

機関番号：32607
 研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2008~2010
 課題番号：20590353
 研究課題名 (和文) 慢性炎症-発癌系における上皮・間質細胞のクロストーク不全：疾患モデルによる解明
 研究課題名 (英文) Insufficient crosstalk between epithelium and stroma in chronic inflammation-carcinoma sequence: Analysis of a disease model
 研究代表者
 岡安 勲 (OKAYASU ISAO)
 北里大学・医学部・名誉教授
 研究者番号：20014342

研究成果の概要 (和文)：慢性臓器炎-癌連関の疾患モデルとして潰瘍性大腸炎-大腸癌系を選び、大腸粘膜のリモデリングに加えて大腸陰窩上皮細胞と間質細胞とのクロストーク不全が発癌に関与していることを、上皮筋線維芽細胞の減少及び間質筋線維芽細胞のゲノム不安定性亢進から示した。

研究成果の概要 (英文)：As organ-specific chronic inflammation-carcinoma sequence, we have analyzed ulcerative colitis (UC)-colorectal carcinoma system, and shown alterations of crosstalk between mucosal crypt epithelia and stromal cells, with decrease of subepithelial myofibroblasts and acceleration of genomic instability of interstitial cells, as well as mucosal remodeling, relating to tumorigenesis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

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：慢性炎症、発がん、間質細胞、上皮細胞、潰瘍性大腸炎、粘膜リモデリング

1. 研究開始当初の背景

(1) 慢性炎症からの発癌系が注目されている。その原因として、炎症に伴う酸化的ストレスによる上皮細胞の遺伝子異常に加えて間質細胞とのクロストーク不全が関与していることが推定される。

(2) 疾患モデルとして、潰瘍性大腸炎-大腸発癌系の検索を続けてきた。

2. 研究の目的

(1) 臓器特異性の慢性炎症を慢性臓器炎として捉え、慢性臓器炎-癌連関の例に潰瘍性大腸炎 (UC) -大腸癌を選び、上皮細胞-

間質細胞のクロストーク不全という視点から解析を加えて、この発癌系を明らかにする。
 (2) UCにおける間質細胞の形態学的観察に加えて、ゲノム不安定性を検索して、上皮細胞-間質細胞のクロストーク不全を証明する。

3. 研究の方法

(1) UC長期罹患例における大腸粘膜陰窩における上皮筋線維芽細胞の phenotype 表現型及びその数を免疫組織化学、免疫電子顕微鏡によって検索した。

(2) 陰窩間の間質細胞 (筋線維芽細胞) の

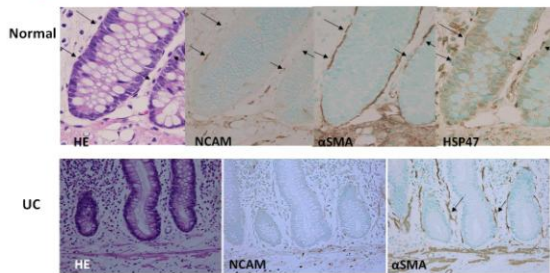
ゲノム不安定性を microsatellite instability (MSI), loss of heterozygosity (LOH)によって検索した。

4. 研究成果

(1) 陰窩の上皮下筋線維芽細胞は α -smooth muscle actin (α SMA), NCAM, HSP47, cytoglobin 陽性であることを確認し、肝臓の伊東細胞と同等の細胞であると同定した(図 1, 2, 3)。

