

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 25 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25670570

研究課題名(和文) Colitic cancer における Akt-mTOR とオートファジーの役割

研究課題名(英文) Akt-mTOR and Autophagy in Colitic Cancer

研究代表者

野澤 宏彰 (NOZAWA, HIROAKI)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：80529173

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：azoxymethan(AOM)とdextran sodium sulfate(DSS)によるcolitic cancerモデルマウスでは左側結腸優位に腫瘍の発生を認め、免疫組織学的に解析したところ、mTORの染色は確認されなかったが、下流因子である4E-BP1の発現が正常粘膜に比べて腫瘍組織に高く認めた。Western blottingにおいては4EBP1で正常粘膜より腫瘍組織で発現が亢進していた。酸化ストレスの指標として尿中で安定な8-OH-dGをこの実験系で測定したが、AOM/DSS投与群、DSS単独群、正常マウスに差を認められなかった。

研究成果の概要(英文)：In mouse models for colitic cancer using azoxymethan (AOM) and dextran sodium sulfate (DSS), tumors developed mainly in the proximal colon. The expression level of 4E-BP1 was higher in tumors than normal mucosa by immunohistochemical study, which was confirmed by western blotting. However, the level of urine 8-OH-dG as a marker of oxidative stress was unchanged by AOM and/or DSS treatment. The association between colitic cancer and Akt-mTOR signaling axis should be elucidated by more extensive experiments.

研究分野：大腸肛門病学

キーワード：colitic cancer 炎症性腸疾患 発癌 mTOR

1. 研究開始当初の背景

炎症性腸疾患(IBD)は慢性的な大腸炎を合併する疾患である。長期罹患の大腸炎は大腸癌の危険因子と考えており、腸炎を母地とした発癌(colitic cancer)は前癌病変である dysplasia から癌が発生する dysplasia-carcinoma sequence による発癌メカニズムの関与が考えられているが、その詳細は分かっていない。一般に炎症に関連した発癌においては活性酸素(ROS)が大きく関与することが言われており、ROS に応答して細胞内の Akt がリン酸化されることが明らかとなった。従って、colitic cancer においても Akt-mTOR シグナル伝達経路が活性化している可能性が考えられる。さらに mTOR は、タンパク合成の制御の他、オートファジーを負に制御することが知られている。

2. 研究の目的

ROS が引き起こしうる Akt-mTOR シグナル伝達経路の活性化が colitic cancer 発症に関与しているか、さらに mTOR が制御するオートファジーの役割を解析することを目的とした。

3. 研究の方法

4-6 週 齢 の BALB/c マウスに azoxymethan(AOM)を腹腔内投与し、その後 dextran sodium sulfate(DSS)を投与し colitic cancer モデルを作成した(AOM/DSS 群)。一方で、DSS のみの投与群と control 群を準備した。発生した腫瘍に対して Akt-mTOR シグナル伝達経路の評価を western blotting、免疫染色と real time PCR で解析した。Real time PCR に関しては GAPDH、TBP を内部標準として LC3、S6、mTOR を指標とした。尿中で安定な 8-OH-dG を酸化ストレスの指標として、マウスを代謝ケージで飼育することで蓄尿し、検体を採取し測定した。

4. 研究成果

Priliminary な AOM/DSS 群(DSS 濃度に変動あり)では左側結腸優位に腫瘍の発生を認めた。Akt-mTOR シグナル伝達経路の関与を免疫組織学的に解析したところ、mTOR の染色は確認されなかったが、下流因子である 4E-BP1 の発現が正常粘膜に比べて腫瘍組織に高く認められた。Western blotting においては 4EBP1 で正常粘膜より腫瘍組織で発現が亢進していた。

DSS 濃度を 2%に統一した実験系での Real time PCR では、正常粘膜、炎症組織、発がん組織と Akt-mTOR シグナル伝達経路の相関は確認されなかった。尿中の 8-OH-dG もこの実験系では AOM/DSS、DSS 群、正常マウスに差を認められなかった。

採取できた腫瘍量が十分ではない中での解析結果であり、今後の課題としては、腫瘍を十分な volume で確保すべく、AOM/DSS モデルマウスのプロトコールの更なる検討や TCR ノックアウトマウスで DSS を投与することにより、より効率的に腫瘍を作成することができる可能性が考えられ、これらの実験系での検討が必要であると考えられた。

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)

Hata K, Kishikawa J, Anzai H, Shinagawa T, Kazama S, Ishii H, Nozawa H, Kawai K, Kiyomatsu T, Tanaka J, Tanaka T, Nishikawa T, Otani K, Yasuda K, Yamaguchi H, Ishihara S, Sunami E, Kitayama J, Watanabe T. Surveillance colonoscopy for colitis-associated dysplasia and cancer in ulcerative colitis patients. Dig. Endosc. 査読有 28(3), 2016, pp.260-265.

Nirei T, Kazama S, Hiyoshi M, Tsuno NH, Nishikawa T, Tanaka T, Tanaka J, Kiyomatsu T, Hata K, Kawai K, Nozawa H, Kanazawa T, Yamaguchi H, Ishihara S, Sunami E, Kitayama J, Watanabe T. Successful treatment of rectovaginal fistula complicating ulcerative colitis with infliximab: a case report and review of the literature. *J Clin Med Res*. 査読有 7(1), 2015, pp.59-61.

