

令和元年6月4日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15956

研究課題名(和文)新規大腸がん関連遺伝子と腸内細菌叢の解析による多発大腸がん発生機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of developmental mechanism for multiple colorectal cancers by analysis of novel colorectal cancer related genes and intestinal flora

研究代表者

青木 敬則 (Aoki, Hironori)

札幌医科大学・医学部・研究員

研究者番号：40749496

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：内視鏡的に採取された大腸腫瘍を対象として、多発大腸がん症例の腫瘍部、背景正常粘膜の全エクソンシーケンス、全トランスクリプトーム解析を施行した。

全エクソンシーケンス解析から、多発大腸がん症例のがん部、背景正常大腸粘膜に共通する変異として、遺伝子Aを同定した。同定した遺伝子Aの一塩基多型をパイロシーケンサーを用いて検討したところ表面型腫瘍および多発大腸がんとは極めて高い相関を示すことを見いだした。また、全トランスクリプトーム解析から、遺伝子Aの遺伝子型によって正常大腸粘膜で発現が異なる遺伝子272個を抽出し、Gene Ontology解析で免疫システム・免疫応答と高い相関を示すことが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

表面型大腸腫瘍は一般的なadenoma-carcinomaシーケンスとは異なる分子進化を辿る可能性が指摘されているが、その詳細は明らかではない。SNPデータベースから、表面型腫瘍および多発大腸がんに関連する遺伝子Aの遺伝子型はアジア人に特有であり、欧米人には稀とされている。本研究の成果は日本人の多発表面型ポリポーシスの分子基盤解明に影響を及ぼすと考えられ、我が国のがん医療にフィードバックしうると考える。

研究成果の概要(英文)：We performed whole-exon sequencing and whole-transcriptome analysis of the tumor area of multiple colorectal cancer cases and background normal mucous membranes for endoscopically collected colorectal tumors.

Gene A was identified as a mutation common to the cancerous part of multiple colorectal cancer cases and background normal colorectal mucosa from whole exon sequence analysis. When the single nucleotide polymorphism of the identified gene A was examined using a pyrosequencer, it was found to show extremely high correlation with superficial tumors and multiple colorectal cancers. In addition, it was found from whole transcriptome analysis that 272 genes whose expression was different in normal colon mucosa were extracted depending on the genotype of gene A, and gene ontology analysis showed high correlation with immune system and immune response.

研究分野：医学

キーワード：多発大腸がん 腸内細菌叢

1. 研究開始当初の背景

ヒトマイクロバイオーム解析の進歩により健常人の常在菌のゲノム情報が明らかとなりつつあり、腸内細菌叢の変化と発がんの関連が国内外から多数報告されている(Nature, 2013)。大腸がんにおいても Fusobacterium 感染が発がんに関与している可能性が報告されている(Genome Res, 2012)。申請者の所属する研究室では、Fusobacterium 陽性の大腸がんが高率に CpG アイランドメチル化形質、MLH1 メチル化およびマイクロサテライト不安定性を示す一方、p53 変異は低頻度であるなど、特徴的な分子所見を示すことを報告した(Tahara et al. Cancer Res, 2014)。しかし腸内細菌叢がどのように大腸発がんに関与するのか、分子メカニズムはいまだに不明である。

2. 研究の目的

近年、腸内細菌叢と大腸がんとの相関が注目されている。大腸表面型腫瘍は多発する傾向にあり、多発大腸がんに至るリスクが高いことから、効果的な予防・早期発見・治療法の確立が求められているが、その分子メカニズムには不明な点が多い。これまで申請者らは、隆起型腫瘍と表面型腫瘍のゲノムおよびトランスクリプトームを比較解析し、表面型腫瘍および多発大腸がん発生に腸内免疫応答と腸内細菌叢が関与している可能性を見いだした。本研究では新規大腸がん関連遺伝子である遺伝子 A および腸内細菌叢と大腸発がんとの相関を明らかにし、多発がん発生メカニズムの解明およびリスク予測法・早期診断法開発につなげることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 臨床検体の採取

内視鏡的に診断・生検・切除された大腸腫瘍および単発・多発大腸がんを解析対象とし、大腸腫瘍および単発・多発大腸がん組織の DNA および RNA を抽出した。また、健常者、大腸腫瘍・大腸がん患者より採取した便および粘膜洗浄液から DNA を抽出した。

(2) 大腸腫瘍および単発・多発大腸がん組織を用いた全エクソンシーケンス、全トランスクリプトーム解析

(1)で採取した大腸腫瘍および単発・多発大腸がんの検体を用いて、多発大腸がん症例の腫瘍部、背景正常粘膜の全エクソンシーケンス、全トランスクリプトーム解析を施行した。

