

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 12 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09188

研究課題名(和文) 癌関連線維芽細胞によるWntシグナル経路を介した大腸癌転移促進機構の解明

研究課題名(英文) Mechanisms of metastasis promoted by cancer associated fibroblast via Wnt signal pathway in colorectal cancer

研究代表者

武者 宏昭 (MUSHA, Hiroaki)

東北大学・医学系研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：30724322

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：大腸癌患者の手術検体から得られた癌関連線維芽細胞(CAF)を培養し、遺伝子発現を解析したところ、Wnt2およびWnt5aがCAFで高発現していた。大腸癌患者で検討を行ったところ、Wnt2またはWnt5aが高発現している患者では癌の進行や転移に関連する因子が促進していることが示唆された。続いて、Wnt2を発現抑制したCAFから得た条件培地で大腸癌細胞株を培養すると浸潤能、遊走能が低下し、一方Wnt5aで大腸癌細胞株を刺激すると、増殖能および遊走能が上昇した。以上より、大腸癌においてCAFでのWnt2およびWnt5a発現は癌細胞の浸潤、遊走を促進し、その結果大腸癌の進展を制御していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸癌の進行及び転移において癌関連線維芽細胞といわれる癌組織周囲に存在する線維芽細胞が重要な役割を行うことが報告されている。今回の研究ではこの癌関連線維芽細胞における遺伝子発現を解析することにより、Wnt2およびWnt5aが高発現していることを見出した。この遺伝子で大腸癌細胞株を刺激すると、癌の浸潤、転移が促進される可能性が示された。がん細胞そのものだけでなく、この癌関連線維芽細胞が癌の周囲でWnt2やWnt5aを介してがん細胞に働きかけて、癌の進行を促進している可能性を示している。これらの癌周囲の微小環境も新たな治療のターゲットとなる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Cancer-associated fibroblasts (CAFs) were obtained from paired CAFs and normal fibroblasts in colorectal cancer (CRC) tissue. Gene expression analysis of CAFs revealed that Wnt2 and Wnt5a were highly expressed in colorectal CAFs. We performed immunohistochemical analysis on Wnt2 and Wnt5a in CRC patients who underwent surgery. High expression of Wnt2 and Wnt5a were significantly associated with the factors which related to cancer progression or metastasis. Subsequent in vitro analyses revealed that cancer cell invasion and migration were significantly decreased in the conditioned medium corrected from immortalized CAFs transfected with siRNA targeting Wnt2. Besides, cancer cell proliferation and migration were significantly increased by stimulation with human recombinant Wnt5a protein. Our findings suggest that Wnt2 and Wnt5a derived CAFs enhances CRC cell invasion and migration and play a crucial role in CRC progression and have potential as a target of anti-cancer therapies.

研究分野：消化器外科学

キーワード：癌関連線維芽細胞 Wnt2 Wnt5a 大腸癌

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

がん細胞の増殖には、これを取り巻く“がん微小環境 (tumor microenvironment)”が極めて重要であることが明らかにされてきている。さらに、がん微小環境の構成因子である癌関連線維芽細胞 (CAF: Cancer Associated Fibroblast) が癌細胞の転移を促進しているという報告が近年散見されているが、いまだ一定の見解が得られていないのが現状である。その原因としては、癌関連線維芽細胞は細胞株化が困難である点、またがん細胞との共存下で機能を保持している可能性がある点が挙げられる。その為、我々は初代培養を行って検討する事で、その性質を正確に評価出来ると考えている。

### 2. 研究の目的

本研究は、“癌関連線維芽細胞”に着目し、癌関連線維芽細胞が Wnt シグナル経路を介して制御する大腸癌の転移機構を明らかにする事を目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 細胞株と培養方法

ヒト大腸癌細胞株 HCT 116、DLD-1、HT-29 およびヒト大腸正常線維芽細胞 CCD-18Co は、American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA) から購入した。HCT 116、DLD-1 は RPMI 1640 培地 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) HT-29 は McCoy 5A 培地 (Invitrogen) CCD-18Co は EMEM (Wako, Osaka, Japan) を用いて培養し、それぞれの培地には 10%FBS (fetal bovine serum, Biowest, Riverside, MO, USA) と 1%ペニシリン-ストレプトマイシン (Invitrogen) を添加した。5%CO<sub>2</sub> 存在下、37 °C の加湿環境下で継代培養した。

