

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：32203

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590410

研究課題名(和文)大腸炎発癌のメカニズム解明に関する研究

研究課題名(英文) Research for mechanisms of ulcerative colitis associated colorectal neoplasia development.

研究代表者

藤盛 孝博 (FUJIMORI, TAKAHIRO)

獨協医科大学・医学部・教授

研究者番号：30095385

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：潰瘍性大腸炎に伴う腫瘍病変の術前診断は困難であるが、その診断によって患者の治療選択が異なる。潰瘍性大腸炎に伴う腫瘍病変は二つの基本形と三つの稀な形がある。しかし、これらの形態診断には限界がある。これらの問題を克服する為に、補助診断としての免疫組織学的な検討を行った。対象となった免疫染色は、P53 蛋白、DNA methyltransferase (DNMT)、estrogen reseptor (ER)、Regenerating gene (Reg)、および、内分泌細胞であった。遺伝子検索を行う必要があるが、免疫染色が潰瘍性大腸炎に伴う腫瘍の診断に有効であることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Pathological diagnosis of colorectal neoplasia associated with ulcerative colitis (UC) is difficult and diagnostic error can cause a significant impact on treatment options for the patient. Neoplasia associated with UC were two common types and three rare types. However, the efficacy of current morphological diagnosis remains unsatisfactory in early detection of these tumors. In order to overcome these difficulties, we assess the immunohistochemical analysis of P53, DNMT, ER, REG and neuroendocrine differentiation. Immunohistochemistry was useful tools for pathological discrimination between UC associated neoplasia and inflammatory regenerative epithelium, whereas, to settle these issues further studies based on the molecular markers, needed be carried out.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：潰瘍性大腸炎関連腫瘍 前癌状態 癌化高危険群 REG 1 DNMT1/3b IL-22 STAT3

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 炎症性腸疾患 Inflammatory Bowel Disease (IBD) と大腸癌の関係は、潰瘍性大腸炎の癌化 (UC 癌) が一般的である。Crohn 病の癌化 (CD 癌) や結核、放射性腸炎など長期に渡る炎症でも症例報告はあるが数は少ない。UC 癌の累積発生率は罹病期間 10 年で 2% が癌を合併するとされている。本邦では更に頻度が高く、5% とされている。この 10 年で潰瘍性大腸炎の疾患登録は 14 万人を超えている。今後の大腸癌の前癌病変として潰瘍性大腸炎は重要な位置づけにある。

(2) 我々は既に過去の科学研究費に関わる研究で UC 癌の実験モデルを完成させた。その結果、P53 遺伝子のノックアウトマウスを用いて P53 遺伝子変異が UC 癌の重要な因子であることを明らかにした。それに伴い、DNA や RNA に変異を導入する遺伝子編集酵素の一つである activation-induced cytidine deaminase (AID) の持続的発現がこの経路に重要な役割があることを京都大学消化器内科との共同研究で明らかにした。これらの経緯で UC 癌の発生予防に炎症をコントロールすることの重要性も同時に明らかにできた。

(3) これら (1) (2) の病因解明が進む一方、病理組織診断としては前癌病変である異形成 (UC 癌に伴う腫瘍性病変; dysplasia) はもとより、浸潤癌の病理診断すら未だ一般化していない。あるいは、癌診断が未熟といえる。

## 2. 研究の目的

(1) 臨床材料を集積し、形態学的に dysplasia の診断学を確立する。更にその診断学を均質化する。

(2) 今後増えるであろう UC 癌の早期発見のための高リスク群の選別を効率化する方法を開発する。そして、その方法の簡便化、一般化を目指す。

## 3. 研究の方法

(1) 臨床材料を東京女子医科大学外科と共同研究の一環として我々の施設で集積し、その手術材料を全割し、連続的、段階的組織標本を作製した上で、全例の形態診断を異型度で分類する。

(2) (1) の結果を P53 遺伝子蛋白 (D0-7) での免疫染色および、パラフィン包埋材料から抽出した DNA を用いて PCR-SSCP 法と直接シーケンスによる遺伝子変異の解析を行い、(1) で行った形態診断との対比を行った。