図 1 陰窩周囲の上皮下筋線維芽細胞の免疫組織学的特徴と UC の長期化に伴う変化

③-3 Crypt 周囲のsubepithelial myofibroblasts の変化



1. Crypt base に位置し、粘膜 stem cell niche に相当
2. SMA*, NCAM*, HSP*, Cytoglobin*, 脂肪滴(+) から肝臓の伊東細胞 (VitA貯蔵細胞、星細胞) と相等同定

図 2 陰窩周囲の上皮下筋線維芽細胞の免疫電顕法による α SMA, NCAM の証明

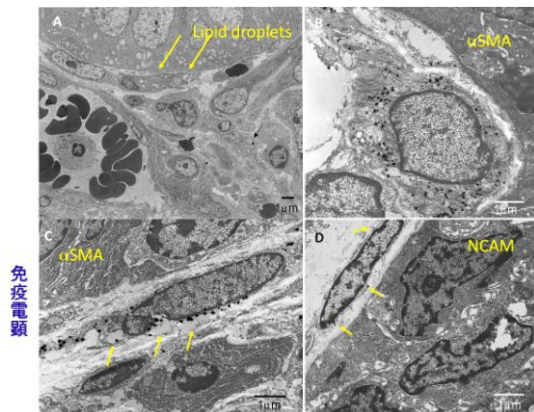


図 3 上皮下筋線維芽細胞の cytoglobin 発現

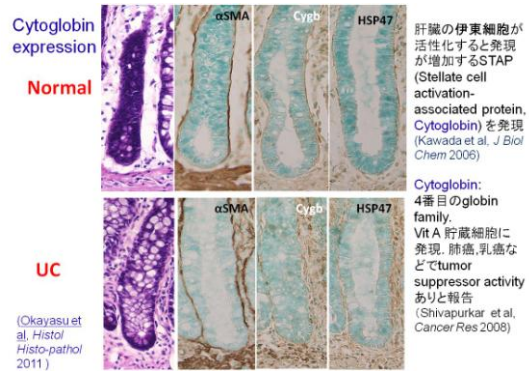
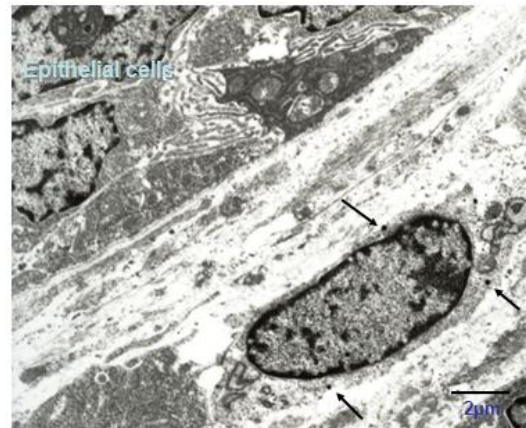


図 4 免疫電顕による上皮下筋線維芽細胞の cytoglobin 発現の証明



(2) 上皮下筋線維芽細胞は、UC の罹病期間に相関して陰窩当たりの数が減少し、替わりに間質の筋線維芽細胞が増加し、線維化が増強していることが判明した。これらの変化は大腸癌を合併した UC 例の非癌部粘膜において、大腸癌非合併例の UC 大腸粘膜に比較して有意な差として認められた。すなわち、粘膜リモデリングの進行が強いことが示された(図 5, 6, 表 1)。

図 5 UC の罹病期間に相関した粘膜リモデリングの立体的観察

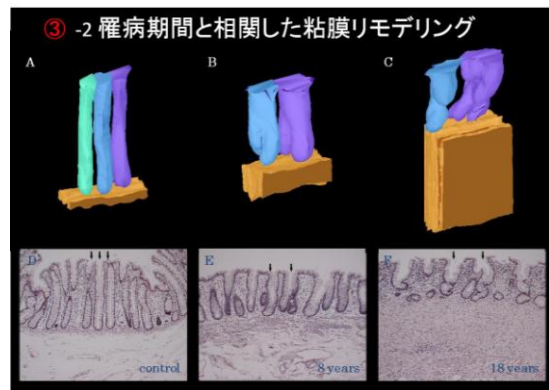


図6 UCの罹病に伴って生じる粘膜間質の線維化

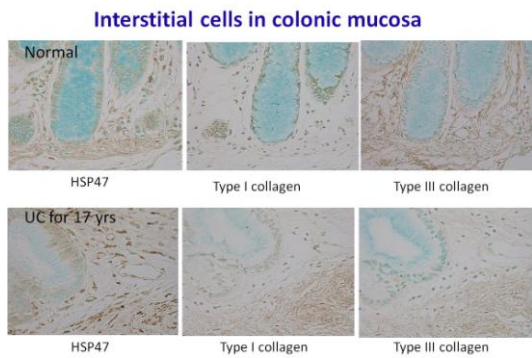


表1 UCの長期罹病に相関して生じる粘膜リモデリングの各マーカーの変化

Stromal cell alterations in the rectal mucosa of patients with long-standing UC

	Mucosa propria		Muscularis mucosae	
	Without neoplasia	With neoplasia	Without neoplasia	With neoplasia
Total duration	<5 years	≥5 years	<5 years	≥5 years
Thickest	↓	↓	↑	↑
Subepithelial myofibroblasts				
α-SMA+ cells	↓	↓	↓	↓
NCAM+ cells	↓	↓	↓	↓
HSP47+ cells	↑	↑	↑	↑
Infiltration in lamina propria				
NCAM+ interstitial cells	→	→	↓	↓
α-SMA+ interstitial cells	→	→	↑	↑
CD68+ macrophages	↑	↑	↑	↑
Collagen type I	↑	↑	↑	↑
Collagen type III	↑	↑	↑	↑

Invasive phase according to the Seo clinical activity index at surgical operation. †Partly from Ref 19.
↓ or ↑ significantly decreased or increased, compared to the normal control group.
▽ or ▲ significantly decreased or increased, compared to the group (<5 years).
▼ or ▲ significantly decreased or increased, compared to the group (≥5 years, without neoplasia).
→ not significant, compared to the normal control group.