#### (2) 癌関連線維芽細胞と正常線維芽細胞の初代培養

5 例の大腸癌患者の手術検体を用いて、CAF と NF を outgrowth 法により初代培養した。大腸癌患者から切除した新鮮な標本から小さな組織片を採取し、さらに剪刀にて細かく刻んだ後、培養プレートに播種して 10%FBS、1%ペニシリン-ストレプトマイシンを含有する DMEM (Dulbecco's modified Eagle medium, Invitrogen) にて、37 °C、5%CO<sub>2</sub> 存在下で培養した。

#### (3) qPCR (quantitative polymerase chain reaction: 定量ポリメラーゼ連鎖反応)

RNeasy Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) を用いて RNA を抽出し、PrimeScript RT-PCR Kit (Takara Bio, Kyoto, Japan) を使用して cDNA を合成した。qPCR は、Step One Plus Real Time PCR System (Thermo Fisher Scientific Pierce Biotechnology, Rockford, IL, USA) と SYBR Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus), ROX plus (Takara Bio) を用いて行い、2<sup>-Ct</sup> 法で算出した。反応条件は、95 °C 30 秒、95 °C 5 秒、60 °C 30 秒を 1 サイクルとして、40 サイクル行った。内在性コントロールには GAPDH (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase: グリセルアルデヒド 3-リン酸デヒドロゲナーゼ) を用いた。mRNA 発現量は GAPDH との比で相対定量し、コントロールとの割合で表した。

#### (4) RNA シークエンス

RNA シークエンスは、5 例の大腸癌症例から初代培養で得られた CAF 及び NF を用いて過去の報告と同様に行った。TruSeq RNA Sample Prep Kit v2 (Illumina, San Diego, CA, USA) を用いて RNA シークエンスライブラリーを作成した。Illumina 社製 HiSeq 2500 を使用し各サンプルに対し 1 フローレル (2 レーン) で Multiplex シークエンス解析を行った。シークエンスタイプはシングルエンドとし、得られたリードのクオリティは FastQC (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>) で評価した。Tophat (ver. 2.1.0) を用いてリードをリファレンスゲノム配列 (UCSC human genome 19) にマッピングし、cufflinks (ver. 2.2.1) を使用して遺伝子発現量 (FPKM: fragments per kilobase of transcript per million mapped reads) を算出した。

#### (5) 遺伝子発現プロファイルの解析

得られた遺伝子発現プロファイルから CAF と NF の発現量を比較した P 値が 0.05 未満であり、かつ発現量が 2 倍以上または 0.5 倍以下である遺伝子を発現変動遺伝子とした。また、発現が変動している遺伝子が関与しているシグナル経路や細胞機能を検討するために、pathway 解析、Gene Ontology (GO) 解析を行った。pathway 解析、GO 解析には Broad Institute ([www.broadinstitute.org/gsea/](http://www.broadinstitute.org/gsea/)) が提供するソフトウェア Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) v3.0 を使用し (34,35)、それぞれ KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome) PATHWAY のデータベースと Gene Ontology の全 3 つのカテゴリー (biological process, cellular component, molecular function) のデータベースを用いた。pathway 解析、GO 解析では false discovery rate (FDR) 0.25 未満を統計学的に有意とした。

(6) 臨床検体

大腸癌手術検体は、2009年から2012年に東北大学病院で手術を施行された171例を用いた。術前放射線療法または術前化学療法を施行した症例、炎症性腸疾患や家族性大腸腺腫症に関連した大腸癌、肛門管癌、2病変以上を有する重複癌、内視鏡治療後の遺残病変の症例は対象から除外した。症例の男女内訳は男性100人、女性71人であり、年齢の中央値（範囲）は69歳（34-92歳）、観察期間の中央値（範囲）は62か月（1-113か月）であった。

(7) 免疫組織化学

パラフィンブロックから薄切標本を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色と免疫組織化学を行った。免疫組織化学はEnvison+ system (DAKO, Glostrup, Denmark)を用いる標識酵素ポリマー法を行った。薄切した標本に対してキシレンによる脱パラフィン処理を行い、エタノールによる水和処理を行った。抗原賦活処理は行わなかった。

Wnt2の発現量は癌間質内の線維性組織の染色強度を陰性～弱陽性(score 0)、中等度陽性(score 1)、強陽性(score 2)の3段階で評価し、さらにscore 0の症例をWnt2低発現群、score 1および2の症例をWnt2高発現群に分類した。