(3) (2) の研究の結果、P53 免疫染色 (P53-immunohistochemistry; P53-IHC) の判定の限界を明らかにする。

## 4. 研究成果

(1) HE 染色で診断困難であった dysplasia の診断に P53-IHC が有効であることを示した。

(2) P53-IHC の限界を PCR-SSCP や直接シーケンスを用いることでより確実な P53 遺伝子異常による dysplasia の診断学を確立した。(1) (2) の結果は、60 例以上、100 病変の材料を東京女子医科大学だけではなく、全国から集積できたことが国内外でも重要な成果と考えられる。1 施設で多数の UC 癌を同じ方法で解析したのは稀なことである。

(3) P53-IHC は染色態度が特殊である。いわゆる、basal pattern といわれる染色性で、表層上皮が陰性であるにもかかわらず、crypt 側に陽性所見がみられる。腫瘍の診断にこれらの診断対象細胞のうち陽性細胞が 45% を超える basal pattern は形態的に異形成と診断できることを明らかにした。これらの結果は SSCP や直接シーケンスの結果とも相関した。この結果は、潰瘍性大腸炎の癌もしくは、前癌病変を含む粘膜の背景として形態診断以前に P53 の異常があるという従来の研究を臨床病理学的な点から支援する結果であると考えられた。

(4) 次に、DNA のメチル化異常と UC 癌の高危険群の拾い上げを目的に、エストロゲンレセプター (ER) のメチル化異常について検討し、ER のメチル化異常が UC 癌高危険群の拾い上げに重要であることを示すことができた。この結果、臨床例で 20 歳の癌化例を内視鏡治療で行い、現在、腫瘍については完治した状況である。

(5) P53-IHC だけでなく、メチル化酵素や内分泌細胞を対象にした IHC で更に形態診断に有効な補助診断法を確立した。

(6) UC 癌での診断学を CD 癌にも応用が可能であることを明らかにした。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 10 件)

Akimoto N, Fujimori T, Mitomi H, Ichikawa K, Tomita S, Tatsuguchi A, Fujimori S, Naito Z, Sakamoto C, Micropapillary pattern at the invasive front and its association with unresectable colorectal carcinomas, Disease Markers, 査読有, 35, 2013,

451-455

DOI: 10.1155/2013/851623

Ichikawa K, Fujimori T, Moriya T, Ochiai A, Yoshinaga S, Kushima R, Nagahama R, Ohkura Y, Tanaka S, Ajioka Y, Hirata I, Tanaka M, Hoshihara Y, Kinoshita Y, Sasano H, Iwashita A, Tomita S, Hirota S, Yao T, Fujii S, Matsuda T, Ueno H, Ishikawa Y, Takubo K, Fukushima N, Sugai Y, Iwafuchi M, Imura J, Manabe T, Fukuyama M, Digestive disease management in Japan: A report on The 6th diagnostic pathology summer fest in 2012, Digestion, 査読有, 88, 2013, 153-160  
DOI: 10.1159/000355330

Ikumoto T, Hayashi S, Tomita S, Miwa S, Mitomi H, Fujimori T, Imura J, Manganese superoxide dismutase plays an important role in the inflammatory process and predicts disease severity and activity in patients with ulcerative colitis, APMIS, 査読有, 2013,  
DOI: 10.1111/apm.12192

Okamoto Y, Fujimori T, Ohkura T, Sugai T, Arai T, Wataneabe G, Wada R, Ueno H, Togashi K, Yao T, Kushima R, Mitomi H, Tomita S, Igarashi Y, Ichikawa K, Histological assessment of intra-and inter-institutional reliabilities in detection of desmoplastic reaction in biopsy specimens of early colorectal carcinomas, Pathology International, 査読有, 63, 2013, 539-545  
DOI: 10.1111/pin.12110

