

令和 2 年 5 月 19 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10624

研究課題名(和文) 潰瘍性大腸炎関連大腸癌における脂質メディエーターを介した新たな発癌機構の解明

研究課題名(英文) Role of lipid mediator in colitis-associated cancer

研究代表者

亀山 仁史 (Kameyama, Hitoshi)

新潟大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：40626420

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：スフィンゴシン1リン酸(S1P)は慢性炎症と癌の進展を制御する生理活性物質である。我々は潰瘍性大腸炎関連大腸癌と通常型大腸癌における脂質メディエーターの役割について検討した。さらに、両者における遺伝子変異についても解析した。潰瘍性大腸炎関連大腸癌では通常型大腸癌に比べてリン酸化スフィンゴシンキナーゼ1型が高発現しており、また、遺伝子変異にも差が認められた。本研究の結果により、脂質メディエーターおよび遺伝子変異の解析は潰瘍性大腸炎関連大腸癌の診断に有用であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、潰瘍性大腸炎に関連した大腸癌の発生が多数報告されており、その発生機序、通常型大腸癌との鑑別などが課題とされてきた。本研究において、脂質メディエーターが潰瘍性大腸炎関連大腸癌の発生に関与していること、脂質メディエーターの解析が早期大腸癌における診断鑑別に使用できる可能性が示唆された。また、遺伝子解析結果から、通常型大腸癌との違いも明らかにされたことにより、炎症性腸疾患関連大腸癌診断への一助となることが期待される。

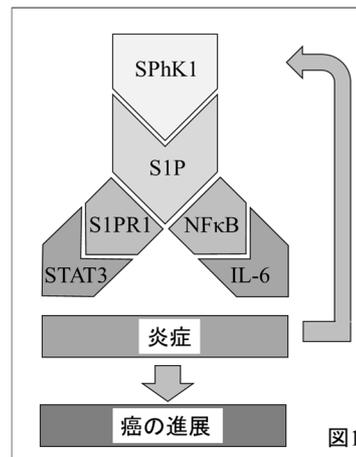
研究成果の概要(英文)：Sphingosine-1-phosphate (S1P) is a bioactive lipid mediator that regulates chronic inflammation and cancer progression. We investigated the role of lipid mediators in ulcerative colitis-associated cancer (CAC) and sporadic colorectal cancer (CRC). Furthermore, we analyzed the genetic aberrations in the above patients. Importantly, the expression of phosphorylated sphingosine kinase 1 of the CAC was higher than that of sporadic CRC. There were some differences in gene mutations between CAC and CRC patients. It was suggested that the expression of phosphorylated sphingosine kinase 1 and gene mutations are useful for the diagnosis of CAC.

研究分野：消化器外科

キーワード：大腸癌 潰瘍性大腸炎 脂質メディエーター 炎症性腸疾患

1. 研究開始当初の背景

日本において潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患の患者数は年々増加しており、その数は現在、両者を合わせて 20 万人を超えている。炎症性腸疾患では、慢性炎症に伴う様々な症状による Quality of life (QOL) の低下に加え、長期にわたる慢性炎症に伴う大腸癌の発生リスク増加が問題となることが知られている。脂質メディエーターであるスフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) は、炎症と癌の両者によく関連するが、炎症性腸疾患の発癌における働きはこれまで不明であった。申請者は近年、炎症性腸疾患マウスモデルを用いて、高発現したスフィンゴシンキナーゼ 1 型 (SphK1) によって産生された S1P が、慢性腸炎と大腸癌を結びつける重要な因子であることを発見した (Nagahashi et al, Cancer Cell 2013)。すなわち、慢性炎症状態において過剰産生された S1P が S1P 受容体を刺激することにより、転写因子である STAT3 の恒常的な活性化、S1P1 型受容体 (S1PR1) や SphK1 の高発現、IL-6 の過剰産生を引き起こしていることが明らかとなった (図 1)。上記動物モデルの結果を踏まえ、本研究では「潰瘍性大腸炎患者において、慢性炎症による SphK1 の活性化が S1P の産生を亢進させ、慢性炎症の持続と大腸癌の発生に関連している」という仮説を立て、本研究を企画した。



