

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16509

研究課題名(和文)炎症性腸疾患におけるEMAST陽性大腸癌の発生機序の解明と新規標的因子の検索

研究課題名(英文)The role of EMAST-positive colorectal cancer cell in inflammatory bowel disease and finding the novel target factors.

研究代表者

宗方 幸二(Munakata, Koji)

大阪大学・大学院医学系研究科・招へい教員

研究者番号：70621043

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文): colitic cancerに対するアプローチとして、DNAの不安定性を示すelevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats (EMAST)に着目した。まずはEMASTを検出する実験系の確実性を癌部および非癌部を用いて確認した。次に、colitic cancer症例の非癌部におけるEMASTの発現率を検討したが困難であった。原因は比較的近年の症例が多く、内科的加療の向上により炎症が軽度であることが考えられた。今後はcolitic cancer部のEMAST陽性細胞における遺伝子の解析を検討している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IBDに対する内科的治療の進歩によって長期経過例が多くなり、colitic cancerの発生頻度は病歴期間により高率となる。また通常の大腸癌と異なりcolitic cancerは発生経路が異なり悪性度が高いことが知られており、colitic cancerの発生経路の解明が期待されている。今回、DNAの不安定性を示すelevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats (EMAST)に着目し、全く新しいアプローチを行うことは、学術的意義はもちろん、成果が得られた際には社会的意義は非常に大きいと考えられた。

研究成果の概要(英文): To create a new therapeutic approach for colitic cancer in the context of inflammatory bowel disease, we focused on elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats (EMAST), a form of microsatellite instability. Since the reliability of the experimental system for detecting EMAST is the most important "foundation" of this study, we first confirmed the reliability of the experimental system using area of cancer and non-cancer. We confirmed that our detection system of EAST was function. Next, DNA was extracted from non-cancer cancer areas of colitis cancer cases. But it was difficult to stably detect EMAST using one. Because of our technical methods and of quality of DNA that were extracted from relatively recent cases. So next approach might be that target gene candidates were selected using EMAST positive DNA from tissue of colitic cancer.

研究分野: Colitic cancer

キーワード: 炎症性腸疾患 Colitic cancer EMAST

### 1. 研究開始当初の背景

IBD に対する内科的治療の進歩によって長期経過例が多くなり、colitic cancer の発生頻度は病脳期間により高率となる(病脳期間 10 年で 2% ,20 年で 8% ,30 年で 18% など)。また、通常の大腸癌と異なり colitic cancer は発生経路が異なり悪性度が高いことが知られており、colitic cancer の発生経路の解明が期待されている。実際、既存の研究でも遺伝子レベルの研究がなされ通常大腸癌とは異なる経路が様々報告されてはいるが実臨床において colitic cancer に特異的な新たな治療戦略や治療法は未だ認めておらず、10 年以上も治療戦略に変化がないのが現状である。その原因としては、IBD における様々な可逆性ストレス(炎症など)の結果である colitic cancer に焦点を当て遺伝子レベルの解析を行っており、癌化に至る原因(プロセス)を治療標的化することが困難であるという点が挙げられる(図 1)。IBD における colitic cancer に対する新規治療戦略創出を目指すには新たな着眼点が必要である。

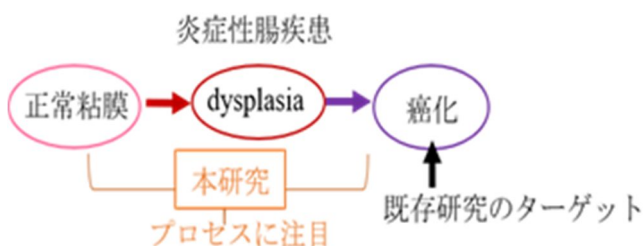


図1: 本研究の着眼点

### 2. 研究の目的

IBD における colitic cancer の発生機序を解明し、治療標的としてとらえて新たな治療戦略を創出するのが本研究の最大の目的である。そのために、従来行われてきた colitic cancer のみに焦点を絞るのではなく、持続的・慢性的な炎症性シグナルによる影響から発癌へと向かうプロセスとして MSH3 および EMAST に焦点を当て、colitic cancer の実態解明を進めていく点に新規性と独自性があると考えられる。

