

令和 2 年 6 月 21 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：17K08691

研究課題名(和文)大腸de novo癌の発生分子メカニズムの解明

研究課題名(英文)Molecular mechanism of de novo colorectal carcinoma

研究代表者

味岡 洋一 (Ajioka, Yoichi)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：80222610

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)：大腸 de novo癌の発生に関わる分子メカニズムは解明されていない。本研究では、大腸pT1 de novo癌47例を対象として、de novo癌の発生にp53遺伝子異常、ミスマッチ修復遺伝子異常、DNA損傷、が関与しているかどうかを免疫組織学的に検討した。その結果、de novo癌の発生には p53遺伝子異常が関与していること、ミスマッチ修復遺伝子異常は関与していないこと、他の発癌経路に比べDNA損傷(二重鎖切断)を来している頻度が高いこと、が推定された。de novo癌の発生の背景には、DNA損傷が生じやすい大腸微小環境が存在する可能性が示唆される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本人の大腸癌による死亡数は肺癌に次いで多い。大腸癌の中には、腺腫などの前癌病変から発生するものも多く、それらは大腸癌早期発見のターゲット病変となるが、正常大腸から直接発生するde novo癌にはターゲット病変はない。本研究では、de novo癌は前癌病変を介した発癌に比べDNAに多くの傷がついていることがわかった。このことから、大腸内のどのような微小環境が細胞のDNAに傷を付けやすいかが分かれば、de novo癌を早期に発見することが可能になると考えられる。

研究成果の概要(英文)： The molecular mechanism involved in the development of de novo colorectal carcinoma (de novo CRC) has not been clarified. In this study, we immunohistochemically investigated 47 cases of pT1 de novo CRC, whether or not p53 gene abnormality, mismatch repair gene abnormality, and DNA damage are involved in their development. As the results, it was suggested that p53 gene abnormality is, and mismatch repair gene abnormality is not involved in de novo CRC development, respectively. Furthermore, DNA damage (double-strand breaks) is more intimately related to their development than other histogenetic pathways of the CRC. It is suggested that the background of the development of de novo CRC may be the colonic microenvironment, which is likely to cause DNA damage.

研究分野：人体病理学

キーワード：大腸癌 de novo癌 発生メカニズム DNA二重鎖切断 p53 ミスマッチ修復遺伝子 免疫染色

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 日本人の大腸癌による死亡数は肺癌に次いで第2位、罹患数は第1位である。大腸癌は今後、罹患数・死亡数ともに増加することが予想されており、その予防、早期発見、効果的治療のためには、発生に関わる分子メカニズムを明らかにすることが必要である。

(2) 大腸癌の組織発生には、①腺腫の癌化 (adenoma-carcinoma sequence: ACS)、②de novo 発癌、③serrated neoplasia pathway (SNP)、④炎症性発癌、の4つの経路がある。組織発生と分子メカニズムとの関連では、ACSはAPC遺伝子異常により生じるβ-カテニン蛋白の異常核内発現、RAS遺伝子変異、p53遺伝子変異が、SNPはミスマッチ修復遺伝子 (MLH1、MSH2、MSH6、PMS2) 異常による遺伝子不安定性 (MSI: microsatellite instability) が、炎症性発癌では早期のp53遺伝子異常が、それぞれ背景にあることが解明されている。しかし、de novo 発癌についてはその分子メカニズムは解明されていない。

(3) 研究者らはこれまで、ACS、SNP、炎症性発癌を対象に、その発生過程におけるDNA損傷 (DNA double-strand breaks: DSB) とその修復応答 (DNA damage response: DDR) について検討し、炎症性発癌ではACS、SNPに比べDSBがより早期に起きていることを明らかにしてきた (基盤研究 (C) 平成26年~28年度) (課題番号26460415)。

2. 研究の目的

de novo 大腸癌の発生に、既知の遺伝子異常のいずれが関与するのか、DNA損傷や修復応答の破綻が、発癌のどの段階で生じているのか、を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) de novo 癌の定義: 本研究では、①大きさ10 mm以内、②深達度pT1 (SM)、③粘膜内部が残存、④残存粘膜内部が癌のみから構成され、腺腫や鋸歯状病変などの良性上皮性病変の併存がない、の4つの条件みたしたものをde novo 癌とした。

