

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15997

研究課題名（和文）左側及び右側大腸癌の分子生物学的差異の解析 ―個別化及び層別化治療に向けて―

研究課題名（英文）Molecular Biological Differences in Left-Sided and Right-Sided Colorectal Cancer

研究代表者

影本 開三（KAGEMOTO, Kaizo）

徳島大学・病院・特任助教

研究者番号：60933356

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、左右大腸癌の分子生物学的差異の解明を目的とした。右側大腸癌オルガノイドは左側と比較して細胞増殖活性、細胞浸潤能が有意に高いことが示された。また、mRNAの発現解析では、右側大腸癌オルガノイドでは側よりTIMP1が有意に高発現をしており、TIMP1のタンパク質発現を確認したところ、左側大腸癌においてTIMP1蛋白はほとんど検出できなかったのに対して、右側大腸癌ではいずれの症例においても高発現が確認された。TIMP1はFAK/Akt pathwayやMAPK pathwayを介し、腫瘍形成に関与することが報告されており、右側大腸癌の増殖、浸潤については予後への関与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

右側大腸癌は左側に比較し予後不良であり、左右大腸癌の分子生物学的差異の解明は大きな課題である。本研究では右側大腸癌オルガノイドの細胞増殖能、浸潤能が高いこと、また、右側大腸癌オルガノイドではTIMP1が高発現していることを見出した。今後は、オルガノイドを用いてin vivo, invitroで活性化パスウェイに対する薬剤感受性を評価する事で、治療困難とされる右側大腸癌の薬剤選択や治療薬開発につながると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we aimed to elucidate the molecular biological differences between right-sided and left-sided colon cancer. Right-sided colon cancer organoids demonstrated significantly higher cell proliferation activity and invasive potential compared to left-sided organoids. Additionally, mRNA expression analysis revealed that TIMP1 was significantly upregulated in right-sided colon cancer organoids compared to the left side. Western blot analysis confirmed high expression of TIMP1 protein in all cases of right-sided colon cancer, whereas TIMP1 protein was barely detectable in left-sided colon cancer. TIMP1 has been reported to be involved in tumor formation through the FAK/Akt pathway and MAPK pathway, suggesting its potential role in proliferation, invasion, and prognosis of right-sided colon cancer.

研究分野：消化器内科学

キーワード：大腸癌 オルガノイド

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

直腸～脾彎曲部までの左側大腸癌と、脾彎曲部～盲腸までの右側結腸癌では、薬剤に対する感受性や予後が異なることが報告されている。切除不能進行大腸癌を対象とした大規模臨床試験では、左側大腸癌の平均生存期間(OS)は、33.3～50.3ヶ月であるのに対し、右側大腸癌では19.4～27.4ヶ月と予後不良である。また、左側大腸癌は、抗 Epidermal growth factor receptor (EGFR) 抗体薬に感受性が高く、抗 EGFR 抗体薬の併用が OS を有意に延長するのに対し、右側大腸癌は、抗 VEGF 抗体薬に感受性が高く、抗 VEGF 抗体薬の併用が OS を有意に延長する。このような左右大腸癌の違いについて、抗 EGFR 抗体薬が無効な RAS 変異(+)癌の左右大腸における頻度の違い、また右側大腸癌には BRAF 変異やマイクロサテライト不安定性の高い(MSI-H)癌が多いことなどが指摘されたが、RAS 変異(-), BRAF(-), MSS(microsatellite stable)の左右大腸癌を比較しても、ほぼ同様な有意な左右差が認められた。これらの結果より、最近の大腸癌治療ガイドラインでは、RAS 変異(-)の場合、左側大腸癌であれば抗 EGFR 抗体薬併用療法を、右側大腸癌であれば抗 VEGF 抗体薬併用療法を1次治療に用いることが推奨された。しかし、このような左右大腸癌の違いの機序は不明であり、左右大腸癌の分子生物学的な差異やパスウェイを解析し、左右大腸癌の細胞増殖機序を解析することが重要である。また、近年、佐藤らは大腸腫瘍や正常粘膜より生検採取した細胞に複数の増殖因子を加え、マトリゲルの中で3次元的に幹細胞をオルガノイドとして培養し得ることを報告した(Nature, 2009)。このオルガノイド培養を用いれば、左右大腸癌における細胞増殖速度、染色体異常(核型)、薬剤感受性、転移・浸潤能、活性化パスウェイなどを検討することが可能であると考えられた。

2. 研究の目的

本研究では左右大腸癌の分子生物学的差異の解明を目的とした。まず左右大腸癌オルガノイドを作成、培養し、細胞増殖能、浸潤能を比較検討する。さらに、大腸癌オルガノイドを用い、高発現した遺伝子の左右差を解析することで、活性化パスウェイを解析した。

3. 研究の方法

- (1) ヒト大腸癌 RAS(-), RAF(-), p53(+)の生検または手術摘出標本より癌細胞を分離しオルガノイドを作成する。
- (2) 各オルガノイドの細胞増殖速度、薬剤感受性、転移・浸潤能を検討する。
- (3) オルガノイドより RNA を抽出し cDNA 作成した後、シーケンスを行い、右側大腸癌オルガノイドに高発現した遺伝子を抽出する。
- (4) (3)で抽出された遺伝子をもとに活性化パスウェイを推定し臨床データと照合検証する。

