cycle in gastric cancer. *Oncol Rep.* 2013 Sep;30(3):1137-42.

14. Nishida N, **Mimori K**, Mori M, Calin GA. EGFR gets in the way of microRNA biogenesis. *Cell Res.* 2013 Oct;23(10):1157-8.

15. Nishio M, Otsubo K, Maehama T, **Mimori K**, Suzuki A. Capturing the mammalian Hippo: elucidating its role in cancer. *Cancer Sci.* 2013 Oct;104(10):1271-7.

16. **Mimori K**, Shinden Y, Eguchi H, Sudo T, Sugimachi K. Biological and molecular aspects of lymph node metastasis in gastro-intestinal cancer. *Int J Clin Oncol.* 2013 Oct;18(5):762-5.

17. Sakashita H, Inoue H, Akamine S, Ishida T, Inase N, Shirao K, Mori M, **Mimori K**. Identification of the NEDD4L gene as a prognostic marker by integrated microarray analysis of copy number and gene expression profiling in non-small cell lung cancer. *Ann Surg Oncol.* 2013 Dec;20 Suppl 3:S590-8.

18. Takahashi Y, Sawada G, Kurashige J, Uchi R, Matsumura T, Ueo H, Takano Y, Akiyoshi S, Eguchi H, Sudo T, Sugimachi K, Doki Y, Mori M, **Mimori K**. Paired related homeobox 1, a new EMT inducer, is involved in metastasis and poor prognosis in colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2013 Jul 23;109(2):307-11.

19. Ling H1, Spizzo R, Atlasi Y, Nicoloso M, Shimizu M, Redis RS, Nishida N, Gafà R, Song J, Guo Z, Ivan C, Barbarotto E, De Vries I, Zhang X, Ferracin M, Churchman M, van Galen JF, Beverloo BH, Shariati M, Haderk F, Estecio MR, Garcia-Manero G, Patijn GA, Gotley DC, Bhardwaj V, Shureiqi I, Sen S, Multani AS, Welsh J, Yamamoto K, Taniguchi I, Song MA, Gallinger S, Casey G, Thibodeau SN, Le Marchand L, Tiirikainen M, Mani SA, Zhang W, Davuluri RV, **Mimori K**, Mori M, Sieuwerts AM, Martens JW, Tomlinson I, Negrini M, Berindan-Neagoe I, Foekens JA, Hamilton SR, Lanza G, Kopetz S, Fodde R, Calin GA.) CCAT2, a novel noncoding RNA mapping to 8q24, underlies metastatic progression and chromosomal instability in colon cancer. *Genome Res.* 2013 Sep;23(9):1446-61.

20. Haraguchi N1, Ishii H, **Mimori K**, Ohta K, Uemura M, Nishimura J, Hata T, Takemasa I, Mizushima T, Yamamoto H, Doki Y, Mori M. CD49⁺ positive cell population efficiently enriches colon cancer-initiating cells. *Int J Oncol.* 2013 Aug;43(2):425-30.

21. Takahashi Y1, Sawada G, Kurashige J, Matsumura T, Uchi R, Ueo H, Ishibashi M, Takano Y, Akiyoshi S, Iwaya T, Eguchi H, Sudo T, Sugimachi K, Yamamoto H, Doki Y, Mori M, **Mimori K**. Tumor-derived tenascin-C promotes the epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer cells. *Anticancer Res.* 2013 May;33(5):1927-34.

22. Ishibashi M1, Kogo R, Shibata K, Ueo H, Uchi R, Matsumura T, Takano Y, Sawada G, Takahashi Y, Mima K, Kurashige J, Akiyoshi S, Iwaya T, Eguchi H, Sudo T, Sugimachi K, Suzuki A, Wakabayashi G, Mori M, **Mimori K**. Clinical significance of