(2) 検討項目: 外科切除材料および内視鏡的切除材料pT1癌1,433例から(1)の定義を満たす病変を選択し、HE染色標本画像をバーチャルスライドに取り込み、残存粘膜内部とSM浸潤部のマッピングを行い、各領域についてp53免疫染色、ミスマッチ修復遺伝子蛋白 (MLH1、MSH2、MSH6、PMS2) 発現、DSBの指標であるγH2AX発現、について免疫組織学的検索を行った。

(3) 免疫染色の評価: ①p53免疫染色: 染色態度をnull (完全陰性)、sporadic (陽性細胞が散在性に存在)、mosaic (陽性細胞と陰性細胞が混在)、nested (巣状に陽性細胞の連続出現領域が存在)、diffuse (病変全体に陽性細胞が連続性に出現) の5パターンに分類した。研究者らの以前の研究結果から、nullはnonsense mutationに、nestedおよびdiffuseはmissense mutationに、sporadicおよびmosaicはwild typeに対応することから、null、nested、diffuseパターンを示したものはp53遺伝子異常あり、sporadicとmosaicパターンを示したものはp53遺伝子異常なし、と評価した。②ミスマッチ修復遺伝子蛋白発現: 免疫染色で染色性が完全に消失したものを「消失あり」と評価した。③γH2AX発現: γH2AX高発現部位を対物40倍視野で観察し、同視野内の陽性細胞をγH2AX indexとした。

4. 研究成果

(1) 10 mm以下の小病変が対象であるため、免疫染色用連続切片作成により病変が消失したのもあり、最終的にはpT1 de novo 癌47病変が選択された。

(2) 47例の内訳は、大きさ 8.3 ± 1.5 mm、発生部位は盲腸0例、上行結腸7例 (14.9%)、横行結腸6例 (12.8%)、下行結腸3例 (6.4%)、S状結腸19例 (40.4%)、直腸12例 (25.5%)であった。癌の優勢像組織型は、乳頭腺癌、管状腺癌高分化39例 (83.0%)、管状腺癌中分化6例 (12.8%)、低分化腺癌2例 (4.2%)であった。発生部位と組織型は、通常のパT1大腸癌と差異はなかった。

(3) p53免疫染色結果: 遺伝子異常が推定されるnullおよびnested/diffuseの頻度は、粘膜内癌部で46.8%と42.5%で合計87.2%、SM浸潤部で46.8%と42.5%で合計89.4%であり、両者の一致率は89.4%であった。これらのことから、de novo 発癌では早期の段階からp53遺伝子異常が関与していることが推定された。

(4) ミスマッチ修復遺伝子蛋白免疫染色結果: 4つのミスマッチ修復遺伝子蛋白 (MLH1、MSH2、MSH6、PMS2) のいずれかの発現消失を示したものは、粘膜内部で1例 (2.3%)、SM浸潤部で2例 (4.6%)であり、それらはMLH1もしくはMSH2の単独蛋白消失例であった。これらのことから、de novo 癌の発生には、ミスマッチ修復遺伝子異常は関与しておらず、de novo 癌はMSS (microsatellite stable) 大腸癌であると考えられた。

(5) γH2AX index: DNA二重鎖切断の指標であるγH2AX indexの平均値と中央値は、粘膜内部で39.57と18.16、SM浸潤部で6.67と19.95であり、Mann-Whitney U testでは粘膜内部がSM浸潤部に比べ有意に高値であった。

(6) 以上のことから、de novo 癌の発生については、p53遺伝子異常とDNA二重鎖切断が早期の段階から関与していること、ミスマッチ修復遺伝子異常によるMSIは関与していないことが推定された。