Okayasu et al. Pathol Int 2009

(3) 間質の筋線維芽細胞では既に UC の再生性粘膜で MSI, LOH が有意に出現していることから、腫瘍化への関連の可能性を認めた。このゲノム不安定性は、大腸デノボ癌、腺腫-腺癌系とは違って、間質細胞のゲノム不安定性の亢進が上皮細胞の腫瘍性変化に先行していることから、慢性臓器炎-癌連関の特徴的変化とみなされた(図 7,8,9)。

図7 粘膜上皮細胞と間質細胞のマイクロダイセクション、MSH, LOH検索例

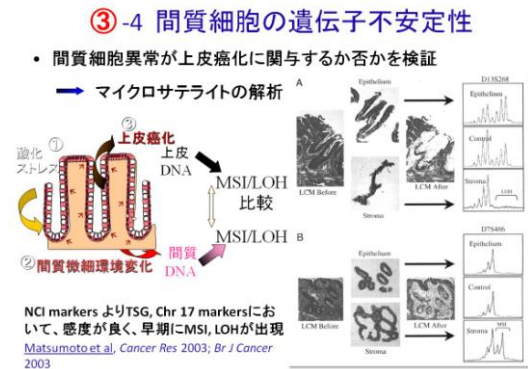


図8 UCの再生粘膜、腫瘍性病変における上皮細胞・間質細胞の遺伝子不安定性変化のまとめ

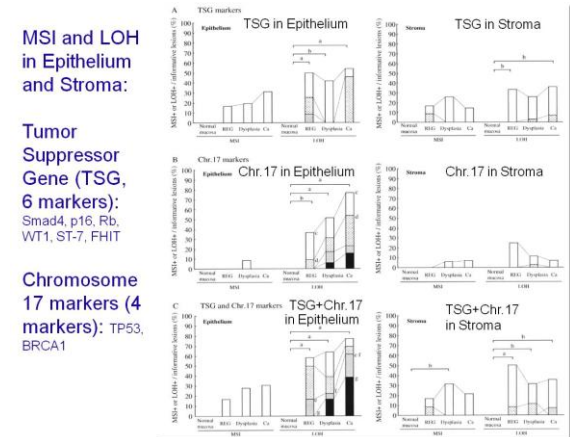
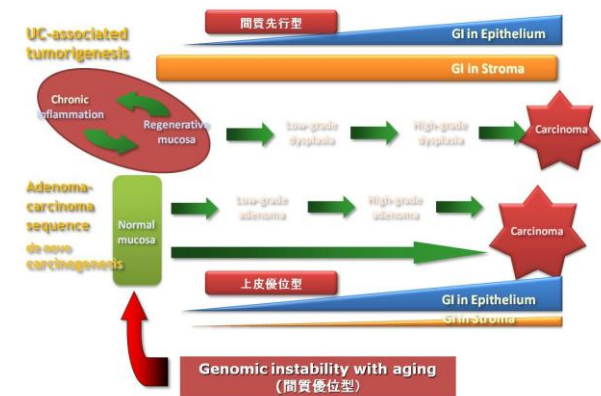


図9 大腸の各腫瘍発生における、上皮細胞・間質細胞遺伝子不安定性出現の比



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 11 件)
- ① Okayasu I, Mikami T, Yoshida T, 他 5 名、Cytoglobin expression of rectal subepithelial myofibroblasts: significant alterations of cytoglobin+ stromal cells in long-standing ulcerative colitis. *Histol Histopathol*, 2011; 26: 679-688. 査読有
 - ② Yamagata M, Mikami T, 他 7 名、Okayasu I. Submucosal fibrosis and basic-fibroblast growth factor-positive neutrophils correlate with colonic stenosis in cases of ulcerative colitis. *Digestion*, 2011; 84: 12-21. 査読有

- ③ Yoshida T, Sekine T, Aisaki K, Mikami T, Kanno J, Okayasu I. CITED2 is activated ulcerative colitis and induces p53-dependent apoptosis in response to butyric acid. J Gastroenterol, 2010; 46: 339-349. 査読有
- ④ Okayasu I, Yoshida T, Mikami T, Hana K, Yokozawa T, Araki K, Mitsunashi J, Kikuchi M, Adachi E, Sada M. Mucosal remodeling in long-standing ulcerative colitis with colorectal neoplasia: significant alterations of NCAM⁺ or α SMA⁺ subepithelial myofibroblasts and interstitial cells. Pathol Int, 2009: 59: 701-711. 査読有

[学会発表] (計2件)

① Okayasu I, Yoshida M, Mikami T, Hana K, Yokozawa M, Sada M, Fujiwara M, Kawada N. Significant decrease of mucosal cytoglobin⁺ pericryptal myofibroblasts in long-standing ulcerative colitis with colorectal neoplasia, correlatively with α -SMA and HSP47 phenotype expression. 2009 Advances in Inflammatory Bowel Diseases, Hollywood, USA, 2009年12月3日

- ② 吉田 功、岡安 勲. がんの発生・進展における間質細胞のゲノム不安定性の関与. 第97回日本病理学会総会、シンポジウム、2008年5月15日、金沢市石川県立音楽堂.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡安 勲 (OKAYASU ISAO)
北里大学・医学部・名誉教授
研究者番号：20014342

(2) 研究分担者

吉田 功 (YOSHIDA TSUTOMU)
北里大学・医学部・講師
研究者番号：90316943

三上 哲夫 (MIKAMI TETUO)
北里大学・医学部・准教授
研究者番号：90286352