

令和 5 年 6 月 4 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K17437

研究課題名(和文)大腸鋸歯状病変の発癌過程における責任分子の同定と臨床応用

研究課題名(英文) Identification of molecules involved in the carcinogenesis of serrated lesions of the colon and their clinical application.

研究代表者

庄野 孝 (Shono, Takashi)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・特定研究員

研究者番号：40632667

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)：近位側大腸のSessile Serrated Adenoma/Polyp (SSAP)から発生した大腸癌の内視鏡的切除組織を用いたmiRNAの解析から、癌部に関連する共通パスウェイとして、TGF-beta signaling pathwayを含む6つのpathwayを同定した。

また、ポリープ様腺腫、側方発育型大腸腫瘍(LST)の内視鏡的切除組織標本を正常部、腫瘍部に分離、miRNA、mRNAの発現解析から、両者間で発現変動する3種類のmiRNAを同定した。大腸癌由来培養細胞を用いた実験にて、同定されたmiRNAが癌細胞の増殖進展に関連することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸癌の原因のほとんどは腺腫が原因と考えられてきたが、近年、鋸歯状病変(SSAP)も大腸癌の前駆病変であることが明らかになってきた。しかし、その分子基盤は不明であった。本研究にて同定したmiRNAはSSAPが癌へと進展するserrated pathwayの分子生物学的解明の一翼を担う可能性があり、さらにSSAPより発生する増殖の早い大腸癌に対して、新しい診断方法や治療戦略の臨床応用を展開するための基盤となり得る。

研究成果の概要(英文)：Based on miRNA analysis of endoscopically resected tissue from colorectal cancer arising from sessile serrated adenoma/polyp (SSAP) in the proximal colon, we identified six pathways, including the TGF-beta signaling pathway, as common pathways associated with the cancerous region.

In addition, endoscopically resected tissue samples of polyp-like adenoma and Laterally spreading tumor (LST) of the colon were separated into normal and tumor portions, then their miRNA and mRNA expression analysis identified three types of miRNAs whose expression varied between the two portions. Experiments using cultured cells derived from colorectal cancer suggested that one of the identified miRNAs was associated with the growth and progression of colon cancer cells.

研究分野：消化器内科学

キーワード：SSA/P マイクロRNA 発がんマーカー Serrated pathway

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

これまで大腸癌の原因のほとんどは腺腫が原因と考えられてきたが、近年、鋸歯状病変(SSAP)も大腸癌の前駆病変であることが明らかになってきた。そのため、SSAPからの発癌(serrated pathway)は、adenoma carcinoma sequence, de novo cancer, dysplasia/colitis associated carcinoma に次ぐ第4の発癌経路として認識されるようになった。特に右側結腸に発生したSSAPが serrated pathway で癌化することが、進行の早い右側結腸癌の原因の1つと考えられているが (Lieberman et al. Gastroenterology 2012)、その分子基盤は不明である。

SSAPは隆起の乏しい平坦型の大腸腫瘍で、色調も正常粘膜と変わらないことから内視鏡的に発見することは非常に困難である (Burgess et al. Gastrointest Endosc 2014)。癌化を来すSSAPを早期に発見し、早期に治療することは臨床的に極めて重要であり、大腸癌死亡率減少に寄与するものと考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究ではSSAPを対象として、トランスクリプトーム解析、miRNA解析とを統合したマルチオミクス解析から、正常粘膜、SSAP、大腸癌と発展する serrated pathway の分子基盤を明らかにする。さらにSSAPより発生する増殖の早い大腸癌に対して、新しい診断方法や治療戦略の臨床応用を展開するための基盤となる研究を行う。

大腸癌とmiRNAとの関連性の研究は盛んにおこなわれている。しかしながらSSAP pathwayに焦点を絞り、背景をそろえた同一個体から、正常粘膜(N)、SSAP(S)、癌組織(C)を日本発祥の技術である内視鏡的粘膜下層剥離術(ESD)で一括に採取したうえで Laser microdissection(LMD)法でN,S,Cに分離し(上図参照)、miRNA発現解析を行う研究は皆無である。本研究から得られた知見が、SSAPから大腸癌への serrated pathway の解明の一端となることが期待される。

### 3. 研究の方法

近位側大腸の Sessile Serrated Adenoma/Polyp (SSAP)から発生した大腸癌を内視鏡にて切除し、パラフィン包埋組織切片より、顕微鏡下にレーザーを用いて、正常粘膜、SSAP、癌部に分離した。それぞれからDNA、RNAを抽出し、特にmiRNAについて網羅的に定量化を行い、正常粘膜からSSAP、癌の間で発現変化したmiRNAの発現プロファイルを解析した。さらに正常粘膜、SSAP部から、より多症例の凍結生検検体を採取し、これを用いて上記miRNA発現変化の検証を行った。バイオイン

