

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460416

研究課題名(和文) 大腸鋸歯状病変の発癌過程における分子病理学的制御の解明と鑑別診断への応用

研究課題名(英文) Molecular mechanisms of serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis and their application to diagnosis

研究代表者

仙谷 和弘 (Sentani, Kazuhiro)

広島大学・医歯薬保健学研究院(医)・講師

研究者番号：30508164

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：消化管癌の遺伝子データベースの中から見出したSPC18とBST2は大腸癌の約半数に発現し、臨床病期の高い症例や予後不良症例に特に頻度が高く、その発現は腫瘍の増殖能や浸潤能を亢進させた。いずれの分子も古典的発癌経路の大腸癌および前癌病変では高発現するものの、鋸歯状病変の発癌経路に関与するとされるMSI-H大腸癌やSSA/P、TSAなどでは発現はほとんど認められず、発癌メカニズムの違いを明らかにする重要な分子である可能性がある。

また、790例の胃癌を用いた免疫組織学的検討で浸潤先進部は表層部と比べてMMP-7, laminin 2, EGFRの発現が高く、腫瘍の悪性度に寄与することを見出した。

研究成果の概要(英文)：Expression of SPC18 and BST2, identified from the gene databases of gastrointestinal cancer, were observed in about half of colorectal cancer (CRC). There was a significant correlation of their expressions with high stage and poor prognosis, and both molecules promoted the ability of proliferation and invasion in CRC. These molecules expressed more frequently in CRC and precancerous lesions of classical pathway than those in serrated pathway. These results indicated that SPC18 and BST2 might be a crucial molecules involving in the differences of both pathways. In addition, we clarified the significance of MMP-7, laminin 2 and EGFR at the invasive front of gastric cancer and their association with tumor aggressiveness.

研究分野：人体病理

キーワード：大腸発癌

#### 1. 研究開始当初の背景

わが国では近年大腸癌による死亡は男女共に増加傾向にあり、この克服は大きな課題であるが、同じ組織型に分類される大腸癌でも、その遺伝子発現、生物学的動態、悪性度は大きく異なる。大腸鋸歯状病変は、鋸歯状構造を示す腺管から構成される非腫瘍性あるいは腫瘍性病変で、この大腸鋸歯状病変を経由した発癌経路である serrated pathway は従来の adenoma-carcinoma sequence とは異なる経路と考えられており、鋸歯状病変は大腸癌の前癌病変として、通常型の腺腫(Conventional adenoma)に次いで注目すべき疾患群である。しかし、大腸鋸歯状病変の発生や癌への進展メカニズム、さらには診断基準の確立などの解決されていない問題点も多い。

#### 2. 研究の目的

全大腸癌の約 20%を占める serrated pathway を経由する大腸癌の解明には、その前駆病変である鋸歯状病変の解析が不可欠である。本研究では、大腸鋸歯状病変のトランスクリプトーム解析によって得られたデータを基盤として、大腸鋸歯状病変の発生・進展に関わる候補遺伝子の発現パターンを多数の臨床検体を用いて検証し、その生物学的意義や実施診療への応用に焦点を充てて解析を行う。候補分子の臨床病理学的因子意義の解析や既知の癌細胞マーカーとの関連、細胞生物学的機能の解析などを通じて、serrated pathway を経由する大腸癌の発生・進展における役割を明らかにし、最終的にはその成果を診断・治療に応用することを目的とする。

#### 3. 研究の方法

新規大腸鋸歯状病変関連遺伝子の抽出にあたり、実際の大腸腫瘍からの RNA 抽出とトランスクリプトーム解析を行い、当研究室現有の CAST ライブラリー、SAGE ライブラリー、マイクロアレイのデータベースの他に、NCBI のデータベースや PubMed 等を利用して得られた膨大なデータの中から候補遺伝子を絞り込んだ。多数の臨床検体を用いて臨床病理学的意義を明らかにするとともに、既知の癌幹細胞マーカーや癌関連分子との発現の相関も検討した。また細胞株を用いて増殖能や浸潤能などの細胞生物学的機能を解析するとともに、鑑別診断マーカーへの応用も目指した。