(8) RNA干渉

Invitrogen社よりWNT2, WNT5a特異的siRNA (Stealth siRNA)を購入した。ネガティブコントロール (siNC) はStealth RNAi Negative Control (Invitrogen)を用いた。siRNAの導入にはLipofectamine RNAiMAX transfection reagent (Invitrogen)を使用した。

(9) 条件培地の調整

6ウェルプレートでimmortalized CAFにsiRNAを導入し、10%FBSを含有するDMEMで72時間培養した。100%細胞密度になっていることを確認し、PBSで洗浄した後、FBSを含まないDMEM 1mLでさらに72時間培養した。培地を回収し、浮遊細胞を除去するため、3000gで5分間遠心分離した上清を条件培地 (conditioned medium: CM) とした。実験で使用するまでは-30℃で凍結保存した。siWnt2-1, siWnt2-2およびsiNCを導入したCAFから各CM (CM-siWnt2-1, CM-siWnt2-2, CM-siNC) を調製した。

(10) ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay)

ELISAにてCM中のWnt2タンパク質濃度を測定した。測定にはCloud-Clone社のELISAキット (Cloud-Clone, Katy, TX, USA: SEL820HU)を使用し、添付文書のプロトコールに沿って実験を行った。吸光度の測定にはMultiskan FC plate reader (Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL, USA)を用いた。

(11) 細胞増殖試験

MTS試験を用いて細胞増殖能を評価した。96ウェルプレートにHCT 116とDLD-1をそれぞれ6 × 10<sup>3</sup>個/well、4 × 10<sup>3</sup>個/well播種し、24時間培養した。PBSで洗浄した後、2%FBSを添加したCMを各ウェルに加えてさらに96時間培養した。培養液を吸引し、CellTiter 96® Aqueous One Solution Reagent (Promega, Madison, WI, USA)を5倍希釈した溶液を加えて1時間反応させた後にMultiskan FC plate reader (Thermo Fisher Scientific)を用いて波長490 nmの吸光度を測定し細胞数を評価した。CMを用いた培養を開始した時点 (0時間)での細胞数と96時間培養した後の細胞数を評価した。

(12) 細胞浸潤試験

24ウェルプレート用マトリゲルインバージョンチャンバー (Corning Inc, Corning, NY, USA)を用いて細胞浸潤試験を行った。マトリゲルコーティング (BD Biosciences, San Diego, CA, USA)されたチャンバーを無血清DMEMで水和した後、癌細胞を1 × 10<sup>5</sup>個含む0.5 mLの無血清DMEMをチャンバー内へ注入した。マトリゲルコーティングをしていないコントロールチャンバーにも同様に注入した。プレートのウェルには10%FBSを添加した0.5 mLのCMを入れた。チャンバーをウェルに設置し48時間培養した後、膜底面に通過した細胞を固定しディフクイック染色を行った。顕微鏡視野下 (200倍)で無作為に5つの視野を選択し、それぞれの視野で染色された細胞を計数した。製造元のプロトコールに準じて、コントロールチャンバーを通過した細胞数に対するマトリゲルコーティングされたチャンバーを通過した細胞数の割合を細胞浸潤率として表した。

(13) 創傷治癒試験

細胞遊走能の評価には創傷治癒試験を用いた。HCT 116, DLD-1をそれぞれ5 × 10<sup>5</sup>個/well、3.5 × 10<sup>5</sup>個/wellとなるよう24ウェルプレートに播種し、24時間培養した。90%以上の細胞密度になったことを確認した後、200 μL用マイクロピペットチップの先端で擦過し、線状に細胞を除去した。PBSで洗浄した後に光学顕微鏡を用いて50倍視野下で観察し、細胞が除去された間隙の面積をAxio Vs 40 v4.8.2.0 (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany)を用いて測定した。

2%FBS を添加した CM に変更し、さらに 24 時間培養した後、同一箇所の間隙の面積を同様に測定した。過去の報告を参考にし、細胞遊走能を以下の通り算出した。

細胞遊走率 =  $1 - (24 \text{ 時間培養後の間隙の面積} / \text{CM で培養する前の間隙の面積})$

#### (14) 統計学的解析

データは平均 ± 標準誤差として表した。ELISA は duplicate、その他の in vitro の各実験については triplicate で行い、3 回繰り返した。各サンプル間のデータの比較は Student の t 検定を用いて解析した。免疫組織化学を用いた Wnt2 発現と臨床病理学的因子の検討については Student の t 検定もしくは 2 検定を用いた。生存率曲線は Kaplan-Meier 法を用いて作成し、log-rank 検定にて有意差を検討した。すべての統計学的解析は、JMP13 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を用いて行い、P 値が 0.05 未満を統計学的に有意とした。