	<p>PICT1 in patients of hepatocellular carcinoma with wild-type TP53. <i>Ann Surg Oncol.</i> 2013 Dec;20 Suppl 3:S537-44.</p> <p>23. Yokobori T, Iinuma H, Shimamura T, Imoto S, Sugimachi K, Ishii H, Iwatsuki M, Ota D, Ohkuma M, Iwaya T, Nishida N, Kogo R, Sudo T, Tanaka F, Shibata K, Toh H, Sato T, Barnard GF, Fukagawa T, Yamamoto S, Nakanishi H, Sasaki S, Miyano S, Watanabe T, Kuwano H, <u>Mimori K</u>, Pantel K, Mori M. Platin3 is a novel marker for circulating tumor cells undergoing the epithelial-mesenchymal transition and is associated with colorectal cancer prognosis. <i>Cancer Res.</i> 2013 Apr 1;73(7):2059-69.</p> <p>24. Sugimachi K,...<u>Mimori K</u> (6 番目/7 名) Significance of hepatic resection for hepatocellular carcinoma with sustained virological response to interferon therapy for chronic hepatitis C. <i>Hepatol Res.</i> 2013 Jun;43(6):605-9.</p> <p>25. Takatsuno Y1, <u>Mimori K</u>, Yamamoto K, Sato T, Niida A, Inoue H, Imoto S, Kawano S, Yamaguchi R, Toh H, Iinuma H, Ishimaru S, Ishii H, Suzuki S, Tokudome S, Watanabe M, Tanaka J, Kudo SE, Mochizuki H, Kusunoki M, Yamada K, Shimada Y, Moriya Y, Miyano S, Sugihara K, Mori M. The rs6983267 SNP is associated with MYC transcription efficiency, which promotes progression and worsens prognosis of colorectal cancer. <i>Ann Surg Oncol.</i> 2013 Apr;20(4):1395-402.</p> <p>26. Ishibashi M1, Kogo R, Shibata K, Ueo H, Uchi R, Matsumura T, Takano Y, Sawada G, Takahashi Y, Mima K, Kurashige J, Akiyoshi S, Iwaya T, Eguchi H, Sudo T, Sugimachi K, Suzuki A, Wakabayashi G, Mori M, <u>Mimori K</u>. Expression of mesenchymal markers vimentin and fibronectin: the clinical significance in esophageal squamous cell carcinoma. <i>Ann Surg Oncol.</i> 2013 Dec;20 Suppl 3:S324-35.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 34 件</p>	<p>専門家向け 計 34 件</p> <p>1. 肝細胞癌術後再発を予測する新たなバイオマーカーとなる血清中マイクロRNAの解析 杉町圭史、松村多恵、石橋正久、上尾裕紀、高野裕樹、美馬浩介、藏重淳二、高橋佑典、澤田元太、秋吉清百合、江口英利、主藤朝也、調憲、落谷孝広、前原喜彦、<u>三森功士</u> 第113回日本外科学会定期学術集会 2013. 4. 11~13 福岡</p> <p>2. 胃癌におけるCD47発現の臨床学的重要性 主藤朝也、高橋佑典、澤田元太、石橋正久、松村多恵、藏重淳二、美馬浩介、上尾裕紀、高野裕樹、内龍太郎、秋吉清百合、杉町圭史、白水和雄、<u>三森功士</u> 第113回日本外科学会定期学術集会 2013. 4. 11~13 福岡</p> <p>3. 大腸発癌関連遺伝子多型8q24からみた新しい発癌機構について <u>三森功士</u>、松村多恵、上尾裕紀、高野裕樹、内龍太郎、美馬浩介、藏重淳二、福永光子、石橋正久、澤田元太、高橋佑典、甲斐裕一郎、秋吉清百合、江口英利、主藤朝也、杉町圭史 第113回日本外科学会定期学術集会 2013. 4. 11~13 福岡</p>