#### 4. 研究成果

消化管癌の遺伝子データベースの中から見出した SPC18 と BST2 は大腸癌の約半数に発現し、臨床病期の高い症例や予後不良症例に特に頻度が高く、その発現は腫瘍の増殖能や浸潤能を亢進させた。いずれの分子も古典的発癌経路の大腸癌および前癌病変では高発現するものの、鋸歯状病変の発癌経路に関与するとされる MSI-H 大腸癌や SSA/P、TSA などでは発現はほとんど認められず、発癌メカニズムの違いを明らかにする重要な分子である可能性がある。

また、790 例の胃癌を用いた免疫組織学的検

討で浸潤先進部は表層部と比べて MMP-7, laminin $\gamma$ 2, EGFR の発現が高く、腫瘍の悪性度に寄与することを見出した。

#### 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 3 2 件)以下は全て査読有

1. Ueda T, Nakata Y, Yamasaki N, Oda H, **Sentani K**, Kanai A, Onishi N, Ikeda K, Sera Y, Honda Z, Tanaka K, Sata M, Ogawa S, Yasui W, Saya H, Takita J, Honda H: ALKR1275Q perturbs extracellular matrix, enhances cell invasion, and leads to the development of neuroblastoma in cooperation with MYCN. **Oncogene**, 2016, in press. 10.1038/onc.2015.519.

2. Kawaguchi Y, Hinoi T, Saito Y, Adachi T, Miguchi M, Niitsu H, Sasada T, Shimomura M, Egi H, Oka S, Tanaka S, Chayama K, **Sentani K**, Oue N, Yasui W and Ohdan H: Mouse model of proximal colon-specific tumorigenesis driven by microsatellite instability-induced Cre-mediated inactivation of Apc and activation of Kras. **J Gastroenterol** 51:447-457, 2016 10.1159/000438826.

3. Oo HZ, **Sentani K**, Mukai S, Hattori T, Shinmei S, Goto K, Sakamoto N, Naito Y, Anami K, Trang PBT, Yanagihara K, Oue N and Yasui W: Fukutin, identified by Escherichia coli Ampicillin Secretion Trap (CAST) method, participates in tumor progression in gastric cancer. **Gastric Cancer** 19:443-452, 2016 10.1007/s10120-015-0511-2.

4. Anami K, Oue N, Noguchi T, Sakamoto N, **Sentani K**, Hayashi T, Naito Y, Oo HZ and Yasui W: Tetraspanin 8, identified by the Escherichia coli ampicillin secretion trap, is associated with cell growth and invasion in gastric cancer. **Gastric Cancer** 19:370-380, 2016 10.1007/s10120-015-0478-z.

5. Goto K, Ishikawa S, Honma R, Tanimoto K, Sakamoto N, **Sentani K**, Oue N, Teishima J, Matsubara A and Yasui W: The transcribed-ultraconserved regions in prostate and gastric cancer: DNA hypermethylation and microRNA-associated regulation. **Oncogene**, 2015, in press. 10.1038/onc.2015.445.

6. Kitagawa T, Yamamoto H, **Sentani K**, Takahashi S, Tsushima H, Senoo A, Yasui W, Sueda T and Kihara Y: Deta set for volumetric