### 4. 研究成果

#### (1) 癌関連線維芽細胞と正常線維芽細胞の初代培養

5 例の大腸癌切除検体より CAF と NF をそれぞれ培養した。これらの細胞はいずれも紡錘状の形態を示し、さらには上皮マーカーである E-cadherin の発現を qPCR で確認したところ、HT-29 と DLD-1 に比べて顕著に発現が低下していた。また、CAF と NF について癌関連線維芽細胞のマーカーとして報告のある SMA、Vimentin、FAP の発現を検討した。CAF および NF でのこれらの mRNA 発現量は症例毎に異なっており、CAF と NF の間で特定の発現パターンは示さなかった。

#### (2) RNA シークエンスにより得られた遺伝子発現プロファイルの解析

上記 5 組の CAF、NF を用いて RNA シークエンスを行った。得られた遺伝子発現プロファイルから全 584 個の発現変動遺伝子が同定され、そのうち 283 個が CAF で発現が上昇、301 個が CAF で発現が低下していた。

pathway 解析にて抽出された、NF から CAF への分化には TGFb (Transforming growth factor b) シグナルが関与していることが知られているが、今回得られた遺伝子プロファイルの検討でも TGF $\beta$  シグナル経路の遺伝子群に CAF で高発現していた遺伝子が多く含まれる結果であった。また、同様に Wnt シグナル経路の遺伝子群にも CAF で高発現していた遺伝子が多く含まれていた。GO 解析では合計 195 個の GO の遺伝子群に CAF で高発現していた遺伝子が多く含まれていた。抽出された全 195 個の遺伝子群には Wnt シグナル経路に関連する GO の遺伝子群が 7 個含まれていた。以上より、大腸癌において CAF が Wnt シグナル経路を介する機能を有している可能性が考えられた。さらに Wnt シグナル経路内の遺伝子で、特に重要な役割を果たしている遺伝子を明らかにするため、pathway 解析で用いた KEGG Wnt シグナル経路を構成している各遺伝子の CAF と NF での発現変動を GSEA で検討した。その結果、WNT2 が Wnt シグナル経路の遺伝子群の中で発現変動が最も大きく、また初代培養を行った各症例において NF と比較して CAF で WNT2 発現量が高値であった。

#### (3) 免疫組織化学による Wnt2 の発現と臨床病理学的因子の検討

Wnt2 は癌細胞にも発現していたが、主に線維組織を含む癌間質に強い染色が見られた。正常粘膜では上皮細胞および間質組織の両方において発現はほぼ観察されなかった(A)。癌組織の間質での発現を評価したところ、Wnt2 低発現群 (score 0)、Wnt2 高発現群 (score 1, 2) に分類された症例はそれぞれ 85 例 (49.7%)、86 例 (50.3%) であった(B、C、D)。

年齢、性別、腫瘍の局在 (右側結腸または左側結腸)、腫瘍径、腫瘍の分化型、遠隔転移の有無、リンパ管侵襲の有無については、Wnt2 高発現群と Wnt2 低発現群で有意差は認めなかった。Wnt2 高発現群では腫瘍の深達度が有意に深く ( $P < 0.001$ )、リンパ節転移陽性症例が多かった ( $P = 0.044$ )。進行度分類については TNM Stage III 以上の症例が Wnt2 高発現群で有意に多い結果であった ( $P = 0.010$ )。また、静脈侵襲陽性症例 ( $P < 0.001$ )、肝転移症例 ( $P = 0.045$ ) も Wnt2 高発現群で有意に多かった。手術時に既に遠隔転移を有していた TNM Stage IV を除く Stage I-III 症例の 140 例について検討したところ、Wnt2 高発現群では手術後に再発した症例が有意に多かった ( $P = 0.013$ )。