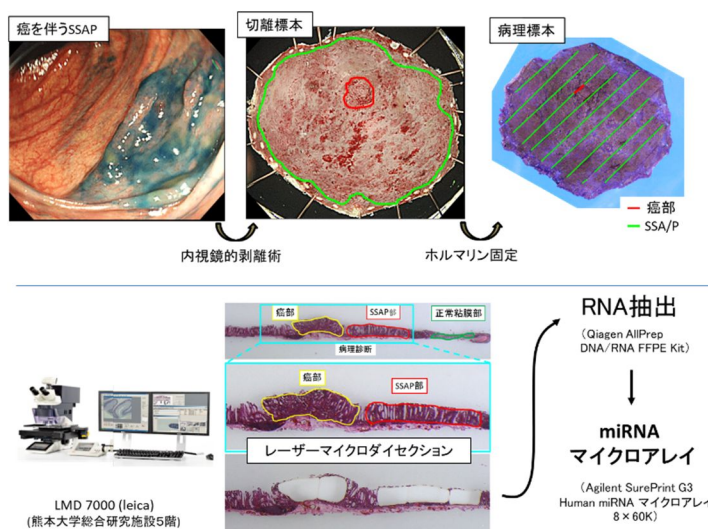
フォマティクス解析により、有意に発現変動する遺伝子発現パスウェイの同定を試みた。

上記に加え、ポリープ様腺腫、LSTの内視鏡組織標本を用いて、正常部、腫瘍部に分離し、miRNA、mRNAの発現プロファイル調べた。得られたデータを統合的に解析することで、ポリープ様腺腫、LST間で発現変動するmiRNAとその標的となるmRNAを調べた。

また、8種類の大腸癌由来培養細胞、ならびに1種類の正常大腸粘膜由来の培養細胞を準備し、同定したmiRNAの発現量を調査した。

### 4. 研究成果

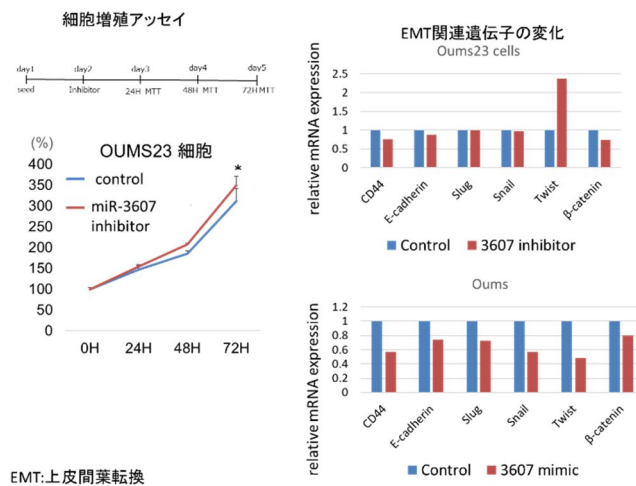
内視鏡にて切除したSSA/Pパラフィン包埋組織切片より、分離した正常粘膜、SSAP、癌部それ



それぞれから RNA の抽出に成功した。miRNA について網羅的に定量化を行い、正常粘膜から SSAP、癌の間で発現変化した miRNA の発現プロファイルを同定した。さらに正常粘膜、SSAP 部から、より多症例の凍結生検検体を採取し、これを用いて上記 miRNA 発現変化の検証を行った。バイオインフォマティックな解析から、癌部対 SSAP 部と癌部対正常粘膜部の比較から抽出された共通パスウェイとして、TGF-beta signaling pathway を含む 6 つのパスウェイを同定した。

上記に加え、ポリープ様腺腫、LST の内視鏡組織標本を用いて、正常部、腫瘍部に分離し、miRNA、mRNA の発現プロファイルを調べた。得られたデータを統合的に解析することで、ポリープ様腺腫、LST 間で発現変動する miRNA とその標的となる 3 種類の miRNA(miR196b-5p, miR378a-3p, miR3607)まで絞り込んだ。このうちの 1 遺伝子 miR3607 は大腸癌細胞の腫瘍進展および予後と関連するとの報告あり、LST に進展する腫瘍のバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