- and pathological findings of epicardial adipose tissue. **Data Brief** 5:337-341, 2015  
10.1016/j.dib.2015.09.016.
7. Kitagawa T, Yamamoto H, **Sentani K**, Takahashi S, Tsushima H, Senoo A, Yasui W, Sueda T and Kihara Y: The relationship between inflammation and neoangiogenesis of epicardial adipose tissue and coronary atherosclerosis based on computed tomography analysis. **Atherosclerosis** 243:293-299, 2015  
10.1016/j.atherosclerosis.2015.09.013.
8. Sasada T, Hinoi T, Saito Y, Adachi T, Takakura Y, Kawaguchi Y, Sotomaru Y, **Sentani K**, Oue N, Yasui W and Ohdan H: Chlorinated water modulates the development of colorectal tumors with chromosomal instability and gut microbiota in Apc-deficient mice. **PLoS One** 10(7):e0132435, 2015  
10.1371/journal.pone.0132435.
9. Hibino Y, Sakamoto N, Naito Y, Goto K, Oo HZ, **Sentani K**, Hinoi T, Ohdan H, Oue N and Yasui W: Significance of miR-148a in colorectal neoplasia: Down-regulation of miR148a contributes to carcinogenesis and cell invasion of colorectal cancer. **Pathobiology** 82:233-241, 2015  
10.1159/000438826.
10. Higashi A, Dohi Y, Uraoka N, **Sentani K**, Uga S, Kinoshita H, Sada Y, Kitagawa T, Hidaka T, Kurisu S, Yamamoto H, Yasui W and Kihara Y: Potential role of inflammation associated with interaction between osteopontin and CD44 in a case of pulmonary tumor thrombotic microangiopathy caused by breast cancer. **Internal Medicine** 54:2877-2880, 2015  
10.2169/internalmedicine.54.4749.
11. Naito Y, Oue N, Pham TTB, Yamamoto M, Fujiwara M, Ishida T, Hida E, Mukai S, **Sentani K**, Sakamoto N, Sasaki H and Yasui W: Characteristic miR-24 expression in gastric cancer of atomic-bomb survivors. **Pathobiology** 82:68-75, 2015  
10.1159/000398809.
12. Sakane J, Taniyama K, Miyamoto K, Saito A, Kuraoka K, Nishimura T, **Sentani K**, Oue N and Yasui W: Aberrant DNA methylation of DLX4 and SIM1 is a predictive marker for disease progression of uterine cervical low-grade squamous intraepithelial lesion. **Diagn Cytopathol** 43:462-470, 2015  
10.1002/dc.23256.
13. Sawada T, Yashiro M, **Sentani K**, Oue N, Yasui W, Miyazaki K, Kai K, Fushida S, Fujimura T, Ohira M, Kakeji Y, Natsugoe S, Shirabe K, Nomura S, Shimada Y, Tomita N, Hirakawa K and Maehara Y: New molecular staging with G-factor supplements TNM classification in gastric cancer: A multicenter collaborative research by the Japanese Society for Gastroenterological Carcinogenesis G-Project committee. **Gastric Cancer** 18:119-128, 2015  
10.1007/s10120-014-0338-2.
14. Honda Y, Goto K, **Sentani K**, Yasui W, Ikeda K, Matsubara A and Awai K: T-staging of urothelial carcinomas of the ureter by CT: A preliminary study of new diagnostic criteria proposed for differentiating between T2 or lower and T3 or higher. **Am J Roentgenol** 204:792-797, 2015  
10.2214/AJR.14.13167.
15. **Sentani K**, Ogawa I, Uraoka N, Ikeda M, Hayashi N, Hattori T, Hattori Y, Oue N, Takata T and Yasui W: High-grade epithelial-myoeplithelial carcinoma of the parotid gland with mucous cell differentiation. **Pathol Int** 65:490-494, 2015  
10.1111/pin.12315.
16. Naito Y, Yasuno K, Tagawa H, Sakamoto N, Oue N, Yashiro M, **Sentani K**, Goto K, Shinmei S, Oo HZ, Yanagihara K, Hirakawa K and Yasui W: miR-145 is a potential prognostic factor of scirrhous type gastric cancer. **Oncol Rep** 32:1720-1726, 2014  
10.3892/or.2014.3333.
17. Oo HZ, **Sentani K**, Sakamoto N, Anami K, Naito Y, Uraoka N, Oshima T, Yanagihara K, Oue N and Yasui W: Overexpression of ZDHHC14 promotes migration and invasion of scirrhous type gastric cancer. **Oncol Rep** 32:403-410, 2014  
10.3892/or.2014.3166.
18. Goto K, Oue N, Hayashi T, Shinmei S, Sakamoto N, **Sentani K**, Teishima J, Matsubara A and Yasui W: Expression of novel biomarkers identified by Escherichia coli ampicillin secretion trap: Oligophrenin-1 is associated with cell adhesion and migration in prostate cancer. **Pathobiology** 81:190-198, 2014  
10.1159/000363345.
19. **Sentani K**, Uraoka N, Oue N and Yasui W: Alpha-fetoprotein-producing clear cell carcinoma of the gallbladder with neuroendocrine differentiation. **Med Mol Morphol** 47:54-56, 2014