#### (4) Wnt2 特異的 siRNA を用いた発現抑制

初代培養した CAF は継代を重ねると増殖能が低下し、さらには CAF としての形質が失われる可能性が考えられたため、immortalized CAF を樹立し検討に用いることとした。その上で、CAF と癌細胞の相互作用における Wnt2 の機能を解析するために、siRNA にて Wnt2 の発現抑制を行った immortalized CAF の培養上清を CM として用いて、in vitro での検討を行った。まず、immortalized CAF に WNT2 特異的 siRNA (siWnt2-1, siWnt2-2) を導入し Wnt2 の発現抑制を行った。siRNA による発現抑制効果を確認するために、各 siRNA 導入 48 時間後に total RNA を抽出し、qPCR により Wnt2 mRNA 発現量の変化を評価した。その結果、Wnt2 mRNA 発現量は、siNC を導入した immortalized CAF と比較して siWnt2-1, siWnt2-2 を導入した immortalized CAF で有意に低下していた。

次に、CM 中に含まれる Wnt2 タンパク質濃度を ELISA にて測定した。その結果、Wnt2 の発現抑制を行った immortalized CAF から得た CM (CM-siWnt2-1, CM-siWnt2-2) 中の Wnt2 タンパク質濃

度はネガティブコントロール (CM-siNC) と比較して有意に低下していた。

(5) Wnt2 発現抑制下の細胞増殖試験

Wnt2 の発現抑制を行った immortalized CAF から得た CM が大腸癌細胞株の細胞増殖能に与える影響について検討した。HCT 116、DLD-1 とともに CM-siWnt2-1、CM-siWnt2-2 を用いて培養したときの 96 時間後の細胞数は CM-siNC と比較して有意な差は認めなかった。

(6) Wnt2 発現抑制下の細胞浸潤試験

各 CM を用いて、Wnt2 発現抑制による大腸癌細胞株の浸潤能の変化を検討した。HCT 116 の細胞浸潤率は、CM-siNC と比較して CM-siWnt2-1、CM-siWnt2-2 で有意に低下していた (CM-siWnt2-1 :  $P = 0.031$ 、CM-siWnt2-2 :  $P = 0.021$ )。DLD-1 を用いた検討でも、同様に CM-siWnt2-1、CM-siWnt2-2 で有意に低下していた (CM-siWnt2-1 :  $P = 0.024$ 、CM-siWnt2-2 :  $P = 0.028$ )。

(7) Wnt2 発現抑制下の創傷治癒試験

Wnt2 発現抑制による細胞遊走能の変化を、創傷治癒試験により検討した。その結果、HCT 116 の細胞遊走率は、CM-siNC と比較して CM-siWnt2-1、CM-siWnt2-2 で有意に低下していた (CM-siWnt2-1 :  $P = 0.014$ 、CM-siWnt2-2 :  $P = 0.034$ )。DLD-1 を使用した検討でも、同様の結果であった (CM-siWnt2-1 :  $P = 0.001$ 、CM-siWnt2-2 :  $P = 0.001$ )。

(8) 免疫組織化学による Wnt5a の発現と臨床病理学的因子の検討

Wnt5a は正常粘膜で上皮細胞および間質組織の両方に軽度の発現を認めたが、癌組織中により強い発現を認めた。癌組織では癌細胞にも発現を認めるが、間質でより強く発現していた。癌組織の間質での発現について Wnt5a 低発現群、Wnt5a 高発現群に分類された症例はそれぞれ 67 例 (39.2%)、104 例 (60.8%) であった。年齢、性別、腫瘍の局在 (右側結腸または左側結腸)、腫瘍の分化型、遠隔転移の有無については、Wnt5a 高発現群と Wnt5a 低発現群で有意差は認めなかった。一方で、Wnt5a 高発現群では、腫瘍径が有意に大きく ( $P = 0.014$ )、腫瘍の深達度が有意に深かった ( $P < 0.001$ )。また、リンパ管侵襲陽性例 ( $P < 0.001$ )、静脈侵襲陽性症例 ( $P = 0.002$ )、リンパ節転移陽性症例 ( $P < 0.001$ ) が Wnt5a 高発現群で有意に多く、TNM Stage III 以上の症例 ( $P < 0.001$ ) も有意に多い結果であった。手術時に既に遠隔転移を有していた TNM Stage IV を除く Stage I-III 症例の 140 例について検討したところ、Wnt5a 高発現群では手術後に再発した症例が有意に多かった ( $P = 0.012$ )。

