

令和 6 年 5 月 25 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08773

研究課題名(和文) ゲノム、エピゲノム統合解析による低侵襲潰瘍性大腸炎癌化リスク診断法の開発

研究課題名(英文) Development of a minimally invasive ulcerative colitis cancer risk diagnostic method using integrated genomic and epigenomic analysis.

研究代表者

問山 裕二 (Toiyama, Yuji)

三重大学・医学系研究科・教授

研究者番号：00422824

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：潰瘍性大腸炎(UC)の癌化に関するエピゲノム変化を網羅的解析し、大腸癌合併UC(UCAC)患者を早期診断可能とする体液等の低侵襲なバイオマーカー開発を目標とした。網羅的メチル化解析の結果から、成人発症のUCにおいて、直腸粘膜におけるOPLAHメチル化の測定は、UCAC合併患者の拾い上げに有効であることが示した。また小児発症UC患者では、直腸粘膜におけるmiR-124メチル化はUCACの発症リスクが最も高い小児発症UC患者を同定するに有用であった。このように成人、小児発症のUC患者の直腸粘膜DNAメチル化を評価することで発癌リスクの高いUC患者の拾い上げに貢献できる研究成果であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

潰瘍性大腸炎(UC)の発癌を直腸粘膜のエピゲノム変化としてのDNAメチル化領域が同定され、UCの癌化のリスク診断ならびに早期癌診断のバイオマーカーとして検証された。炎症により内視鏡診断、再生上皮で病理診断が困難な癌合併UC患者を非侵襲的検査法として期待される。このことにより年に一度繰り返し行われる大腸内視鏡検査によるランダム生検の侵襲的負担の軽減、癌化の見落としによる不幸な転機回避、さらには高騰する医療費の削減にも効果が発揮されると考えている。

研究成果の概要(英文)：The goal of this study was to comprehensively analyze the epigenetic abnormalities involved in the carcinogenesis of ulcerative colitis (UC) and to develop fluid or other minimally invasive biomarkers to enable early diagnosis of patients with colorectal cancer-associated UC (UCAC).

The results of the comprehensive methylation analysis showed that measurement of OPLAH methylation in the rectal mucosa in adult-onset UC is effective in detecting patients with complicated UCAC. In pediatric UC patients, miR-124 methylation in the rectal mucosa is a useful biomarker to identify pediatric UC patients at highest risk of developing UCAC. Thus, this study contributes to the identification of UC patients at high risk of carcinogenesis by evaluating rectal DNA methylation in adult and pediatric UC patients.

研究分野：消化器外科

キーワード：潰瘍性大腸炎 大腸癌 DNAメチル化 エピゲノム

1. 研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎は、大腸の粘膜に糜爛や潰瘍ができる原因不明の大腸びまん性非特異性炎症疾患である。食生活の欧米化に伴い患者数は増加の一途を辿っている。近年の内科的治療の進歩により従来は外科治療を考慮してきた UC の重症例（劇症例、内科的治療抵抗例）でも、手術を回避できるようになってきている。一方、潰瘍性大腸炎は大腸癌のハイリスク群とされ、罹患期間とともに増加する。メタアナリシス解析によれば、癌、dysplasia の累積発生率は発症後 10 年で 2%、20 年で 8% さらに 30 年で 18% であると報告され、潰瘍性大腸炎関連大腸癌は患者の予後を改善するために、早期発見が極めて重要である。

そのために、長期罹患した潰瘍性大腸炎患者は大腸内視鏡によるサーベイランスを定期的に行うことが推奨されている。わが国では 8-10 年以上罹患する潰瘍性大腸炎患者に年 1 回、大腸内視鏡による random biopsy あるいは有所見部位の target biopsy によるサーベイランスが施行されている。しかし、潰瘍性大腸炎に合併する大腸癌の特徴として、多発癌で、低分化型腺癌、印環細胞頻度が高く、背景粘膜に炎症を伴うため、このような背景がサーベイランス内視鏡による UC 関連大腸癌の発見を困難にし、患者の侵襲性、医療経済の面からも効率的とは言えない。そこで長期慢性炎症により誘発される潰瘍性大腸炎癌化のエピゲノム変化を解明し、体液等を用いた低侵襲で精度の高い診断マーカーを探索し、新たなサーベイランスプロトコルを確立することが期待される。