	<p>4. 大腸癌細胞におけるMycとの合成致死作用遺伝子の同定 高橋佑典、澤田元太、石橋正久、藏重淳二、美馬浩介、松村多恵、上尾裕紀、内龍太郎、高野裕樹、秋吉清百合、杉町圭史、主藤朝也、柴田浩平、森正樹、<u>三森功士</u> 第113回日本外科学会定期学術集会 2013. 4. 11~13 福岡</p> <p>5. 胃癌骨髄におけAP-1構成遺伝子Fos/Junの発現と癌間質細胞を標的とする新規治療法の確立 藏重淳二、深川剛生、主藤朝也、杉町圭史、柴田浩平、塩澤俊一、笹子三津留、森正樹、馬場秀夫、<u>三森功士</u> 第113回日本外科学会定期学術集会 2013. 4. 11~13 福岡</p> <p>6. 大腸癌症例におけるGAB2発現の検討 松村多恵、内龍太郎、上尾裕紀、高野裕樹、石橋正久、澤田元太、高橋佑典、美馬浩介、藏重淳二、秋吉清百合、主藤朝也、杉町圭史、柴田浩平、森正樹、<u>三森功士</u> 第113回日本外科学会定期学術集会 2013. 4. 11~13 福岡</p> <p>7. 大腸癌のリンパ節転移を予測する遺伝子の同定 高野裕樹、<u>三森功士</u>、内龍太郎、上尾裕紀、石橋正久、松村多恵、美馬浩介、澤田元太、高橋佑典、藏重淳二、秋吉清百合、杉町圭史、主藤朝也、柴田浩平、矢永勝彦 第113回日本外科学会定期学術集会 2013. 4. 11~13 福岡</p> <p>8. 癌細胞を可視化する新規蛍光probe (glu-HMRG) を用いた乳癌術中迅速診断法の開発～乳腺断端とセンチネルリンパ節の検索への応用～ 上尾裕紀、高橋佑典、澤田元太、石橋正久、藏重淳二、松村多恵、美馬浩介、内龍太郎、高野裕樹、秋吉清百合、杉町圭史、主藤朝也、柴田浩平、甲斐裕一郎、洪田健二、上尾裕昭、東保太郎、蒲池綾子、浦野泰照、<u>三森功士</u> 第113回日本外科学会定期学術集会 2013. 4. 11~13 福岡</p> <p>9. 野生型p53を有する消化器癌においてPICT1遺伝子発現は予後予測因子となる 石橋正久、古後龍之介、柴田浩平、内龍太郎、上尾裕紀、高野裕樹、松村多恵、美馬浩介、高橋佑典、澤田元太、藏重淳二、秋吉清百合、主藤朝也、杉町圭史、<u>三森功士</u>、鈴木聡、若林剛、森正樹 第113回日本外科学会定期学術集会 2013. 4. 11~13 福岡</p> <p>10. 再発乳癌症例の骨髄細胞および原発巣癌細胞において共に発現低下するmicroRNAについて 秋吉清百合、甲斐裕一郎、上尾裕紀、石橋正久、松村多恵、高橋佑典、杉町圭史、主藤朝也、前原喜彦、<u>三森功士</u> 第113回日本外科学会定期学術集会 2013. 4. 11~13 福岡</p>
--	---

	<p>11. 骨髄を用いた肝細胞癌の再発・転移に関連するmicroRNAの検索とその意義の検証 杉町圭史、石橋正久、友國晃、山下晋也、江口英利、主藤朝也、森正樹、<u>三森功士</u> 第34回癌免疫外科研究会 2013. 5. 16~17 岡山</p> <p>12. 肝細胞癌の酸化ストレスにおける鉄代謝遺伝子FBXL5発現以上の役割と臨床的意義の解析 杉町圭史、石橋正久、江口英利、調憲、前原喜彦、<u>三森功士</u> 第25回日本肝胆膵外科学会学術集会 2013. 6. 12~14 栃木・宇都宮</p> <p>13. 大腸癌における上皮間葉移行誘導遺伝子Plastin3の血中異常発現の意義と「がん肝細胞性」の獲得 杉町圭史、横堀武彦、松村多恵、石橋正久、内龍太郎、高野裕樹、上尾裕紀、澤田元太、高橋佑典、藏重淳二、秋吉清百合、主藤朝也、江口英利、森正樹、前原喜彦、<u>三森功士</u> 第22回日本がん転移学会学術集会 2013. 7. 11~12 松本</p> <p>14. 食道扁平上皮癌におけるNOTCH1遺伝子異常の解析 岩谷岳、澤田元太、高橋佑典、鴻巣正史、秋山有史、木村佑輔、佐々木章、森正樹、<u>三森功士</u>、若林剛 第67回日本食道学会学術集会 2013. 6. 13~14 大阪</p> <p>15. 食道癌におけるaCGHと発現アレイを用いた網羅的遺伝子解析 澤田元太、松村多恵、高橋佑典、藏重淳二、秋吉清百合、主藤朝也、杉町圭史、土岐祐一郎、森正樹、<u>三森功士</u> 第67回日本食道学会学術集会 2013. 6. 13~14 大阪</p> <p>16. 胃癌におけるPICT1の予後予測因子としての有用性と治療標的としての可能性 内龍太郎、<u>三森功士</u> 第17回日本がん分子標的治療学会 2013. 6. 12~14 京都</p> <p>17. 食道癌におけるaCGHと発現アレイを用いた網羅的遺伝子解析 主藤朝也、澤田元太、高橋佑典、石橋正久、藏重淳二、美馬浩介、内龍太郎、藤田博正、白水和本雄、<u>三森功士</u> 第68回日本消化器外科学会総会 2013. 7. 17~19 宮崎</p> <p>18. 食道癌におけるCDCP1の発現意義 澤田元太、高橋佑典、藏重淳二、秋吉清百合、江口英利、主藤朝也、杉町圭史、土岐祐一郎、森正樹、<u>三森功士</u> 第68回日本消化器外科学会総会 2013. 7. 17~19 宮崎</p> <p>19. 大腸癌と糖尿病との交互作用に関する包括的遺伝子解析</p>
--	--

