

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08009

研究課題名(和文)空間的遺伝子発現解析が拓くCdh1介在性の炎症性発癌機構の解明と新規予防戦略

研究課題名(英文)Clarification of Cdh1 mediated inflammatory carcinogenesis mechanism revealed by spatial gene expression analysis and development of novel preventive strategies.

研究代表者

直江 秀昭(Naoe, Hideaki)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・准教授

研究者番号：30599246

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): コントロールマウスとCdh1活性型マウスに対してコリン欠乏-高脂肪食を摂取させ、肝癌を誘発させた。24週、56週時点でマウスの肝臓に形成された腫瘍の数とサイズを測定した。その結果、両群のマウス間で有意な差は認めなかった。

AOM-DSSモデルで、コントロールマウスとCdh1活性型マウスの大腸に腫瘍を形成させた。形成された腫瘍部からRNAを抽出し、RNA seq解析を行ったところ、有意な結果は得られなかった。そこで、腫瘍の発生母地となった背景の炎症部粘膜から抽出したRNAを解析したところ、両群間でWnt6、Wnt10a、Axin、LEF等の発現に大きな変化を来していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Cdh1活性型マウスの大腸炎症粘膜において有意に発現が亢進していたRNAはWnt6、Wnt10a、Axin、LEF等であった。これらは、代表的な発癌経路である古典的Wnt-カテニン経路を構成する遺伝子群である。Cdh1が、Wnt-カテニン経路と強く関連していたことから、Cdh1が大腸の炎症性発癌の過程で未知の機能を有しているのではないかと考えられる。Cdh1をターゲットにすることで、大腸炎症性発癌の予防あるいは治療法へとつながる可能性が示唆される。

研究成果の概要(英文): Choline-deficient - high-fat diet was fed to control and Cdh1-active mice to induce hepatocellular carcinoma; the number and size of tumours formed in the liver of these mice were measured at 24 and 56 weeks. The results showed no significant differences between the two groups of mice.

Tumours were formed in the colon of control and Cdh1-active mice induced by the AOM-DSS model. RNA was extracted from these tumours and RNA seq analysis showed no significant differences between two groups. Therefore, RNA extracted from the background inflammatory mucosa surrounding the tumors was analysed and found to be significantly altered in the expression of Wnt6, Wnt10a, Axin, LEF and others between the two groups.

研究分野：消化器癌

キーワード：炎症性発癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

慢性炎症と癌の間には密接な関係があり、胃、肝臓、膵臓等の多くの臓器で炎症性発癌が指摘されている。潰瘍性大腸炎も炎症性発癌の母地となりえ、潰瘍性大腸炎に罹患後 10 年経過すると、一般人口と比べて大腸癌の発生が増加することが知られている (Gut 2001; 48:526-535)。このように、持続する炎症は癌と関連していると考えられるが、そのメカニズムについて詳細は明らかになっていない。

Cdh1 は細胞周期の調節因子であり、ユビキチンリガーゼである APC/C の活性化因子として働いている。Cdh1 が結合し活性型となった APC/C-Cdh1 複合体は、Cyclin B や Plk1 等の標的分子を正しい時期に分解することで、細胞周期を厳密にコントロールしている。近年、APC/C-Cdh1 複合体が細胞老化やアポトーシス、オートファジーなど、細胞周期以外の様々な生命現象においても重要な役割を持っていることが次々と明らかになってきている。また、最近では、固形癌における Cdh1 の発現異常が報告されている (Cancer Res 2019; 79(5): 928-938)。細胞周期調節という Cdh1 本来の働きを考えると、Cdh1 の機能異常は遺伝的に不安定な細胞の分裂や増殖を引き起こし、結果的として発癌へとつながるのではないかと考えられる。

我々は、消化器癌における Cdh1 の機能解析を行う中で、Cdh1 活性型変異マウスを用いて、炎症性の大腸発癌の予備実験を行った。少数例を解析した結果、野生型マウスと比較して Cdh1 活性型変異マウスでは、数多くの大腸腫瘍の形成が確認された。これらの結果から、Cdh1 が炎症性発癌に対して促進的に作用している可能性が考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、消化器の炎症性発癌の過程で Cdh1 が持つ未知の機能を解明し、予防法へとつなげることである。蛋白質分解という Cdh1 本来の機能から、Cdh1 が炎症性の発癌過程において既知、あるいは未知の癌抑制遺伝子を分解している可能性が第一に考えられる。2 つの炎症性発癌実験系を通して、in vitor、in vivo で Cdh1 の役割の解明を試みる。

3. 研究の方法

マウス肝発癌実験

予備実験ですでに得られている結果から、Cdh1 活性型マウスでは腫瘍を形成しやすい可能性が考えられる。そこで、まずコリン欠乏-高脂肪食で飼育したマウスと、コントロールマウスの肝臓に発生する腫瘍を確認する。経過中に血液から AST、ALT や腫瘍マーカーの AFP (アルファフェトプロテイン) を測定することで、開腹することなく発癌状況を判断する。最終的には、マウスを sacrifice し、肝臓に形成された腫瘍を解析する。途中経過で肝腫瘍が形成されない場合は、より発癌確率の高い高脂肪・低メチオニン・コリン欠乏食あるいは、diethylnitrosamine (DEN) 追加食に切り替える。