Shigaki K, Mitomi H, Fujimori T, Ichikawa K, Tomita S, Imura J, Fujii S, Itabashi M, Kameoka S, Sahara R, Takenoshita S, Immunohistochemical analysis of chromogranin A and p53 expression in ulcerative colitis-associated neoplasia: neuroendocrine differentiation as an early event in colitis-neoplasia sequence, Human Pathology, 査読有, 44, 2013, 2393-2399  
DOI: 10.1016/j.humpath.2013.06.008

Tanaka T, Ichikawa K, Maruoka T, Tomita S, Ueda H, Yamaguchi T, Shida Y, Kato H, Nagata H, Kubota K, Akimoto N, Sakamoto C, Imura J, Arita M, Tanaka H, Okamoto Y, Igarashi T, Fujimori T, Analysis of the anatomic subsites, gender and age in unresectable advanced

colorectal carcinomas in Tochigi, Japan suggests a shift in location towards the right side colon in elderly patients treated with cetuximab, Molecular and clinical Oncology, 査読有, 1, 2013, 291-296

Ueda H, Tanaka H, Ichikawa K, Itabashi M, Kameoka S, Fujii S, Saito N, Kimura R, Shida Y, Fujimori Y, Ohtake S, Tomita S, Imura J, Yasuda Y, Tanigawa N, Uchiyama K, Fujimori T, Immunohistochemical analysis of the DNA methyltransferase 3b expression is associated with significant improvements in the discrimination of ulcerative colitis-associated neoplastic lesions, Surgery Today, 査読有, 43, 2013, 1275-1280  
DOI: 10.1007/s00595-012-0456-6

Imura J, Fujimori T, IgG4-related plasmacytic enteropathy mimicking ulcerative colitis, International Journal of Surgical Pathology, 査読有, 20, 2012, 59

Fukui H, Sekikawa A, Tanaka H, Fujimori T, Katake Y, Fujii S, Ichikawa K, Tomita S, Imura J, Chiba T, Fujimori Tm, DMBT1 is a novel gene induced by IL-22 ulcerative colitis, Inflammatory Bowel Disease, 査読有, 17, 2011, 1177-1188

Tanaka H, Fukui H, Fujii S, Sekikawa A, Yamagishi H, Ichikawa K, Tomita S, Imura J, Yasuda Y, Chiba T, Fujimori T, Immunohistochemical analysis of REG I expression in ulcerative colitis-associated neoplastic lesions. Digestion, 査読有, 83, 2011, 204-209

〔学会発表〕(計5件)

池松弘朗、藤盛孝博、他、大腸 pSM 癌の切除後の長期予後他施設共同検討 (結腸 vs 直腸) (第2報)、第102回日本病理学会総会、2013/6/7、さっぽろ芸文館

大竹陽介、藤盛孝博、他、大腸癌 K-ras 遺伝子変異検索におけるパイロシーケンシングの精度の検討、第102回日本病理学会総会、2013/6/7、さっぽろ芸文館

秋元直彦、藤盛孝博、他、Invasive micropapillary carcinoma は Dukes 'C 大腸癌における難知性大腸癌の予測因子となりうる、第102回日本病理学会総会、2013/6/8、ロイトン札幌

丸岡喬、藤盛孝博、他、Crohn 病に回腸癌を併発した 1 例、第 102 回日本病理学会総会、2013/6/8、ロイトン札幌

岡本健太郎、藤盛孝博、他、リン酸化 EGFR を用いた LHP における SSA/P と HP の検討、第 102 回日本病理学会総会、2013/6/8、ロイトン札幌

〔図書〕(計 1 件)

Tomita S, Fujii S, Fujimori T, In Tech, Desmoplastic reaction in biopsy specimens of T1 stage colorectal cancer plays a critical role in defining the level of sub-mucosal invasion, 2-13, 161-175

6 . 研究組織

(1)研究代表者

藤盛 孝博 (FUJIMORI, Takahiro)

獨協医科大学・医学部・教授

研究者番号：3 0 0 9 5 3 8 5