2. 研究の目的

本研究の目的は、「潰瘍性大腸炎関連大腸癌における脂質メディエーターS1Pの役割を明らかにし、新たな診断・治療法開発へ向けた研究基盤を確立すること」である。

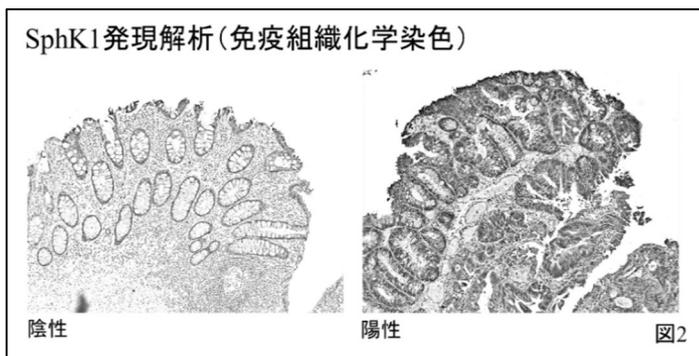
具体的に、以下を解明することを目的とした。

- 潰瘍性大腸炎関連大腸癌患者に關与する脂質メディエーターシグナル系の解析
- 潰瘍性大腸炎関連大腸癌の遺伝子変異検索

3. 研究の方法

(1)潰瘍性大腸炎に伴う大腸癌患者における S1P シグナルの解明と治療への応用

潰瘍性大腸炎に伴う大腸癌患者および通常型大腸癌を対象とし、手術検体を用いた免疫組織化学染色により、癌部および非癌部 (炎症部、非炎症部) において、抗リン酸化 SphK1 抗体を用いて SphK1 の活性化を評価する (図 2)。免疫組織化学染色の評価は Hanyu らの報告 (Hanyu, et al. Surgery 2018) に準じ、スコアを算定して陽性陰性の判定を行った (図 3)。また同様に、S1PR1、IL-6 および STAT3 の発現について検討する。pSTAT3 発現については核の染色が 10% 以上を陽性とした。IL-6 発現は細胞の 30% 以上を陽性と定義した。さらに、癌部および非癌部の凍結切片ならびに血清・血漿を保存し、質量分析装置によるリポドミクス解析を行い、S1P ならびにその代謝産物 (スフィンゴシン、セラミド等) を定量する。大腸起炎物質であるデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 並びに発癌物質であるアキゾシメタン (AOM) を用いて炎症性腸疾患関連大腸癌モデルを作製し、既存の炎症性腸疾患の治療薬に、S1P シグナル阻害薬である FTY720 を組み合わせて治療を行い、炎症性腸疾患関連大腸癌における抗 S1P シグナル療法の可能性を探索する。



免疫染色スコア評価

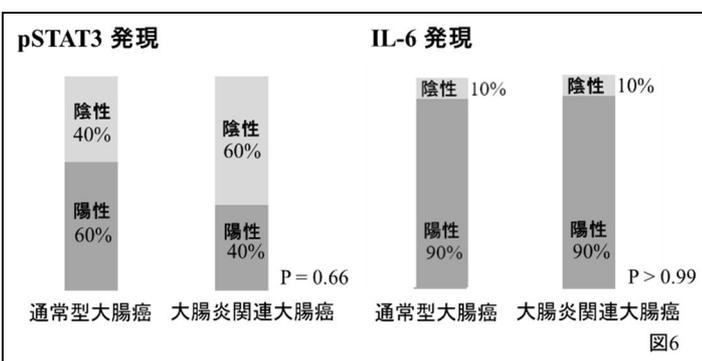
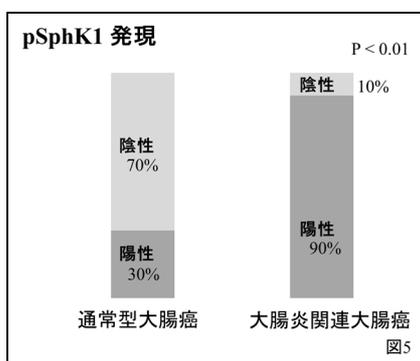
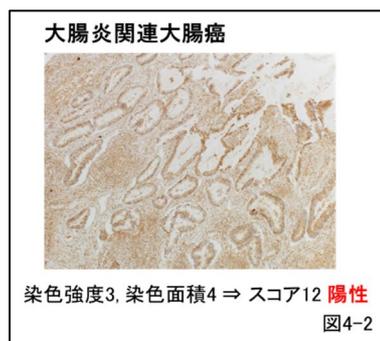
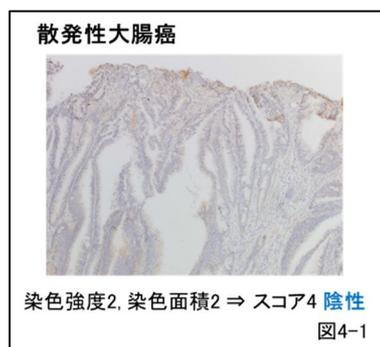
①染色強度 (0, 1, 2, 3)
②染色面積 1(0-25%), 2(25-50%), 3(50-75%), 4(75-100%)
① x ② ⇒ 0-12 点
0-4 点: 陰性
6-12 点: 陽性