(3) 便および粘膜洗浄液を用いた腸内細菌叢のメタゲノム解析

(1)で採取した便および粘膜洗浄液の検体を用いて、腸内細菌叢のメタゲノム解析を行った。

4. 研究成果

(1) 大腸腫瘍および単発・多発大腸がん組織を用いた全エクソンシーケンス、全トランスクリプトーム解析

全エクソンシーケンス解析から、多発大腸がん症例のがん部、背景正常大腸粘膜に共通する変異として、遺伝子 A を同定した。同定した遺伝子 A の一塩基多型をパイロシーケンサーを用いて多数例で検討したところ表面型腫瘍および多発大腸がんと極めて高い相関を示すことを見いだした。

次に遺伝子 A の一塩基多型による大腸粘膜の遺伝子発現への影響をみるために、全トランスクリプトーム解析を行った。遺伝子 A の遺伝子型によって正常大腸粘膜で発現が異なる遺伝子 272 個を抽出し、Gene Ontology (GO) 解析を行った結果、免疫システム・免疫応答と高い相関を示すことが判明した。

(2) 便および粘膜洗浄液を用いた腸内細菌叢のメタゲノム解析

16S rRNA 遺伝子を用いた腸内細菌叢のメタゲノム解析を施行したところ、遺伝子 A の遺伝子型により腸内細菌叢のパターンが異なることが示唆された。

遺伝子 A は溶菌活性を持つ酵素に特徴的な LysM ドメインを持つことから、腸内細菌叢に対する防御や腸管免疫に関与していることが推測される。これらの結果から、腸管免疫関連遺伝子と腸内細菌叢の相互作用が、表面型腫瘍および多発大腸がん発生に関与していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計5件)

Harada T, Yamamoto E, Aoki H(員数 21, 4 番目) et al.

Surface microstructures are associated with mutational intratumoral heterogeneity

in colorectal tumors.
J Gastroenterol 53: 1241-1252, 2018. 査読あり
DOI:10.1007/s00535-018-1481-z
Aoki H(員数 22, 1 番目), Yamamoto E, Yamano HO et al.
Subtypes of the Type II Pit Pattern Reflect Distinct Molecular Subclasses in the Serrated Neoplastic Pathway.
Dig Dis Sci. 63: 1920-1928, 2018. 査読あり
DOI:10.1007/s10620-018-5016-5.
Aoki H(員数 21, 1 番目), Yamamoto E, Takasawa A et al.
Epigenetic silencing of *SMOC1* in traditional serrated adenoma and colorectal cancer.
Oncotarget 9: 4707-4721, 2017. 査読あり
DOI:10.18632/oncotarget.23523.
Tanaka Y, Yamano HO, Aoki H(員数 14, 5 番目) et al.
Surface microstructures are associated with mutational intratumoral heterogeneity in colorectal tumors.
Gastrointest Endosc. 86: 1131-1138, 2017. 査読あり
Kai M, Yamamoto E, Aoki H(員数 16, 8 番目) et al.
Epigenetic silencing of diacylglycerol kinase gamma in colorectal cancer.
Mol Carcinog. 56: 1743-1752, 2017. 査読あり

〔学会発表〕(計 6 件)

- (1) 青木敬則 他. 組織型から見た大腸 T1 癌の転移・再発に関する検討. 第 26 回日本消化器関連学会週間: 2018 年 11 月 1 日-4 日: 神戸コンベンションセンター(兵庫県・神戸市)
- (2) Aoki H et al. Endoscopic and molecular characteristics during the development of traditional serrated adenoma. 26th UEG Week: 2018 Oct 20-24: Vienna(Austria).
- (3) 青木敬則 他. *SMOC1* のエピジェネティックなサイレンシングは大腸鋸歯状腺腫の発育進展に関与する. 第 77 回日本癌学会学術総会: 2018 年 9 月 27 日-29 日: 大阪国際会議場(大阪府・大阪市)
- (4) Aoki H et al. Endoscopic and molecular characteristics in colorectal serrated lesions represent subclasses of the serrated neoplasia pathway. 25th UEG Week: 2017 Oct 28-Nov 1: Barcelona (Spain).
- (5) 青木敬則 他. 低分化成分を有する大腸 SM(T1)癌のリスク因子の検討. 第 25 回日本消化器関連学会週間: 2017 年 10 月 12 日-15 日: 福岡国際センター・福岡サンパレス・福岡国際会議場・マリメッセ福岡(福岡県・福岡市)
- (6) 青木敬則 他. *SMOC1* のエピジェネティックなサイレンシングは大腸鋸歯状腺腫の発育進展に関連する. 第 76 回日本癌学会学術総会: 2017 年 9 月 28 日-30 日: パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

〔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

<http://web.sapmed.ac.jp/biochem2/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名: 鈴木 拓

ローマ字氏名: SUZUKI, Hironu

研究協力者氏名: 山本 英一郎

ローマ字氏名: YAMAMOTO, Eiichiro

研究協力者氏名: 山野 泰穂

ローマ字氏名：YAMANO, Hiro-o

研究協力者氏名：菅井 有

ローマ字氏名：SUGAI, Tamotsu

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。