- 10.1007/s00795-013-0049-5.
20. Shinmei S, **Sentani K**, Hayashi T, Sakamoto N, Goto K, Oo HZ, Naito Y, Teishima J, Matsubara A, Oue N, Kuniyasu H and Yasui W: Identification of PRL1, a novel diagnostic and therapeutic target for castration resistant prostate cancer by the Escherichia Coli ampicillin secretion trap (CAST) method. **Urologic Oncology** 32:769-778, 2014  
10.1016/j.urolonc.2014.03.007.
21. Oo HZ, **Sentani K**, Sakamoto N, Anami K, Naito Y, Oshima T, Yanagihara K, Oue N, Yasui W: Identification of novel transmembrane proteins in scirrhous type gastric cancer by Escherichia coli ampicillin secretion trap (CAST) method: TM9SF3 participates in tumor invasion and serves as a prognostic factor. **Pathobiology** 81:138-148, 2014  
10.1159/000357821.
22. Sakamoto N, Naito Y, Oue N, **Sentani K**, Uraoka N, Oo HZ, Yanagihara K, Aoyagi K, Sasaki H and Yasui W: MiR-148a is down-regulated in gastric cancer, targets MMP7 and indicates tumor invasiveness and poor prognosis. **Cancer Sci** 105:236-243, 2014  
10.1111/cas.12330.
23. Naito Y, Sakamoto N, Oue N, Yashiro M, **Sentani K**, Yanagihara K, Hirakawa K and Yasui W: MicroRNA-143 regulates collagen type III expression in stromal fibroblasts of scirrhous type gastric cancer. **Cancer Sci** 105:228-235, 2014  
10.1111/cas.12329.
24. Uraoka N, Oue N, Sakamoto N, **Sentani K**, Oo HZ, Naito Y, Noguchi T and Yasui W: NRD1, which encodes nardilysin protein, promotes esophageal cancer cell invasion through induction of MMP2 and MMP3 expression. **Cancer Sci** 105:134-140, 2014  
10.1111/cas.12316.
25. **Sentani K**, Matsuda M, Oue N, Uraoka N, Naito Y, Sakamoto N and Yasui W: Clinicopathological significance of MMP-7, laminin $\gamma$ 2 and EGFR at the invasive front of gastric carcinoma. **Gastric Cancer** 17:412-422, 2014  
10.1007/s10120-013-0302-6.
26. Oue N, Naito Y, Hayashi T, Takigahira M, Kawano-Nagatsuma A, **Sentani K**, Sakamoto N, Oo HZ, Uraoka N, Yanagihara K, Ochiai A, Sasaki H and Yasui W: Signal peptidase complex 18, encoded by SEC11A, contributes to progression via TGF- $\alpha$  secretion in gastric cancer. **Oncogene** 33:3918-3926, 2014  
10.1038/onc.2013.364.
27. Feng Y, **Sentani K**, Wiese A, Sands E, Green M, Bommer GT, Cho KR and Fearon ER: Sox9 induction, ectopic paneth cells, and mitotic spindle axis defects in mouse colon adenomatous epithelium arising from conditional biallelic apc inactivation. **Am J Pathol** 183:493-503, 2013  
10.1016/j.ajpath.2013.04.013.
28. Sawada T, Yashiro M, **Sentani K**, Oue N, Yasui W, Miyazaki K, Kai K, Fujita H, Nakamura K, Maeda K, Kakeji Y, Natsugoe S, Shirabe K, Nomura S, Shimada Y, Tomiya N, Hirakawa K and Maehara Y: New molecular staging with G-factors (VEGF-C and Reg IV) by supplementing TNM classification in colorectal cancers. **Oncol Rep** 30:2609-2616, 2013  
10.3892/or.2013.2787.
29. Kushiyaama A, Sakoda H, Oue N, Okubo H, Nakatsu Y, Ono H, Fukushima T, Kamata H, Nishimura F, Kikuchi T, Fujishiro M, Nishiyama K, Aburatani H, Kushiyaama S, Iizuka M, Taki N, Encinas J, **Sentani K**, Ogonuku N, Ogura A, Kawazu S, Yasui W, Higashi Y, Kurihara H, Katagiri H and Asano T: Resistin-like molecule  $\beta$  is abundantly expressed in foam cells and is involved in atherosclerosis development. **Arterioscler Thromb Vasc Biol** 33:1986-1993, 2013  
10.1161/ATVBAHA.113.301546.
30. **Sentani K**, Sakamoto N, Shimamoto F, Anami K, Oue N and Yasui W: Expression of olfactomedin 4 and claudin-18 in serrated neoplasia of the colorectum: A characteristic pattern is associated with sessile serrated lesion. **Histopathology** 62:1018-1027, 2013  
10.1111/his.12099.
31. Shinmei S, Sakamoto N, Goto K, **Sentani K**, Anami K, Hayashi T, Teishima J, Matsubara A, Oue N, Kitadai Y and Yasui W: MicroRNA-155 is a predictive marker for survival in patients with clear cell renal cell carcinoma. **Int J Urol** 20:468-477, 2013  
10.1111/j.1442-2042.2012.03182.x.
32. Goto K, Oue N, Shinmei S, **Sentani K**, Sakamoto N, Naito Y, Hayashi T, Teishima J, Matsubara A and Yasui W: Expression of miR-486 is a potential prognostic factor after nephrectomy in advanced renal cell carcinoma. **Mol Clin Oncol** 1:235-240, 2013  
DOI なし