(2)次世代シーケンサーを用いた潰瘍性大腸炎に伴う大腸癌の遺伝子変異検索

潰瘍性大腸炎関連大腸癌患者について、次世代シーケンサー (NGS) を用いて癌遺伝子解析を行い、既に我々が解析した通常型大腸癌 201 例のデータベースとの比較により、潰瘍性大腸炎関連大腸癌の特徴を明らかにする。また、臨床病理学的因子やリポドミクス解析と遺伝子変異との関連について検討する。統合解析については当施設バイオインフォマティクス部門と協力して行う。

4. 研究成果

(1)潰瘍性大腸炎関連大腸癌 (CAC) の手術検体を用い、免疫染色により癌部および非癌部における S1P 産生酵素 (pSphK1) の活性化を抗リン酸化抗体 (pSphk1) によって評価した (図 4-1,2)。ランダムに抽出した CAC10 例と通常型大腸癌 10 例を対象とした。年齢中央値は CAC で 66 (61-81) 歳、通常型大腸癌で 60 (33-76) 歳。臨床病理学因子として、腫瘍径 (cm) が CAC で 4.6 (範囲: 2.4-10)、通常型大腸癌で 2.5 (範囲: 1.2-5) ($P = 0.018$) と差がみられたが、その他、組織型、腫瘍部位、ステージ等には差を認めなかった。その結果、CAC では通常型大腸癌と比較して pSphK1 が染色強度・面積ともに癌部で高発現していた。通常型大腸癌では pSphK1 陽性例が 30%、CAC では 90%であった ($P < 0.01$) (図 5)。非癌部では CAC と通常型大腸癌で差を認めなかった ($P = 0.65$)。早期癌で検討すると、通常型大腸癌で pSphK1 発現を認めなかったのに対して CAC では 100%発現を認めた ($P < 0.01$)。以上より、CAC では早期の段階で脂質メディエーターを介した炎症が関与していることが想定された。pSTAT3、IL-6 については有意差を認めなかった (図 6)。また、通常、潰瘍性大腸炎では 5-ASA、ステロイド、免疫抑制剤等の治療が行われる。手術時におけるこれらの薬剤使用の有無が脂質メディエーター関連因子に関与しているかどうか検討した。その結果、pSphK1、pSTAT3、IL-6 の発現は差を認めなかった。しかし、症例毎にこれらの発現に一部、差異を認めており、更なる検討が必要である。



(2)当科では、既に通常型大腸癌 201 例に対し、次世代シーケンサー (NGS) を用いて 415 の癌遺伝子の変異検索を完了しており、データベースを完備している。当科の通常型大腸癌遺伝子解析の結果を踏まえ、潰瘍性大腸炎関連大腸癌と通常型大腸癌における遺伝子発現解析を比較し、両者の相違等につき考察し

遺伝子	遺伝子変異頻度		
	通常型大腸癌 (既報)	通常型大腸癌 (自施設データ)	大腸炎関連大腸癌 (既報)
TP53	52-75%	76%	89%
APC	76%	81%	21%
KRAS	42-53%	37%	40%
SMAD4	14-16%	29%	17%
MYC	4-9%	2%	26%
GNAS	11-6%	4%	13%
IDH1	0.6-1%	0.5%	11%

て英文論文化した (右表)。当科潰瘍性大腸炎症例に対して NGS を用いた遺伝子解析を行った。既報と同様に潰瘍性大腸炎関連大腸癌では通常型大腸癌と比較して、TP53 変異が高く、APC 変異頻度が低値であった (現在投稿準備中)。