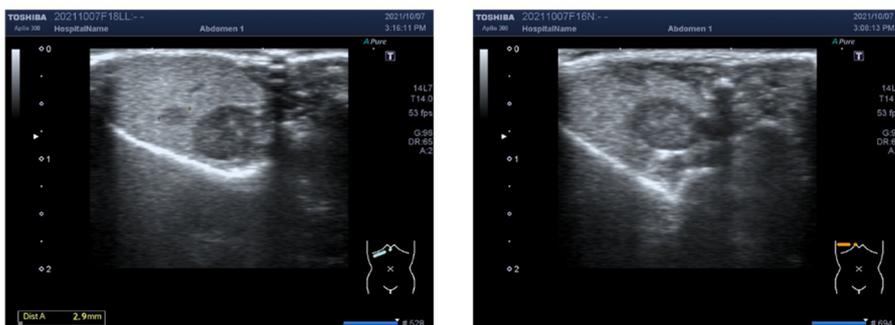
マウスの大腸炎症性発癌病変の RNA 解析

Cdh1 活性型変異マウスとコントロールマウスに対して、AOM-DSS による炎症性発癌実験を行う。すなわち、発癌物質である AOM をマウスの腹腔内に投与した後、腸炎を惹起する DSS を 1 週間自由飲水させる。16 週間後に開腹し、大腸腫瘍のみならず、腫瘍の発生母地となった周囲の炎症粘膜から RNA を抽出し、RNA sequence 解析を行う。

4. 研究成果

Cdh1 活性型マウスの腫瘍形成能を評価する目的で、コントロールマウス 2 匹と Cdh1 活性型マウス 4 匹に対してコリン欠乏-高脂肪食を摂取させ、1 ヶ月毎に体重測定と血液検査を行った。血液の検査の項目としては、肝障害 (炎症) を反映する ALT と、肝癌形成を反映する腫瘍マーカー (AFP) について評価した。まず、体重に関しては、24 週経過した時点で Cdh1 活性型マウスの方がコントロールマウスと比べて増加率が大きかったが、統計学的な有意差は見られなかった。48 週経過時点でも同様の傾向であった。血液検査の ALT と AFP も両群間で有意な差は認めなかった。

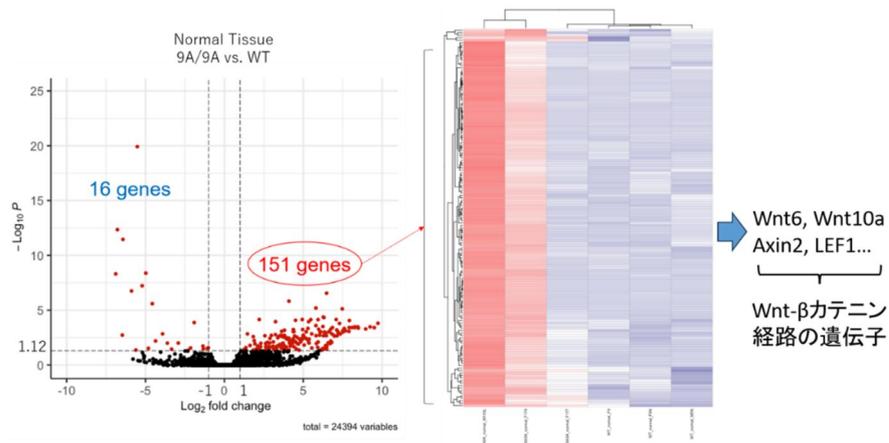
図 1 Cdh1活性型マウス: ChD-HFD開始から52週 コントロールマウス: ChD-HFD開始から52週



腹部エコーによるマウスの肝腫瘍形成の評価も行っており、両方のマウスにおいて、肝内に小结節を認めた(図1)。24週、56週時点でマウスを sacrifice して、肝臓に形成された腫瘍の数とサイズを測定した。その結果、Cdh1 活性型マウス、コントロールマウス間で有意な差は認めなかった。

コントロールマウスと Cdh1 活性型マウスの大腸に形成された腫瘍部から RNA を抽出し、RNA seq 解析を行った結果、有意な結果は得られなかった。そこで、腫瘍の発生源となった背景の炎症部粘膜から抽出した RNA を解析したところ、Wnt6、Wnt10a、Axin、LEF 等の発現に大きな変化を来していることが明らかとなった。これらは、代表的な発癌経路である古典的 Wnt- カテニン経路に含まれる遺伝子群である。