〔学会発表〕(計 119 件)

1. **仙谷和弘**、浦岡直礼、服部拓也、内藤 寛、坂本直也、大上直秀、安井 弥：胃癌浸潤先進部における MMP-7、laminin2、EGFR の臨床的意義。第 74 回日本癌学会学術総会、名古屋、10 月 8-10 日、2015
2. **Sentani K**, Oo HZ, Shinmei S, Mukai S, Sakamoto N, Naito Y, Goto K, Hattori Y, Uraoka N, Oue N and Yasui W: Fukutin, identified by *Escherichia coli* Ampicillin Secretion Trap (CAST) method, participates in tumor progression in gastric cancer. The 5<sup>th</sup> Taiwan-Japan Conjoint Slide Conference of IAP, Taipei (Taiwan), October 25-26, 2014
3. **仙谷和弘**、坂本直也、嶋本文雄、浦岡直礼、服部拓也、大上直秀、安井 弥：大腸鋸歯状病変における olfactomedin4 と claudin—18 の臨床病理学的意義。第 73 回日本癌学会学術総会、横浜、9 月 25-27 日、2014
4. **仙谷和弘**、大上直秀、内藤 寛、坂本直也、Htoo Zarni Oo、浦岡直礼、青柳一彦、佐々木博己、安井 弥：腸型粘液形質胃癌で多く発現する HOXA10 は予後良好因子である。第 72 回日本癌学会学術総会、10 月 3-5 日、横浜、2013

〔図書〕(計 5 件)

1. 大上直秀、**仙谷和弘**、坂本直也、浦岡直礼、安井 弥：消化管癌におけるマイクロ RNA の意義。杉原健一・編、最新臨床大腸癌学、pp105-108、日本臨床社、大阪、2015
2. **仙谷和弘**、若松雄太、Htoo Zarni Oo、安井 弥：胃癌原発巣と転移巣の病理像。安井 弥、北島政樹、吉田和弘・監修、臨床医のための胃がん病理アトラス、pp65-69、メディカルレビュー社、東京、2014
3. 大上直秀、**仙谷和弘**、坂本直也、安井 弥：胃癌の遺伝子異常。外科・術後障害研究会・編、pp298-302、メジカルビュー社、東京、2014
4. **仙谷和弘**、安井 弥：胃切除標本の取り扱い。胃外科・術後障害研究会・編、pp92-100、メジカルビュー社、東京、2014
5. Yasui W, Oue N, **Sentani K** and Tan DF: Chapter 29: Molecular diagnostics of esophageal and gastric cancers. In: Principle of molecular diagnostics and personalized cancer medicine, ed. By Dongfeng Tan and Henry Lynch, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp356-367, 2013

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
<http://home.hiroshima-u.ac.jp/byori/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

仙谷 和弘 (SENTANI KAZUHIRO)  
広島大学医歯薬保健学研究院 (医)・講師  
研究者番号：30508164