本研究期間中では脂質メディエーター関連の治療法についての研究まで達成できなかったが今後の課題としたい。一方、本研究により解明できた事項は以下の通りである。

潰瘍性大腸炎関連大腸癌は通常型大腸癌と比較して、その発生段階において脂質メディエーターの関与がより強く示唆される。

Sphk1 活性化の評価は、潰瘍性大腸炎関連大腸癌と通常型大腸癌の診断鑑別に寄与する可能性がある。

潰瘍性大腸炎関連大腸癌と通常型大腸癌では遺伝子変異パターンに差異がある。

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 3件）

1. 著者名 Kameyama H, Nagahashi M, Shimada Y, Tajima Y, Ichikawa H, Nakano M, Sakata J, Kobayashi T, Narayanan S, Takabe K, Wakai T	4. 巻 16
2. 論文標題 Genomic characterization of colitis-associated colorectal cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 World Journal of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 121
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12957-018-1428-0	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 Yuza K, Nagahashi M, Shimada Y, Nakano M, Tajima Y, Kameyama H, Nakajima M, Takabe K, Wakai T	4. 巻 231
2. 論文標題 Upregulation of phosphorylated sphingosine kinase 1 expression in colitis-associated cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Surgical Research	6. 最初と最後の頁 323-330
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jss.2018.05.085	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 Hotta S, Shimada Y, Nakano M, Yamada S, Abe K, Oyanagi H, Yagi R, Tajima Y, Nakano M, Kameyama H, Nagahashi M, Sakata J, Kobayashi T, Wakai T.	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Feasibility of restorative proctocolectomy in patients with ulcerative colitis-associated lower rectal cancer: A retrospective study.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Asian Journal of Surgery	6. 最初と最後の頁 267-273
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.asjsur	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 Matsumoto A, Shimada Y, Nakano M, Oyanagi H, Tajima Y, Nakano M, Kameyama H, Hirose Yuki, Ichikawa H, Nagahashi M, Nogami H, Maruyama S, Takii Y, Ling Y, Okuda S, Wakai T	4. 巻 43
2. 論文標題 RNF43 mutation is associated with aggressive tumor biology along with BRAF V600E mutation in right-sided colorectal cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncology Reports	6. 最初と最後の頁 1853-1862
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/or.2020.7561	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7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 亀山仁史, 永橋昌幸, 油座 築, 田島陽介, 羽入隆晃, 中野雅人, 中島真人, 島田能史, 坂田 純, 若井俊文
2. 発表標題 潰瘍性大腸炎関連大腸癌診断における脂質メディエーター(S1P)解析の有用性
3. 学会等名 第73回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuza K, Nagahashi M, Shimada Y, Nakano M, Tajima Y, Kameyama H, Nakajima M, Ichikawa H, Sakata J, Kobayashi T, Takabe K, Wakai T
2. 発表標題 High Expression of Sphingosine Kinase 1 in Colitis-Associated Cancer
3. 学会等名 14th Annual Academic Surgical Congress (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 油座 築, 永橋昌幸, 島田能史, 中野麻恵, 田島陽介, 亀山仁史, 中島真人, 市川 寛, 坂田 純, 小林 隆, 高部和明, 若井俊文
2. 発表標題 潰瘍性大腸炎に合併した大腸癌 (colitic cancer) におけるリン酸化スフィンゴシンキナーゼ1高発現の意義
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 永橋 昌幸, 油座 築, 廣瀬 雄己, 市川 寛, 羽入 隆晃, 島田 能史, 小林 隆, 坂田 純, 亀山 仁史, 若井 俊文
2. 発表標題 リン酸化抗体を用いた免疫組織化学による消化器癌の脂質メディエーター解析研究
3. 学会等名 第74回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 島田 能史, 中野 雅人, 市川 寛, 永橋 昌幸, 羽入 隆晃, 小林 隆, 坂田 純, 亀山 仁史, 瀧井 康公, 若井 俊文
2. 発表標題 切除不能大腸癌に対するConversion Surgeryの現状 切除不能大腸癌のConversion Surgeryにおける遺伝子パネル検査の意義
3. 学会等名 第74回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 島田 能史, 永橋 昌幸, 市川 寛, 田島 陽介, 中野 雅人, 阿部 馨, 田中 花菜, 小柳 英人, 諸 和樹, 滝沢 一泰, 羽入 隆晃, 廣瀬 雄己, 三浦 宏平, 小林 隆, 坂田 純, 亀山 仁史, 野上 仁, 丸山 聡, 瀧井 康公, 若井 俊文
2. 発表標題 大腸癌のPrecision medicineの現状と展望 大腸癌診療における遺伝子パネル検査の可能性
3. 学会等名 第74回日本大腸肛門病学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 島田 能史, 田島 陽介, 小柳 英人, 永橋 昌幸, 市川 寛, 中野 麻恵, 中野 雅人, 諸 和樹, 坂田 純, 小林 隆, 亀山 仁史, 奥田 修二郎, 若井 俊文
2. 発表標題 大腸癌Hypermutationの臨床病理学的特徴(Clinicopathological features of hypermutation in colorectal cancer)
3. 学会等名 第78回日本癌学会総会
4. 発表年 2019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	島田 能史 (Shimada Yoshifumi) (20706460)	新潟大学・医歯学系・助教 (13101)	

6. 研究組織（つづき）

	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	永橋 昌幸 (Nagahashi Masayuki) (30743918)	新潟大学・医歯学総合病院・研究准教授 (13101)	
研究分担者	田島 陽介 (Tajima Yosuke) (30757505)	藤田医科大学・医学部・講師 (33916)	
研究分担者	若井 俊文 (Wakai Toshifumi) (50372470)	新潟大学・医歯学系・教授 (13101)	
研究分担者	中島 真人 (Nakajima Masato) (60588250)	新潟大学・医歯学総合研究科・客員研究員 (13101)	