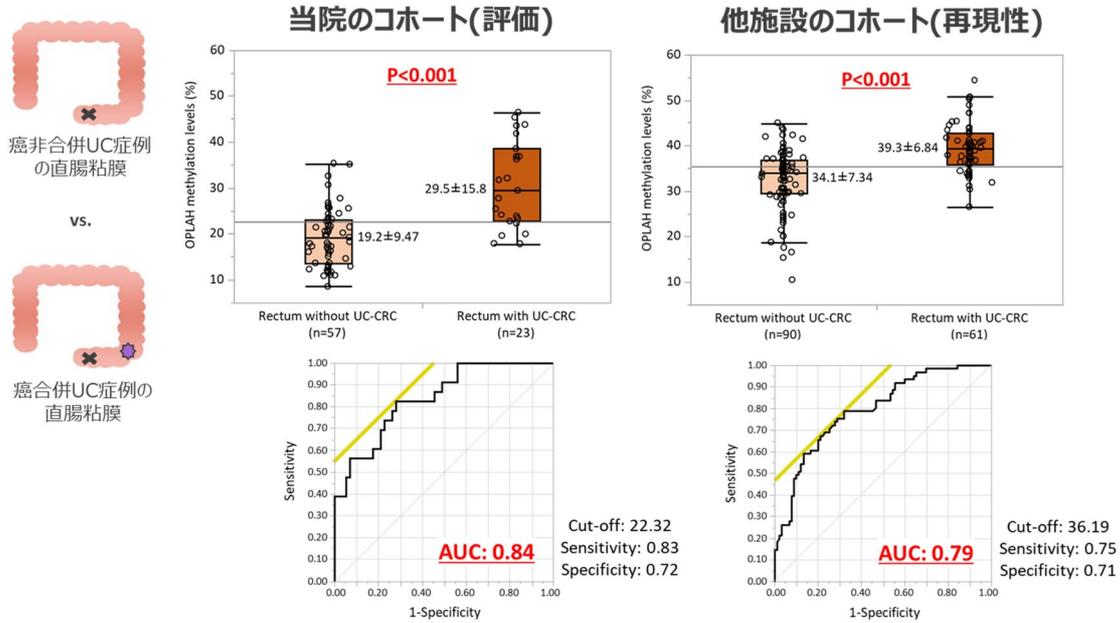
2. 研究の目的

炎症環境が DNA メチル化促進の有力な因子とされ、癌抑制遺伝子がメチル化されると当該遺伝子転写が抑制され発癌にいたることが潰瘍性大腸炎の大腸粘膜で検証されてきている。また Aging も癌化関連因子であり、Aging に伴い正常組織において引き起こされる、DNA メチル化を "Epigenetic drift" と呼ばれ、発癌リスクとの関連が報告されてきている。我々は潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜を使用し、大腸のどの部位に比べても直腸部位で DNA メチル化率が高く、年齢そして腫瘍依存的な DNA メチル化マーカーを網羅的に解析し、同定することで、直腸生検組織における新たな潰瘍性大腸炎癌化ハイリスク群診断法を報告してきた。そこで、本研究の目的は、今回、潰瘍性大腸炎の慢性炎症により癌化を誘発されうる大腸粘膜（前癌病変）癌部におけるゲノム異常と網羅的解析による発癌過程でのエピゲノム変化を同定し、潰瘍性大腸炎の癌化のリスク診断ならびに早期癌診断のバイオマーカーの候補とする。またそれが糞便、血清、尿あるいは軽微な直腸粘膜生検に反映されることが確認できれば、炎症により内視鏡診断、再生上皮で病理診断が困難な潰瘍性大腸炎癌合併患者を非侵襲的検査法で同定できることが期待され、医学的に極めて独自性のある研究となる。

3. 研究の方法

2000 年 10 月から 2019 年 8 月までに潰瘍性大腸炎患者約 430 症例（15 歳未満の小児患者も含む）に対して大腸全摘出術・回腸囊肛門吻合術を施行し、そのうち最終病理結果で dysplasia 合併症例 20 例、大腸癌合併症例 30 例を経験している。切除標本より、dysplasia、癌部ならびに、悪性新生物を含まない潰瘍性大腸炎粘膜を盲腸、横行結腸、直腸を採取し-80 で保管してい