### 3. 研究の方法

下記工程を計画し、EMAST 関連遺伝子の検索を行い、colitic cancer 発現へのプロセスを解明することで、新規治療戦略を創出することを目的とする。

(1) IBD における正常(非癌)組織および colitic cancer 組織の EMAST 陽性細胞を用いた、遺伝子の網羅的検索を行い候補の遺伝子を抽出し、確認する。

(2) 候補遺伝子を強発現および抑制し、EMAST の発現または hMSH3 の発現が仮説通りか確認する。

(3) 炎症性腸疾患モデルマウスおよび、マウス colitic cancer モデルを用いて、候補遺伝子をノックダウンもしくはノックアウトし、治療効果を厳密に評価する。

### 4. 研究成果

炎症性腸疾患を背景とした colitic cancer の新たな治療アプローチの創出を目指し、われわれはマイクロサテライト不安定性の一つである elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats (EMAST) に着目した。本研究において EMAST を検出する実験系の確実性が最も大切な「根幹」となるため、まずは癌部および非癌部を用いて実験系の確実性を確認する事とした。共同研究機関(米国)で既に EMAST 発現の有無が確認できている大腸癌症例、合計 14 例の DNA を用いて、われわれの施設で同様に実験を行った。EMAST の発現を認めた症例は 4 例(28.6%)であり、この結果は既知のものに一致していた。従って癌部および非癌部におけるわれわれの EMAST 実験系の確からしさを示す事ができた。次に、colitic cancer 症例の非癌部からの DNA を抽出し検討したが、炎症性腸疾患組織から抽出した DNA から EMAST を安定的に検出することは困難であった。その原因としては手技的な問題に加え、比較的近年の症例からの DNA 抽出が多く、近年の内科的加療の向上により炎症性腸疾患の非癌部における炎症の程度が先行実験の年代に比べ軽度なことが影響していると考えられた(先行実験では正常組織での EMAST 検出率は 0% であり、IBD 患者にお

ける非癌部の EMAST 検出率は 31.4%と高値であった)。以上の経過から炎症性腸疾患における非癌部での EMAST 検出の実験系を用いたアプローチは EMAST 検出率の低さから困難と考えられた。したがって、次の段階として当初計画していたアプローチとは異なるが、今後は colitic cancer 部の DNA を用いた実験系で EMAST 陽性症例を抽出し標的遺伝子の候補を選出していくアプローチを検討している。