また、8 種類の大腸癌由来培養細胞、ならびに 1 種類の正常大腸粘膜由来の培養細胞を準備し、同定した miRNA の発現量を調査した結果、候補 miRNA は癌細胞由来の培養細胞で発現が高い傾向にあることがわかった。加えて、上皮間葉転換 (EMT) の鍵遺伝子 TWIST1 の発現が miR-3607 mimic にて低下、同 inhibitor にて上昇し、かつ miR-3607 inhibitor により細胞増殖が亢進した。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Saito Hirokazu, Kadono Yoshihiro, Shono Takashi, Kamikawa Kentaro, Urata Atsushi, Nasu Jiro, Imamura Haruo, Matsushita Ikuo, Kakuma Tatsuyuki, Tada Shuji	4. 巻 14
2. 論文標題 Endoscopic retrograde cholangiopancreatography for bile duct stones in patients with a performance status score of 3 or 4	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 World Journal of Gastrointestinal Endoscopy	6. 最初と最後の頁 215 ~ 225
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4253/wjge.v14.i4.215	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 Saito Hirokazu, Iwasaki Hajime, Itoshima Hisashi, Kadono Yoshihiro, Shono Takashi, Kamikawa Kentaro, Urata Atsushi, Nasu Jiro, Uehara Masayoshi, Matsushita Ikuo, Kakuma Tatsuyuki, Tada Shuji	4. 巻 68
2. 論文標題 Low Detection Rates of Bile Duct Stones During Endoscopic Treatment for Highly Suspected Bile Duct Stones with No Imaging Evidence of Stones	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Digestive Diseases and Sciences	6. 最初と最後の頁 2061 ~ 2068
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10620-022-07773-5	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 Saito Hirokazu, Kadono Yoshihiro, Shono Takashi, Kamikawa Kentaro, Urata Atsushi, Nasu Jiro, Imamura Haruo, Matsushita Ikuo, Kakuma Tatsuyuki, Tada Shuji	4. 巻 55
2. 論文標題 Factors Predicting Difficult Biliary Cannulation during Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography for Common Bile Duct Stones	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clinical Endoscopy	6. 最初と最後の頁 263 ~ 269
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5946/ce.2021.153	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 Miyamoto Hideaki, Naoe Hideaki, Morinaga Jun, Sakisaka Kensuke, Tayama Sayoko, Matsuno Kenshi, Gushima Ryosuke, Tateyama Masakuni, Shono Takashi, Imuta Masanori, Miyamaru Satoru, Murakami Daizo, Orita Yori-hisa, Tanaka Yasuhito	4. 巻 13
2. 論文標題 Clinical impact of gastrointestinal endoscopy on the early detection of pharyngeal squamous cell carcinoma: A retrospective cohort study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 World Journal of Gastrointestinal Endoscopy	6. 最初と最後の頁 491 ~ 501
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4253/wjge.v13.i10.491	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 Waki K, Ishihara R, Kato Y, Shoji A, Inoue T, Matsueda K, Miyake M, Shimamoto Y, Fukuda H, Matsuura N, Ono Y, Yao K, Hashimoto S, Terai S, Ohmori M, Tanaka K, Kato M, Shono T, Miyamoto H, Tanaka Y, Tada T	4. 巻 33
2. 論文標題 Usefulness of an artificial intelligence system for the detection of esophageal squamous cell carcinoma evaluated with videos simulating overlooking situation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Digestive Endoscopy	6. 最初と最後の頁 1101 ~ 1109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/den.13934	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 -

1. 著者名 Waki K, Ishihara R, Kato Y, Shoji A, Inoue T, Matsueda K, Miyake M, Shimamoto Y, Fukuda H, Matsuura N, Ono Y, Yao K, Hashimoto S, Terai S, Ohmori M, Tanaka K, Kato M, Shono T, Miyamoto H, Tanaka Y, Tada T.	4. 巻 Online ahead of print.
2. 論文標題 Usefulness of an artificial intelligence system for the detection of esophageal squamous cell carcinoma evaluated with videos simulating overlooking situation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Digestive Endoscopy	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/den.13934	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 -

1. 著者名 Saito Hirokazu, Sakaguchi Masafumi, Kadono Yoshihiro, Shono Takashi, Kamikawa Kentaro, Urata Atsushi, Nasu Jiro, Imamura Haruo, Matsushita Ikuo, Kakuma Tatsuyuki, Tada Shuji	4. 巻 -
2. 論文標題 Disease-Based Risk Stratification of Postendoscopic Retrograde Cholangiopancreatography Pancreatitis for Common Bile Duct Stones	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Digestive Diseases and Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10620-021-06825-6	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 -

1. 著者名 Saito Hirokazu, Iwagoi Yuki, Noda Kana, Atsuji Shutaro, Takaoka Hiroko, Kajihara Hiroo, Shono Takashi, Nasu Jiro, Obara Hitoshi, Kakuma Tatsuyuki, Tada Shuji, Morishita Shoji, Matsushita Ikuo, Katahira Kazuhiro	4. 巻 33
2. 論文標題 Dual-layer spectral detector computed tomography versus magnetic resonance cholangiopancreatography for biliary stones	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Gastroenterology & Hepatology	6. 最初と最後の頁 32 ~ 39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MEG.0000000000001832	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 -