(7) de novo 癌に見られた高頻度の DSB は、他の組織発生の大腸癌に比べ特徴的所見と考えられる。ACS、SNP、炎症性発癌病変の DSB を検討した研究者らの平成 26 年度～28 年度の基盤研究 (C) (課題番号 26460415) の結果との比較を図 1 に示す。de novo 癌の粘膜内癌部の γ H2AX index は潰瘍性大腸炎の dysplasia (炎症性発癌)、腺腫、腺腫内癌 (腺腫由来癌) (ACS)、SSA/P、SSA/P 内癌 (SSA/P 由来癌) (SNP) のいずれに対しても有意に高値であった。これらことから、大腸癌の 4 つの組織発経路の中で、de novo 発癌における initial event は特定の遺伝子変異ではなく、DNA 損傷 (DSB) であり、それにより早期に p53 遺伝子変異が生じ、発癌にいたるものと推定される。

de novo 癌に比べ頻度は低いものの、DSB は慢性持続性炎症を背景に発生する dysplasia でも比較的高頻度にみられることから、de novo 発癌の背景にも、腸内細菌叢の構成異常 (dysbiosis) 等による腸内微小環境の変化 (微小持続性炎症) が関与している可能性も想定される。

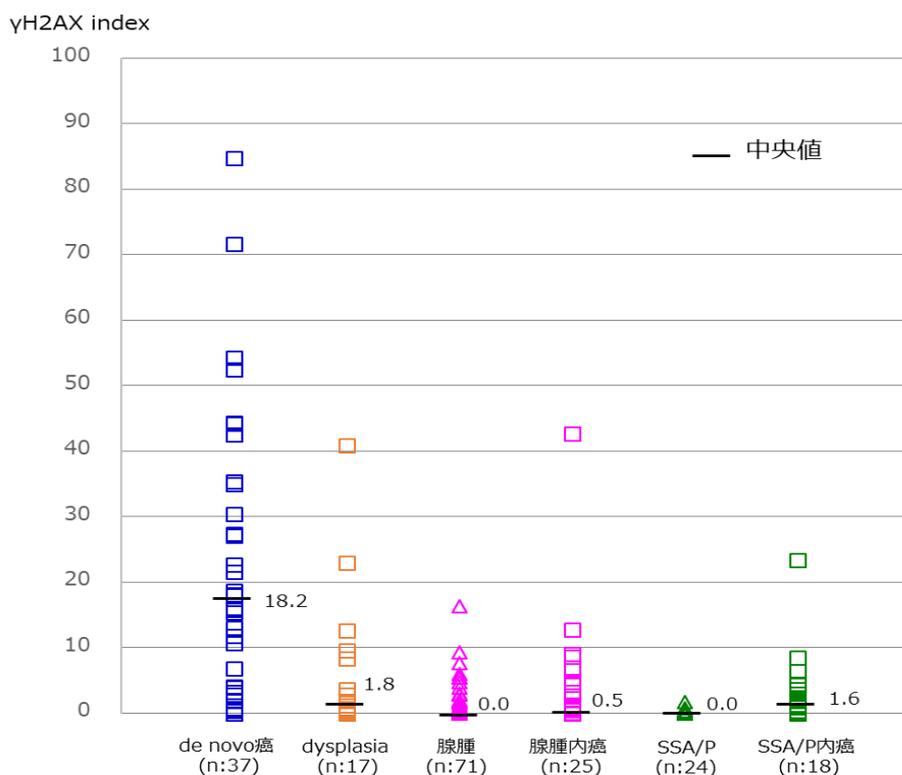


図1 大腸癌の前癌病変および組織発生別の粘膜内癌のDSB

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ikeda H, Ito H, Hikita M, Yamaguchi N, Uragami N, Yokoyama N, Hirota Y, Kushima M, Ajioka Y, Inoue H	4. 巻 10
2. 論文標題 Raman spectroscopy for the diagnosis of unlabeled and unstained histopathological tissue specimens	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 WORLD JOURNAL OF GASTROINTESTINAL ONCOLOGY	6. 最初と最後の頁 439-448
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4251/wjgo.v10.111.439	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 Ominato J, Fukuchi T, Sato A, Yamaguchi N, Kobayashi K, Cho H, Oyama T, Ajioka Y	4. 巻 26
2. 論文標題 The Role of Mutation Rates of GNAQ or GNA11 in Cases of Uveal Melanoma in Japan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 APPLIED IMMUNOHISTOCHEMISTRY & MOLECULAR MORPHOLOGY	6. 最初と最後の頁 658-663
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/PAI.0000000000000505	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 Zhou QL, Ye XL, Ran QS, Kitahara A, Matsumoto Y, Moriyama M, Ajioka Y, Saijo Y	4. 巻 24
2. 論文標題 Trachea Engineering Using a Centrifugation Method and Mouse-Induced Pluripotent Stem Cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 TISSUE ENGINEERING PART C-METHODS	6. 最初と最後の頁 524-533
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1089/ten.tec.2018.0115	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 Watanabe T, Muro K, Ajioka Y, Hashiguchi Y, Ito Y, Saito Y, Hamaguchi T, Ishida H, Ishiguro M, Ishihara S	4. 巻 23
2. 論文標題 Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) guidelines 2016 for the treatment of colorectal cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 INTERNATIONAL JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY	6. 最初と最後の頁 1-34
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10147-017-1101-6	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 Yagi T, Yamazaki M, Ohashi R, Ogawa R, Ishikawa H, Yoshimura N, Tsuchida	4. 巻 36