(9) Wnt5a 特異的 siRNA を用いた発現抑制および細胞遊走試験

CAF における Wnt5a の発現抑制により、CAF と癌細胞との相互作用における Wnt5a の機能を解析することとした。immortalized-CAF に Wnt5a 特異的 siRNA (siWnt5a-1、siWnt5a-2、siWnt5a-3) を導入し Wnt5a の発現抑制を行った。各 siRNA 導入 48 時間後に total RNA を抽出し、qPCR により WNT5A mRNA 発現量の抑制効果を評価した。その結果 siNC を導入した immortalized-CAF と比較して、3 種の siWnt5a いずれを導入した immortalized-CAF においても、有意に WNT5a mRNA の発現量が低下していた。続いて Wnt5a を発現抑制した immortalized-CAF を用いて DLD-1 の遊走能の変化を検討した。siNC と比較し、siWnt5a では遊走能が低下する傾向は認められたが、有意差はなかった。

(10) Wnt5a 刺激下の細胞増殖試験

Immortalized-CAF における Wnt5a の発現抑制では遊走能に有意差を認めなかったため、Wnt5a 刺激による大腸癌細胞株への影響を検討することとし、ヒトリコンビナント Wnt5a タンパク質投与による細胞増殖能の変化について検討した。その結果 DLD-1 の細胞数は、添加された Wnt5a リコンビナントタンパク質の濃度依存的に増加し、Wnt5a 100ng/ml 投与群および、200ng/ml 投与群では有意に細胞数増加を認めた。HCT116 でも同様に Wnt5a 濃度依存的に細胞数増加を認め、Wnt5a 10ng/ml、100ng/ml、200ng/ml いずれの濃度においても有意に細胞数の増加を認めた。

(11) Wnt5a 刺激下の細胞遊走試験

続いて Wnt5a 刺激下での大腸癌細胞株の遊走能の変化を検討した。顕微鏡視野下 (対物レンズ 20 倍) で撮影した、細胞数を定量すると、コントロール群と比べ Wnt5a 投与群で 1.97 倍と有意に遊走能の亢進を認めた。この細胞数の定量により、コントロール群と比べ Wnt5a 投与群で 2.16 倍と有意に高い遊走能を認めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Aizawa Takashi, Karasawa Hideaki, Funayama Ryo, Shirota Matsuyuki, Suzuki Takashi, Maeda Shimpei, Suzuki Hideyuki, Yamamura Akihiro, Naitoh Takeshi, Nakayama Keiko, Unno Michiaki	4. 巻 8
2. 論文標題 Cancer associated fibroblasts secrete Wnt2 to promote cancer progression in colorectal cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 6370 ~ 6382
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.2523	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hirashima Tomoaki, Karasawa Hideaki, Aizawa Takashi, Suzuki Takashi, Yamamura Akihiro, Suzuki Hideyuki, Kajiwara Taiki, Musha Hiroaki, Funayama Ryo, Shirota Matsuyuki, Ohnuma Shinobu, Nakayama Keiko, Unno Michiaki	4. 巻 568
2. 論文標題 Wnt5a in cancer-associated fibroblasts promotes colorectal cancer progression	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 37 ~ 42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.06.062	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 唐澤秀明、相澤卓、平嶋倫亮、田山穂高、市川英孝、小林実、梶原大輝、山村明寛、神山篤史、渡辺和宏、森川孝則、石田孝宣、亀井尚、大沼忍、海野倫明
2. 発表標題 大腸癌切除検体を用いたトランスレーショナル研究～癌関連線維芽細胞とオルガノイド～
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 唐澤秀明、三浦康、佐々木宏之、小林実、梶原大輝、亀井尚、大沼忍、海野倫明
2. 発表標題 大腸癌同所移植モデルにおける癌関連線維芽細胞のWnt2発現はリンパ節転移と関連する
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Karasawa H, Aizawa T, Sato K, Suzuki H, Kajiwara T, Yamamura A, Kamei T, Naitoh T, Unno M
2. 発表標題 Cancer associated fibroblasts promote cancer progression via Wnt2 secretion in colorectal cancer
3. 学会等名 ESMO 2019 Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	唐澤 秀明 (Karasawa Hideaki) (30547401)	東北大学・大学病院・助教  (11301)	
研究分担者	山村 明寛 (Yamamura Akihiro) (30814678)	東北大学・大学病院・助教  (11301)	
研究分担者	内藤 剛 (Naitoh Takeshi) (50291258)	東北大学・医学系研究科・准教授  (11301)	
研究分担者	大沼 忍 (Ohnuma Shinobu) (70451565)	東北大学・大学病院・助教  (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------