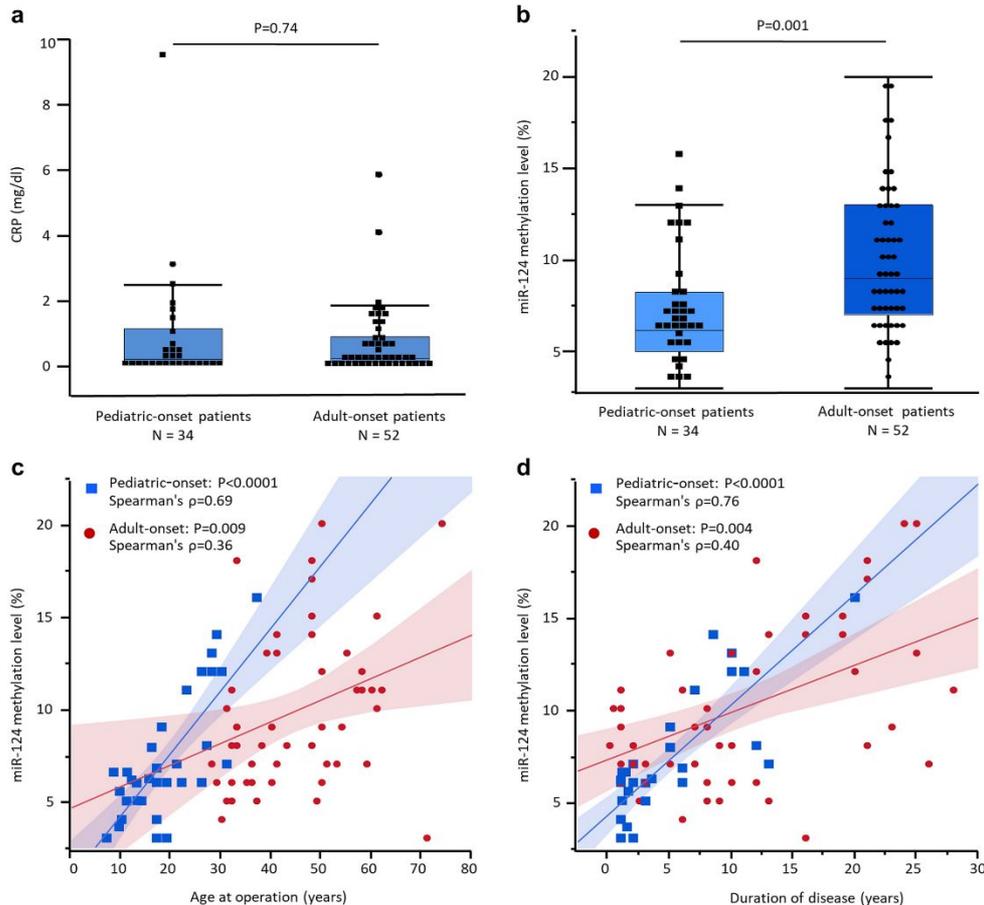
3. 続いて、直腸粘膜の OPLAH 遺伝子メチル化測定の意義を検証した。



➤ 直腸粘膜のOPLAH遺伝子のメチル化を評価することで癌合併UC患者の絞り込みが可能

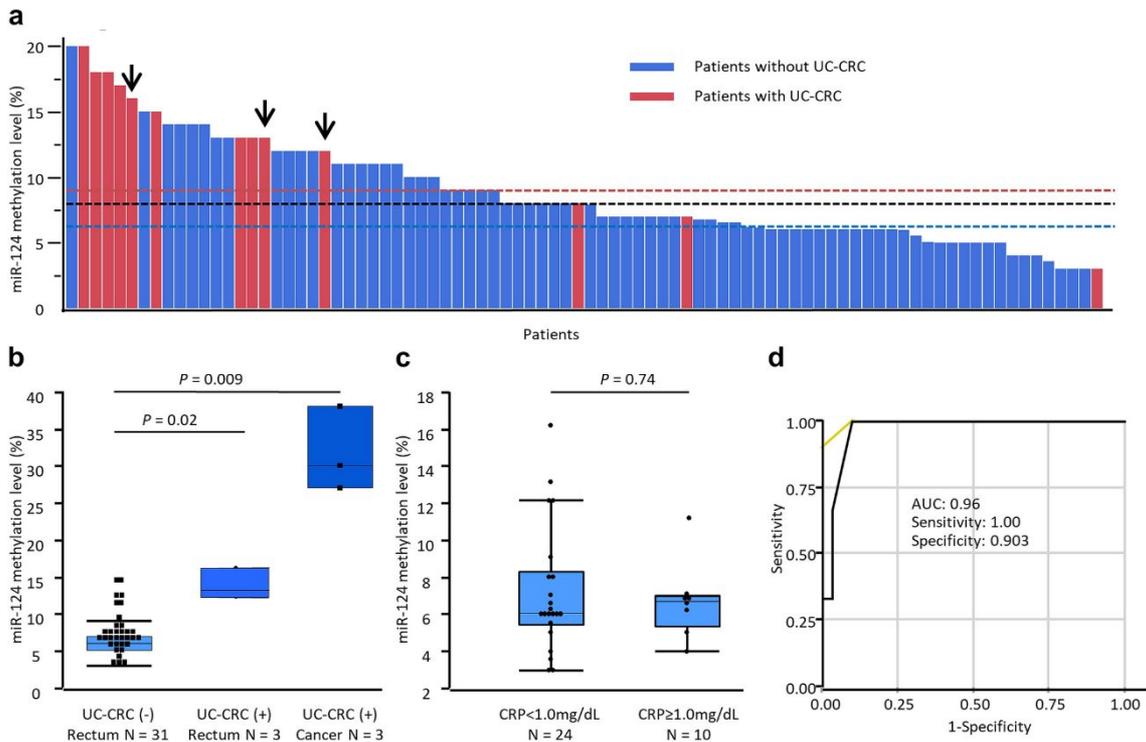
以上より成人発症の潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜の OPLAH メチル化は、病脳期間や手術時年齢と有意に相関し、炎症の蓄積が高度な直腸粘膜において有意に高値で、さらに直腸粘膜 OPLAH メチル化を測定することで、潰瘍性大腸炎に大腸癌合併する症例の拾い上げに有効な診断法と考えられる。

4. 続いて小児潰瘍性大腸炎患者において、miR-124 の発現低下が炎症に關与する報告があり (Gastroenterology. 2013 Oct;145(4):842-52) その発現制御機構としての DNA メチル化を小児潰瘍性大腸炎患者 (15 歳未満発症) にて検証した。



小児潰瘍性大腸炎 miR-124 メチル化レベルは成人と比べ有意に低い、年齢とともに急速にメチル化レベルが上昇することが示された。

5. miR-124 メチル化レベルと癌との関連を統計学的に検討した。



miR-124 メチル化レベルは有意に癌部で高く、興味深い結果として、miR-124 メチル化レベルは癌合併小児発症潰瘍性大腸炎患者の直腸粘膜で有意に癌非合併小児発症潰瘍性大腸炎患者と比べ高く、小児発症潰瘍性大腸炎患者の癌化診断に有効であることが示された。