1. 著者名 Okadome Kazuo, Baba Yoshifumi, Nomoto Daichi, Yagi Taisuke, Kalikawe Rebecca, Harada Kazuto, Hiyoshi Yukiharu, Nagai Yohei, Ishimoto Takatsugu, Iwatsuki Masaaki, Iwagami Shiro, Miyamoto Yuji, Yoshida Naoya, Watanabe Masayuki, Komohara Yoshihiro, Shono Takashi, Sasaki Yutaka, Baba Hideo	4. 巻 122
2. 論文標題 Prognostic and clinical impact of PD-L2 and PD-L1 expression in a cohort of 437 oesophageal cancers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 1535 ~ 1543
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41416-020-0811-0	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 -

1. 著者名 Hiyoshi Yukiharu, Yamasaki Akira, Shono Takashi, Miyamoto Yuji, Eto Kojiro, Nagai Yohei, Iwatsuki Masaaki, Iwagami Shiro, Baba Yoshifumi, Yoshida Naoya, Baba Hideo	4. 巻 63
2. 論文標題 Laparoscopic and Endoscopic Cooperative Surgery for Rectal GI Stromal Tumor	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diseases of the Colon & Rectum	6. 最初と最後の頁 116 ~ 116
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/DCR.0000000000001514	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 -

1. 著者名 Shono Takashi, Oyama Shinichiro, Oda Yasushi, Yokomine Kazunori, Murakami Yoshitaka, Miyamoto Hideaki, Tanaka Motohiko, Naoe Hideaki, Sasaki Yutaka, the Kumamoto Colon Cancer Study Group	4. 巻 32
2. 論文標題 Risk stratification of advanced colorectal neoplasia after baseline colonoscopy: Cohort study of 17 Japanese community practices	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Digestive Endoscopy	6. 最初と最後の頁 106 ~ 113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/den.13516	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 Kumai Yoshihiko, Shono Takashi, Waki Kotaro, Murakami Daizo, Miyamaru Satoru, Sasaki Yutaka, Orita Yori-hisa	4. 巻 47
2. 論文標題 Detection of hypopharyngeal cancer (Tis, T1 and T2) by ENT physicians vs gastrointestinal endoscopists	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 135 ~ 140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2019.05.007	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 Takeuchi Yoji, Shono Takashi, Inoue T, Ohda Y, Kobayashi N, Tanuma T, Sato R, Sakamoto T, Harada N, Chino A, Ishikawa H, Nojima M, Uraoka T et al. for the Madowazu Study Group	4. 巻 171
2. 論文標題 Continuous Anticoagulation and Cold Snare Polypectomy Versus Heparin Bridging and Hot Snare Polypectomy in Patients on Anticoagulants With Subcentimeter Polyps	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 229 ~ 229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7326/M19-0026	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 Hiyoshi Yukiharu, Yamasaki Akira, Shono Takashi, Miyamoto Yuji, Eto Kojiro, Nagai Yohei, Iwatsuki Masaaki, Iwagami Shiro, Baba Yoshifumi, Yoshida Naoya, Baba Hideo	4. 巻 63
2. 論文標題 Laparoscopic and Endoscopic Cooperative Surgery for Rectal GI Stromal Tumor	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diseases of the Colon & Rectum	6. 最初と最後の頁 116 ~ 116
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/DCR.0000000000001514	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 -

1. 著者名 Okadome Kazuo, Baba Yoshifumi, Nomoto Daichi, Yagi Taisuke, Kalikawe Rebecca, Harada Kazuto, Hiyoshi Yukiharu, Nagai Yohei, Ishimoto Takatsugu, Iwatsuki Masaaki, Iwagami Shiro, Miyamoto Yuji, Yoshida Naoya, Watanabe Masayuki, Komohara Yoshihiro, Shono Takashi, Sasaki Yutaka, Baba Hideo	4. 巻 122
2. 論文標題 Prognostic and clinical impact of PD-L2 and PD-L1 expression in a cohort of 437 oesophageal cancers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 1535-1543
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41416-020-0811-0	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 -

1. 著者名 Tabata Noriaki, Sueta Daisuke, Arima Yuichiro, Okamoto Ken, Shono Takashi, Hanatani Shinsuke, Takashio Seiji, Oniki Kentaro, Saruwatari Junji, Sakamoto Kenji, Kaikita Koichi, Sinning Jan-Malte, Werner Nikos, Nickenig Georg, Sasaki Yutaka, Fukui Toshihiro, Tsujita Kenichi	4. 巻 27
2. 論文標題 Cytotoxin-associated gene-A-seropositivity and Interleukin-1 polymorphisms influence adverse cardiovascular events	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 IJC Heart & Vasculature	6. 最初と最後の頁 100498 ~ 100498
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijcha.2020.100498	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------