Ishii H, Kawai K, Hata K, Shuno Y, Nishikawa T, Tanaka T, Tanaka J, Kiyomatsu T, Nozawa H, Kazama S, Yamaguchi H, Ishihara S, Sunami E, Kitayama J, Watanabe T. Comparison of Functional Outcomes of Patients Who Underwent Hand-Sewn or Stapled Ileal Pouch-Anal Anastomosis for Ulcerative Colitis. *Int Surg*. 査読有 100(7-8), 2015, pp.1169-1176.

Anzai H, Hata K, Kishikawa J, Ishii H, Nishikawa T, Tanaka T, Tanaka J, Kiyomatsu T, Kawai K, Nozawa H, Kazama S, Yamaguchi H, Ishihara S, Sunami E, Kitayama J, Watanabe T. Clinical pattern and progression of ulcerative proctitis in the Japanese population: a retrospective study of incidence and risk factors influencing progression. *Colorectal Dis*. 査読有 18(3), 2016, pp.097-0102.

Nozawa H, Ishihara S, Muroto K, Yasuda K, Ohtani K, Nishikawa T, Tanaka T, Kiyomatsu T, Hata K, Kawai K, Yamaguchi H, Watanabe T. Laparoscopy-assisted versus open surgery for multiple colorectal cancers with two anastomoses: a cohort study. *Springerplus*. 査読有 5, 2016, p.87

Nozawa H, Ishihara S, Fujishiro M,

Kodashima S, Ohtani K, Yasuda K, Nishikawa T, Tanaka T, Tanaka J, Kiyomatsu T, Kawai K, Hata K, Kazama S, Sunami E, Kitayama J, Watanabe T. Outcome of salvage surgery for colorectal cancer initially treated by upfront endoscopic therapy. *Surgery*. 査読有 159(3), 2016, pp.713-720.

Nozawa H, Ishihara S, Morikawa T, Tanaka J, Yasuda K, Ohtani K, Nishikawa T, Tanaka T, Kiyomatsu T, Kawai K, Hata K, Kazama S, Yamaguchi H, Sunami E, Kitayama J, Fukayama M, Watanabe T. Metachronous tubulovillous and tubular adenomas of the anal canal. *Diagn Pathol*. 査読有 10, 2015, p.139

Nozawa H, Nishikawa T, Tanaka T, Tanaka J, Kiyomatsu T, Kawai K, Hata K, Kazama S, Yamaguchi H, Ishihara S, Sunami E, Kitayama J, Watanabe T. Large Colorectal Carcinoma Is Predictive of Recurrence After Adjuvant Chemotherapy Using Oxaliplatin. *Anticancer Res*. 査読有 35(9), 2015, pp.5073-5078.

Nozawa H, Tanaka J, Nishikawa T, Tanaka T, Kiyomatsu T, Kawai K, Hata K, Kazama S, Yamaguchi H, Ishihara S, Sunami E, Kitayama J, Nakajima J, Kokudo N, Watanabe T. Predictors and outcome of complete removal of colorectal cancer with synchronous lung metastases. *Mol Clin Oncol*. 査読有 3(5), 2015, pp.1041-1047

Yoshioka Y, Nozawa H, Tanaka J, Nishikawa T, Tanaka T, Kiyomatsu T, Kawai K, Hata K, Kazama S, Yamaguchi H, Ishihara S, Sunami E, Kitayama J, Watanabe T. Small bowel adenocarcinoma arising in a patient with hereditary

hemorrhagic telangiectasia: A case report. Oncol Lett. 査読有 11(3), 2016, pp.2137-2139.

〔学会発表〕(計 2件)

Anzai H, Hata K, Kishikawa J, Yasuda K, Otani K, Nishikawa T, Tanaka T, Tanaka J, Kiyomatsu T, Kawai K, Nozawa H, Yamaguchi H, Ishihara S, Kitayama J, Watanabe T. Surveillance colonoscopy for detecting ulcerative colitis-associated neoplasia in a single institution: results of a 35-year surveillance program in the Japanese population. 第102回日本消化器病学会総会、2016年4月22日、京王プラザホテル(東京都・新宿区) 畑啓介、石原聡一郎、野澤宏彰、山口博紀、川合一茂、清松知充、田中敏明、田中潤一郎、安田幸嗣、西川武司、大谷研介、北山丈二、石井博章、安西紘幸、渡邊聡明 . 潰瘍性大腸炎術後慢性回腸嚢炎のリスクファクターに対するメタアナリシス . 第116回日本外科学会定期学術集会、2016年4月14日、大阪国際会議場(大阪府・大阪市)

〔図書〕(計 0件)

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野澤 宏彰 (NOZAWA, Hiroaki)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 80529173

(2) 研究分担者

山口 博紀 (YAMAGUCHI, Hironori)

東京大学・医学部附属病院・登録研究員

研究者番号: 20376445

須並 英二 (SUNAMI, Eiji)

東京大学・医学部附属病院・登録研究員

研究者番号: 70345205

渡邊 聡明 (WATANABE, Toshiaki)

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号: 80210920

(3) 連携研究者

(4) 連携研究者