	<p>江口英利、主朝也、藏重淳二、石橋正久、澤田元太、高橋佑典、杉町圭史、北野正剛、<u>三森功士</u> 第68回日本消化器外科学会総会 2013.7.17~19 宮崎</p>
20.	<p>胃癌骨髄中宿主細胞における転写因子AP-1 (Fos/Jun) を標的とした新規治療法の確立 藏重淳二、深川剛生、主藤朝也、杉町圭史、江口英利、笹子三津留、森正樹、馬場秀夫、<u>三森功士</u> 第68回日本消化器外科学会総会 2013.7.17~19 宮崎</p>
21.	<p>合成致死作用遺伝子を標的とした大腸癌進展・転移のドライバー遺伝子MYCの抑制 高橋佑典、澤田元太、藏重淳二、美馬浩介、石橋正久、主藤朝也、杉町圭史、土岐祐一郎、森正樹、<u>三森功士</u> 第68回日本消化器外科学会総会 2013.7.17~19 宮崎</p>
22.	<p>マイクロRNAを介した大腸癌転移カスケードの解明 高野裕樹、石橋正久、美馬浩介、澤田元太、高橋佑典、藏重淳二、杉町圭史、主藤朝也、矢永勝彦、<u>三森功士</u> 第68回日本消化器外科学会総会 2013.7.17~19 宮崎</p>
23.	<p>骨髄中におけるmicroRNAおよび遺伝子の包括的統合解析による肝細胞癌の再発に関与する宿主側因子の解明 杉町圭史、友國晃、石橋正久、山下晋也、江口英利、主藤朝也、調憲、前原喜彦、森正樹、<u>三森功士</u> 第68回日本消化器外科学会総会 2013.7.17~19 宮崎</p>
24.	<p>乳癌肝転移により脾機能亢進症に対して腹腔鏡下脾臓摘出手術を施行した1例 江口英利、杉町圭史、新田吉陽、主藤朝也、<u>三森功士</u> 第23回吸収内視鏡下外科手術研究会 2013.8.23~24 鹿児島</p>
25.	<p>胃癌におけるCD47発現の臨床学的重要性 主藤朝也、藏重淳二、高橋佑典、澤田元太、上尾裕紀、高野裕樹、松村多恵、内龍太郎、上田正射、崎村正太郎、江口英利、杉町圭史、白水和雄、<u>三森功士</u> 第24回日本消化器癌発生学会総会 2013.9.5~6 金沢</p>
26.	<p>胃癌において癌関連線維芽細胞はEMTを制御するmicroRNA-200bの発現を抑制する 藏重淳二、主藤朝也、高橋佑典、澤田元太、杉町圭史、江口英利、八代正和、平川弘聖、馬場秀夫、<u>三森功士</u> 第24回日本消化器癌発生学会総会 2013.9.5~6 金沢</p>
27.	<p>大腸癌の循環血液中のPlastin3の異常発現は上皮間葉移行を誘導し予後不良因子となる</p>