2. 論文標題 HRCT texture analysis for pure or part-solid ground-glass nodules: distinguishability of adenocarcinoma in situ or minimally invasive adenocarcinoma from invasive adenocarcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 JAPANESE JOURNAL OF RADIOLOGY	6. 最初と最後の頁 113-121
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11604-017-0711-2	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 Jiang SY, Hamakubo T, Mitsui K, Yagami R, Fujiyoshi Y, Ajioka Y, Naito M.	4. 巻 11
2. 論文標題 Roundabout1 distribution in neoplastic and non-neoplastic diseases with a focus on neoangiogenesis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 INTERNATIONAL JOURNAL OF CLINICAL AND EXPERIMENTAL PATHOLOGY	6. 最初と最後の頁 5755-5764
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Lugi A, Kirsch R, Ajioka Y, et al.	4. 巻 30
2. 論文標題 Recommendations for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Modern Pathology	6. 最初と最後の頁 1299-1311
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/modpathol.2017.46	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 該当する

1. 著者名 Hayakawa M, Nishikura K, Ajioka Y, et al.	4. 巻 67
2. 論文標題 Re-evaluation of phenotypic expression in differentiated-type early adenocarcinoma of the stomach	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 131-140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pin.12506	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9件（うち招待講演 7件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 味岡洋一
2. 発表標題 消化器内視鏡医に必要な病理の基礎知識
3. 学会等名 第29回日本消化器内視鏡学会甲信越支部会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 味岡洋一
2. 発表標題 大腸癌の分子病理診断
3. 学会等名 第32回関東臨床細胞学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 味岡洋一
2. 発表標題 大腸癌の分子病理診断 -ここまではルーチン化したい-
3. 学会等名 第73回大腸肛門病学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 味岡洋一
2. 発表標題 大腸T1癌の取扱い
3. 学会等名 第15回日本消化管学会総会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 味岡洋一
2. 発表標題 潰瘍性大腸炎の発癌早期病変の病理診断
3. 学会等名 第88回日本病理学会東北支部学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 味岡洋一
2. 発表標題 ヘリコバクターピロリ陰性胃癌の病理学的特徴
3. 学会等名 第91回日本胃癌学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 谷優佑、渡辺佳緒里、味岡洋一
2. 発表標題 潰瘍性大腸炎(UC)以外の炎症性腸疾患大腸粘膜におけるDNA損傷・修復応答
3. 学会等名 第106回日本病理学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 渡辺佳緒里、谷優佑、味岡洋一
2. 発表標題 潰瘍性大腸炎の炎症性発癌早期病変におけるSOX2発現
3. 学会等名 第106回日本病理学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 味岡洋一
2. 発表標題 内視鏡的摘除pT1 (SM)癌の治療方針に関わる病理診断
3. 学会等名 第55回日本癌治療学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2017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	若井 俊文 (Wakai Toshifumi) (50372470)	新潟大学・医歯学系・教授 (13101)	
研究分担者	岩淵 三哉 (Iwafuchi Mitsuya) (70143766)	新潟大学・医歯学系・教授 (13101)	