このように成人、小児発症の潰瘍性大腸炎患者の直腸粘膜 DNA メチル化を評価することで発癌リスクの高い潰瘍性大腸炎患者の拾い上げに貢献できる研究成果であった。

以上より炎症により内視鏡診断、再生上皮で病理診断が困難な癌合併潰瘍性大腸炎患者を非侵襲的検査法として期待される。このことにより年に一度繰り返し行われる大腸内視鏡検査によるランダム生検の侵襲的負担の軽減、癌化の見落としによる不幸な転機回避、さらには高騰する医療費の削減にも効果が発揮されたと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Seishima Ryo, Okabayashi Koji, Ikeuchi Hiroki, Uchino Motoi, Futami Kitaro, Noguchi Tatsuki, Ohge Hiroki, Iseki Yasuhito, Watanabe Kazuhiro, Itabashi Michio, Okamoto Kinya, Toiyama Yuji, et al.	4. 巻 118
2. 論文標題 Effect of Biologics on the Risk of Advanced-Stage Inflammatory Bowel Disease-Associated Intestinal Cancer: A Nationwide Study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 American Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 1248 - ~ 255
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14309/ajg.0000000000002149	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 Inoue Mikihiro, Uchida Keiichi, Nagano Yuka, Matsushita Kohei, Koike Yuhki, Okita Yoshiki, Suzuki Tatsuya, Toiyama Yuji	4. 巻 53
2. 論文標題 Preoperative myopenia and myosteatorsis and their impact on postoperative complications in children with inflammatory bowel disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 483 ~ 489
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-022-02596-3	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 Yamamoto Akira, Okita Yoshiki, Imaoka Hiroki, Shimura Tadanobu, Kawamura Mikio, Toiyama Yuji	4. 巻 75
2. 論文標題 A Molecular Biological Approach to the Diagnosis of Ulcerative Colitis-associated Cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nippon Daicho Komonbyo Gakkai Zasshi	6. 最初と最後の頁 478 ~ 486
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3862/jcoloproctology.75.478	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 Koike Yuhki, Yin Chengzeng, Sato Yuki, Nagano Yuka, Yamamoto Akira, Kitajima Takahito, Shimura Tadanobu, Kawamura Mikio, Matsushita Kohei, Okugawa Yoshinaga, Amano Keishiro, Okita Yoshiki, Ohi Masaki, Inoue Mikihiro, Uchida Keiichi, Hirayama Masahiro, Toiyama Yuji	4. 巻 54
2. 論文標題 Promoter methylation levels of microRNA-124 in non-neoplastic rectal mucosa as a potential biomarker for ulcerative colitis-associated colorectal cancer in pediatric-onset patients	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 347 ~ 355
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-023-02738-1	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 Yamamoto Akira, Toyama Yuji, Ikeuchi Hiroki, Uchino Motoi, Futami Kitaro, Okamoto Kinya, Ogino Takayuki, Ishihara Soichiro, Ajioka Yoichi, Sugihara Kenichi, for the Study Group for Inflammatory Bowel Disease Associated Intestinal Cancers by the Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum	4. 巻 7
2. 論文標題 Oncological outcomes of Crohn's disease associated cancers focusing on disease behavior	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Annals of Gastroenterological Surgery	6. 最初と最後の頁 615 ~ 625
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ags3.12653	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4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 山本 晃, 奥川 喜永, 大北 喜基, 問山 裕二, 石原 総一郎, 味岡 洋一, 杉原 健一
2. 発表標題 Disease Behaviorに着目したクローン病関連癌の腫瘍学的予後
3. 学会等名 日本大腸肛門病学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大北 喜基, 山本 晃, 大村 悠介, 今岡 裕基, 志村 匡信, 北嶋 貴仁, 川村 幹雄, 松下 航平, 小池 勇樹, 安田 裕美, 森本 雄貴, 奥川 喜永, 横江 毅, 大井 正貴, 内田 恵一, 問山 裕二
2. 発表標題 DNAメチル化解析を用いた潰瘍性大腸炎関連癌と散発性大腸癌の鑑別法
3. 学会等名 日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大北 喜基, 山本 晃, 大村 悠介, 今岡 裕基, 志村 匡信, 北嶋 貴仁, 川村 幹雄, 松下 航平, 小池 勇樹, 安田 裕美, 森本 雄貴, 奥川 喜永, 横江 毅, 大井 正貴, 内田 恵一, 問山 裕二
2. 発表標題 DNAメチル化解析を用いた潰瘍性大腸炎関連癌と散発性大腸癌の鑑別法
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川村 幹雄, 今岡 裕基, 大北 喜基, 小池 勇樹, 横田 一樹, 松下 航平, 長野 由佳, 佐藤 友紀, 東 浩輝, 山下 真司, 志村 匡信, 北嶋 貴仁, 奥川 喜永, 吉山 繁幸, 大井 正貴, 問山 裕二
2. 発表標題 小児発症潰瘍性大腸炎患者における直腸粘膜microRNA-124メチル化レベルと大腸癌発症リスクに関する検討
3. 学会等名 第98回大腸癌研究会学術集会
4. 発表年 2024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	川村 幹雄 (Kawamura Mikio) (00722589)	三重大学・医学系研究科・助教 (14101)	
研究分担者	大北 喜基 (Okita Yoshiki) (20378342)	三重大学・医学部附属病院・講師 (14101)	
研究分担者	奥川 喜永 (Okugawa Yoshinaga) (30555545)	三重大学・医学部附属病院・教授 (14101)	
研究分担者	藤川 裕之 (Fujikawa Hiroyuki) (40616091)	三重大学・医学系研究科・リサーチアソシエイト (14101)	
研究分担者	今岡 裕基 (Imaoka Hiroki) (70762938)	三重大学・医学系研究科・寄附講座助教 (14101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------