図2



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8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 Furuta Yuki, Gushima Ryosuke, Naoe Hideaki, Honda Munenori, Tsuruta Yuiko, Nagaoka Katsuya, Watanabe Takehisa, Tateyama Masakuni, Fujimoto Nahoko, Hirata Shinya, Miyagawa Eiko, Sakata Komei, Mizuhashi Yumiko, Iwakura Mikako, Murai Masayuki, Matsuoka Masao, Komohara Yoshihiro, Tanaka Yasuhito	4. 巻 12
2. 論文標題 Possible Association of Mutations in the MEFV Gene with the Intestinal Phenotype of Behçet's Disease and Refractoriness to Treatment	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 3131 ~ 3131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm12093131	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 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 Yoriyama, 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 Matsuno Kenshi, Miyamoto Hideaki, Shono Takashi, Waki Kotaro, Tateyama Masakuni, Naoe Hideaki, Miyamaru Satoru, Murakami Daizo, Orita Yoriyama, Morinaga Jun, Tanaka Yasuhito, Gushima Ryosuke	4. 巻 20
2. 論文標題 Efficacy of a new traction method using ring-shaped thread for endoscopic submucosal dissection in the pharynx	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Esophagus	6. 最初と最後の頁 256 ~ 263
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10388-022-00971-0	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 Kugiyama Naotaka, Hashigo Shunpei, Nagaoka Katsuya, Watanabe Takehisa, Ushijima Shinya, Uramoto Yukiko, Yoshinari Motohiro, Morinaga Jun, Gushima Ryosuke, Tateyama Masakuni, Tanaka Motohiko, Naoe Hideaki, Sugawara Yasuhiko, Hibi Taizo, Tanaka Yasuhito	4. 巻 4
2. 論文標題 Clinical usefulness of inside stents in anastomotic biliary strictures after liver transplantation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 DEN Open	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/deo2.305	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 Matsuno Kenshi, Miyamoto Hideaki, Kitada Hideki, Yoshimatsu Shinichi, Tamura Fumio, Sakurai Kouichi, Fukubayashi Kotaro, Shono Takashi, Setoyama Hiroko, Matsuyama Taichi, Suko Shinichiro, Narita Rei, Honda Munenori, Tateyama Masakuni, Naoe Hideaki, Morinaga Jun, Tanaka Yasuhito, Gushima Ryosuke	4. 巻 3
2. 論文標題 Comparison of endoscopic submucosal resection with ligation and endoscopic submucosal dissection for small rectal neuroendocrine tumors: A multicenter retrospective study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 DEN Open	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/deo2.163	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 Narahara Satoshi, Watanabe Takehisa, Nagaoka Katsuya, Fujimoto Nahoko, Furuta Yoki, Tanaka Kentaro, Tokunaga Takayuki, Kawasaki Takeshi, Yoshimaru Yoko, Setoyama Hiroko, Oniki Kentaro, Saruwatari Junji, Tateyama Masakuni, Naoe Hideaki, Tanaka Motohiko, Tanaka Yasuhito, Sasaki Yutaka	4. 巻 6
2. 論文標題 Clusterin and Related Scoring Index as Potential Early Predictors of Response to Sorafenib in Hepatocellular Carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Hepatology Communications	6. 最初と最後の頁 1198 ~ 1212
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hep4.1872	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 Honda Munenori, Naoe Hideaki, Gushima Ryosuke, Miyamoto Hideaki, Tateyama Masakuni, Sakurai Kouichi, Oda Yasushi, Murakami Yoshitaka, Tanaka Yasuhito	4. 巻 16
2. 論文標題 Risk stratification for advanced colorectal neoplasia based on the findings of the index and first surveillance colonoscopies	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0245211	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 Tokunaga Takayuki, Tanaka Motohiko, Tanaka Kentaro, Narahara Satoshi, Kawasaki Takeshi, Yoshimaru Yoko, Nagaoka Katsuya, Watanabe Takehisa, Tateyama Masakuni, Naoe Hideaki, Sasaki Yutaka, Tanaka Yasuhito	4. 巻 26
2. 論文標題 Modified albumin-bilirubin grade to predict eligibility for second-line therapies at progression on sorafenib therapy in hepatocellular carcinoma patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 922 ~ 932
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-020-01835-2	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 0件)

1. 発表者名 古田陽輝、直江秀昭、田中靖人
2. 発表標題 腸管型ベーチェット病/単純性潰瘍におけるMEFV遺伝子変異の検討
3. 学会等名 第107回日本消化器病学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山崎明, 鶴田結子, 田山紗代子, 園田隆賀, 脇幸太郎, 今村美幸, 本田宗倫, 松野健司, 古田陽輝, 宮本英明, 具嶋亮介, 直江秀昭, 田中靖人
2. 発表標題 表在型バレット食道腺癌の転移リスクに関する検討
3. 学会等名 第64回日本消化器病学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中島昌利、鶴田結子、古田陽輝、直江秀昭、田中靖人
2. 発表標題 新規分子標的薬の登場が潰瘍性大腸炎におけるタクロリムス療法へ与える影響
3. 学会等名 第120回日本消化器病学会
4. 発表年 2022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	古田 陽輝 (Furuta Yoki) (00869513)	熊本大学・病院・特任助教 (17401)	
研究分担者	渡邊 丈久 (Watanabe Takehisa) (20634843)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・助教 (17401)	

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