	<p>杉町圭史、横堀武彦、江口英利、主藤朝也、飯沼久恵、佐々木慎、森正樹、前原喜彦、<u>三森功士</u> 第72回日本癌学会学術集会 2013.10.3~5 横浜</p> <p>28. 大腸がんにおいてYHAZの高発現は8q22のcopy数増幅と相関し、予後不良因子となる 内龍太郎、江口英利、<u>三森功士</u> 第72回日本癌学会学術集会 2013.10.3~5 横浜</p> <p>29. Rho交換因子であるVav2とVav3発現の臨床的意義 上尾裕紀、江口英利、上尾裕昭、主藤朝也、杉町圭史、前原喜彦、<u>三森功士</u> 第72回日本癌学会学術集会 2013.10.3~5 横浜</p> <p>30. 癌関連線維芽細胞はmiR-200bの発現を低下させ、胃癌の浸潤転移に影響を与える 藏重淳二、主藤朝也、高橋佑典、澤田元太、杉町圭史、江口英利、八代正和、平川弘聖、馬場秀夫、<u>三森功士</u> 第72回日本癌学会学術集会 2013.10.3~5 横浜</p> <p>31. 大腸癌の転移再発と関連する血清中exosome内microRNAの解析 松村多恵、杉町圭史、内龍太郎、上尾裕紀、高野裕樹、澤田元太、高橋佑典、藏重淳二、飯沼久恵、落谷孝広、土岐祐一郎、森正樹、<u>三森功士</u> 第72回日本癌学会学術集会 2013.10.3~5 横浜</p> <p>32. 胃癌症例におけるCD47の末梢血、骨髄の発現意義 主藤朝也、藏重淳二、高橋佑典、上田正射、江口英利、杉町圭史、白水和雄、<u>三森功士</u> 第72回日本癌学会学術集会 2013.10.3~5 横浜</p> <p>33. 肝細胞癌におけるPRRX1の発現異常とがん幹細胞性・治療泰生の獲得に関する検討 平田秀成、杉町圭史、内龍太郎、松村多恵、新田吉陽、江口英利、主藤朝也、平川雅和、本田浩、<u>三森功士</u> 第16回癌治療増感研究シンポジウム 2014.2.7~8 奈良</p> <p>34. 乳癌骨髄癌症の3例 新田吉陽、上尾裕紀、松村多恵、高野裕樹、藏重淳二、江口英利、主藤朝也、杉町圭史、田中文明、<u>三森功士</u> 第11回日本乳癌学会九州地方会 2014.3.1~2 福岡</p> <p>一般向け 計0件</p>
--	---

様式19 別紙1

図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状 況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	
国民との科 学・技術対話 の実施状況	(1) 本学のWebサイトの中に、特色ある研究の取り組みとして、本プログラムの内容を公開し、さらに本学のYou Tube 公式チャンネルを利用した動画配信も行うことにより、研究目的・研究内容・研究成果の発信のサポートを行っている。 (2) インターネット上での研究成果の継続的な発信を実施。
新聞・一般雑 誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	113,000,000	86,600,000	26,400,000	0	0
間接経費	33,900,000	25,980,000	7,920,000	0	0
合計	146,900,000	112,580,000	34,320,000	0	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	10,198,332	26,400,000	0	36,598,332	36,598,332	0	0
間接経費	0	7,920,000	0	7,920,000	7,920,000	0	0
合計	10,198,332	34,320,000	0	44,518,332	44,518,332	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	27,014,476	セルソーターシステム、実験試薬、実験用消耗品
旅費	1,416,024	研究会旅費、研究打合せ旅費等
謝金・人件費等	4,749,377	テクニカルスタッフ人件費
その他	3,418,455	電子計算機利用費等
直接経費計	36,598,332	
間接経費計	7,920,000	
合計	44,518,332	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
水道水直結型超純 水製造装置	Milli-Q Direct シ ステム ムルクミリア	1	1,499,400	1,499,400	2013/4/15	九州大学
セルソーターシス テム	SH-800	1	21,735,000	21,735,000	2013/7/11	九州大学
				0		