<引用文献>

- 1) The Human DNA Mismatch Repair Protein MSH3 Contains Nuclear Localization and Export Signals That Enable Nuclear-Cytosolic Shuttling in Response to Inflammation. Tseng-Rogenski SS, **Munakata K**, Choi DY, Martin PK, Mehta S, Koi M, Zheng W, Zhang Y, Carethers JM. Mol Cell Biol. 15;40(13), 2020
- 2) Inflammation-Associated Microsatellite Alterations Caused by MSH3 Dysfunction Are Prevalent in Ulcerative Colitis and Increase With Neoplastic Advancement. **Munakata K**, Koi M, Kitajima T, Tseng-Rogenski S, Uemura M, Matsuno H, Kawai K, Sekido Y, Mizushima T, Toiyama Y, Yamada T, Mano M, Mita E, Kusunoki M, Mori M, Carethers JM. Clin Transl Gastroenterol. 10(12), 2019
- 3) Identification of microRNA-487b as a negative regulator of liver metastasis by regulation of KRAS in colorectal cancer. Hata T, Mokutani Y, Takahashi H, Inoue A, **Munakata K**, Nagata K, Haraguchi N, Nishimura J, Hata T, Matsuda C, Murata K, Mizushima T, Doki Y, Mori M, Yamamoto H. Int J Oncol. 50(2):487-496, 2017
- 4) Fructose-bisphosphate aldolase A is a key regulator of hypoxic adaptation in colorectal cancer cells and involved in treatment resistance and poor prognosis. Kawai K, Uemura M, **Munakata K**, Takahashi H, Haraguchi N, Nishimura J, Hata T, Matsuda C, Ikenaga M, Murata K, Mizushima T, Yamamoto H, Doki Y, Mori M. Int J Oncol. 50(2):525-534, 2017
- 5) Cancer Stem-like Properties in Colorectal Cancer Cells with Low Proteasome Activity. **Munakata K**, Uemura M, Tanaka S, Kawai K, Kitahara T, Miyo M, Kano Y, Nishikawa S, Fukusumi T, Takahashi Y, Hata T, Nishimura J, Takemasa I, Mizushima T, Ikenaga M, Kato T, Murata K, Carethers JM, Yamamoto H, Doki Y, Mori M. Clin Cancer Res. 1;22(21):5277-5286, 2016
- 6) SCGB2A1 is a novel prognostic marker for colorectal cancer associated with chemoresistance and radioresistance. **Munakata K**, Uemura M, Takemasa I, Ozaki M, Konno M, Nishimura J, Hata T, Mizushima T, Haraguchi N, Noura S, Ikenaga M, Okamura S, Fukunaga M, Murata K, Yamamoto H, Doki Y, Mori M. Int J Oncol. 44(5):1521-8, 2014

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Watanabe J, Takemasa I, Kotake M, Noura S, Kimura K, Suwa H, Tei M, Takano Y, Munakata K, Matoba S, Yamagishi S, Yasui M, Kato T, Ishibe A, Shiozawa M, Ishii Y, Yabuno T, Nitta T, Saito S, Saigusa Y, Watanabe M, for the Essential Trial Group	4. 巻 278
2. 論文標題 Blood Perfusion Assessment by Indocyanine Green Fluorescence Imaging for Minimally Invasive Rectal Cancer Surgery (Essential trial)	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Annals of Surgery	6. 最初と最後の頁 e688 ~ e694
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SLA.0000000000005907	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 Sato Hiromichi, Ota Hirofumi, Munakata Koji, Matsuura Yusuke, Fujii Makoto, Wada Noriko, Takiuchi Daisuke, Hama Naoki, Takachi Kou, Yukawa Masao	4. 巻 53
2. 論文標題 Perioperative fluid management influences complication rates and length of hospital stay in the enhanced recovery after surgery (ERAS) protocol for patients with colorectal cancer	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 242 ~ 251
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-022-02568-7	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 K Goto, J Watanabe, T Nagasaki, M Uemura, H Ozawa, Y Kurose, T Akagi, N Ichikawa, H Iijima, M Inomata, A Taketomi, T Naitoh; EnSSURE study group collaborators in Japan Society of Laparoscopic Colorectal Surgery	4. 巻 38
2. 論文標題 Impact of the endoscopic surgical skill qualification system on conversion to laparotomy after low anterior resection for rectal cancer in Japan (a secondary analysis of the EnSSURE study)	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Surgical Endoscopy	6. 最初と最後の頁 2454 ~ 2464
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00464-024-10740-y	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 N Sawada, T Akagi, M Shimomura, Y Todate, K Nagakari, H Takeshita, S Maruyama, M Takata, N Ichikawa, K Hida, H Iijima, S Yamaguchi, A Taketomi, T Naitoh; EnSSURE Study Group Collaboratives in Japan Society of Laparoscopic Colorectal Surgery.	4. 巻 8
2. 論文標題 Evaluation of the advantage of surgeons certified by the endoscopic surgical skill qualification system participating in laparoscopic low anterior rectal resection	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Annals of Gastroenterological Surgery	6. 最初と最後の頁 464 ~ 470
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ags3.12763	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
---------	---------