4. 研究成果

- (1) 生検または手術摘出標本より癌細胞を分離し、オルガノイド基礎培養左側及び右側大腸癌 (RAS(-), RAF(-), p53(+))より計8病変のオルガノイドを作成した(図1)。

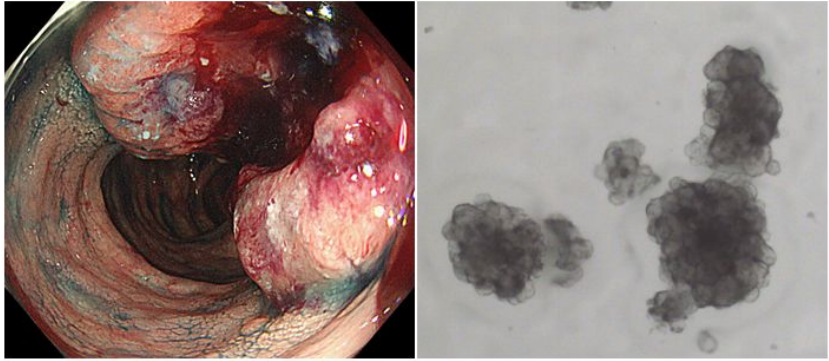


図1 大腸癌からのオルガノイド培養

(2) 各オルガノイド右側大腸癌オルガノイドは左側と比較して細胞増殖活性および細胞浸潤能が有意に高いことが示された(図2)。

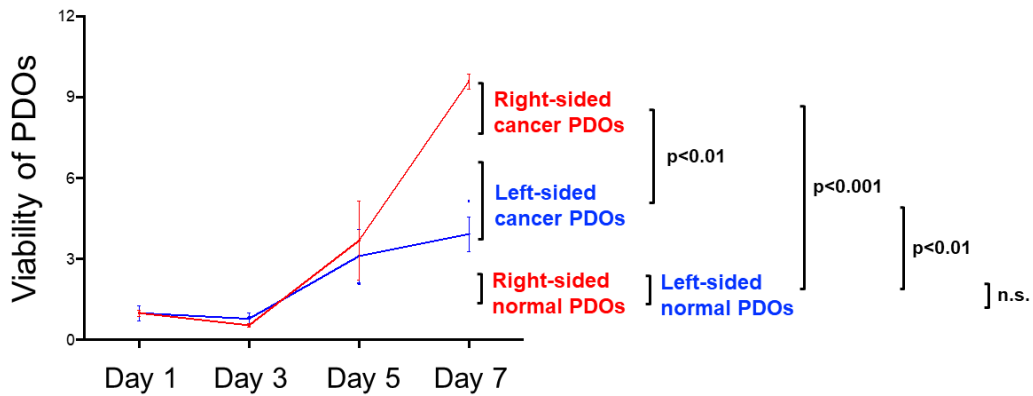


図2 左右大腸癌オルガノイドの増殖曲線

PDOs; (Patient-Derived Organoids)

(3) RNA を抽出し cDNA 作成した後、シーケンスを行い、右側大腸癌オルガノイドで左側より mRNA が高発現であった遺伝子を抽出し解析したところ、IMP1, DHH, MSN, S100P, SDC2 が高い発現をしていた。このうち mRNA の発現レベルが左右で統計学的に有意であったのは TIMP1 のみであった。さらに、TIMP1 のタンパク質発現を Western blot 法にて確認したところ、左側大腸癌において TIMP1 タンパク質はほとんど検出できなかったのに対して、右側大腸癌ではいずれの症例においても高発現が確認された(図3)。

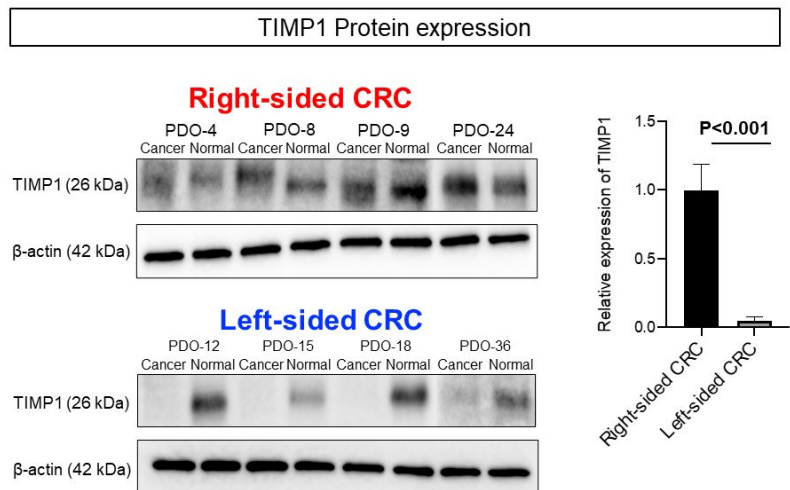


図3 左側及び右側大腸癌オルガノイド TIMP1 タンパク質発現

(4) TIMP1 は FAK/Akt pathway や MAPK pathway を介して細胞増殖やアポトーシス、分化、血管新生だけでなく、腫瘍形成にも関与することが報告されており、右側大腸癌の増殖、浸潤については予後への関与が示唆された。今後は TIMP1 と右側大腸癌の関連を確認するため、TIMP1 の細胞増殖や浸潤におよぼす影響を解析、また、大腸癌の The Cancer Genome Atlas (TCGA) データベースを用いて、臨床データとの照合を検証していく方針である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------