

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 23 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591960

研究課題名(和文)潰瘍性大腸炎関連性大腸癌に対する新しい早期診断法有効性の検討と確立に向けた研究

研究課題名(英文)New method for ulcerative colitis associated cancer

研究代表者

荒木 俊光 (Araki, Toshimitsu)

三重大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70343217

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：141例の潰瘍性大腸炎(UC)患者に対してUC直腸粘膜におけるiNOS、8-oxodG、8-NGの発現を確認し、臨床病理学的因子との関連、colitic cancer/dysplasia症例での発現意義を検討した。直腸粘膜における8-NG高発現は単独でもUCにおけるdysplasiaのマーカーとなりうる可能性が示唆され、特に発症後7年以上経過し直腸粘膜に8-NG高発現が認められる場合には、より注意深いサーベイランスが必要となると考えられた。

研究成果の概要(英文)：To clarify whether the expression of nitrative and oxidative DNA damage markers in the rectal mucosa of patients with ulcerative colitis (UC) could be used to predict UC-associated neoplasia.

A total of 141 patients with UC who underwent a proctocolectomy were enrolled in this study. The expression of 8-nitroguanine (8-NG), 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxodG), and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in the rectal mucosa were evaluated using immunohistochemistry (IHC) and assessed relative to the pathogenesis of UC-associated neoplasia.

The results suggest that evaluating the expression levels of 8-NG in the rectal mucosa may be a useful biomarker for detecting patients with UC-associated neoplasia.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：小腸大腸肛門外科学 潰瘍性大腸炎

## 1. 研究開始当初の背景

### 【潰瘍性大腸炎と発癌】

潰瘍性大腸炎(ulcerative colitis: UC)は、原因不明の大腸びまん性非特異性炎症であり、わが国の UC 患者は約 10 万人で、年間約 4 千人が発病している。UC 患者における大腸癌発生率は健常者と比べ、発症後 20 年で 8 倍と有意に高いことが報告されている。

### 【潰瘍性大腸炎関連大腸癌サーベイランスとその限界】

現在、7 年以上罹患する患者に全大腸内視鏡検査下の random-step biopsy あるいは拡大内視鏡を併用した有所見部位の biopsy によるサーベイランスが推奨されている。癌化をきたした症例や、高度の細胞異型を認める場合には、絶対的手術適応となる。しかしながら、大腸内視鏡検査を中心としたサーベイランスには、その手法、組織診断など限界点も多い。若年発症例が多く、早期診断が行われることによって、良好な生命予後はいうまでもなく、機能的(良好な排便機能の温存)予後を確保することが非常に重要であると考えられている。このため、UC の癌化のメカニズムの解明、ならびに有用なマーカーの確立が重要である。

### 【潰瘍性大腸炎関連大腸癌と散発性大腸癌の分子生物学的相違】

これまでの研究で、散発性大腸癌(sporadic colorectal cancer: sporadic CRC)は adenoma-carcinoma sequence、UC 関連大腸癌(UC-associated colorectal cancer: UC-CRC)は inflammation-regeneration-dysplasia-carcinoma sequence が発癌モデルとして提唱され、UC-CRC では K-ras, APC 変異の関与が少なく、p53 変異が早期から関与していることが報告されているが、genetic, epigenetic change を含めその発癌機構は十分解明されているとは言えない。

### 【炎症性発癌における酸化ストレス】

一般的に慢性炎症によって活性酸化窒素

種 reactive nitrogen oxide species (RNOS) や一酸化窒素誘導合成酵素 inducible nitric oxide synthase (iNOS) といった酸化ストレスによって p53 変異/活性、ミスマッチ修復遺伝子損傷/変異、あるいはテロメア短縮といった遺伝子変化が誘発され、それが組織学的な癌化の一因となっている。

【潰瘍性大腸炎における 8-OHdG と 8-NG】  
iNOS は活動期潰瘍性大腸炎の大腸粘膜において高い活性を示すことが確認されている。この iNOS によって誘導され G-T transformation の原因となっている 8-oxo-7 8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxodG)および 8-nitroguanine(8-NG)の発現増加が動物モデルで示されている。

## 2. 研究の目的

潰瘍性大腸炎における炎症性発癌のメカニズムの解明と有用なマーカーを見出すことにより、現在行われている癌化サーベイランスプログラムより、さらに安全で確実な検出方法を確立し、手術適応の決定に寄与することとした。

## 3. 研究の方法

### (1) 対象

2002~2011 年に手術が施行された初回発作型を除く UC 患者 141 例。うち neoplasia 群は 18 例 (UC-CRC 9 例、dysplasia 9 例)、対照は neoplasia 非合併 123 例とした。

### (2) 方法

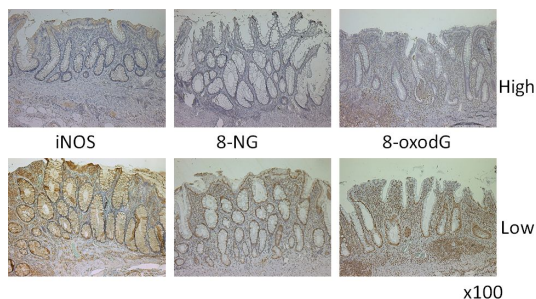
#### 免疫組織染色

切除標本直腸粘膜における(neoplasia 群では UC-CRC/dysplasia から 5cm 以上離れた正常粘膜)iNOS、8-oxodG、8-NG の免疫組織染色を実施。

#### 染色強度判定

各染色において低/高発現の 2 段階で判定

行った。



#### 臨床病理学的因子

年齢(UC 発症時・手術時)、性別、UC 病態(罹患範囲・臨床経過・臨床的/組織学的重症度・病期)を調査。

免疫組織染色の結果と臨床病理学的因子の関連を検討した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 臨床病理学的因子との関連

Neoplasia 群と対照群の間に有意な差が認められた臨床病理学的因子は UC 術前罹患期間[11 年(1-28 年) vs 6 年(1-28 年),  $p=0.0016$ ] と 8-NG 染色高発現の割合[11/18 (61%) vs 21/123 (17%),  $p=0.0002$ ]であった。一方で iNOS[13/18 (72%) vs 80/123 (65%),  $p=0.61$ ] および 8-oxodG[15/18 (83%) vs 111/123 (90%),  $p=0.41$ ] 染色高発現の割合は neoplasia 群と対照群の間に有意な差は認められなかった。

##### (2) Neoplasia リスク因子の検討

単変量解析では直腸粘膜組織の 8-NG 免疫組織化学染色高発現 (Odds 比 5.8、95%CI=1.7-19.6、 $p=0.0001$ ) と UC 術前罹患期間 7 年以上 (Odds 比 7.3、95%CI=2.3-32.7、 $p=0.0005$ ) がそれぞれ有意な neoplasia 発生リスク因子であった。

また、両者を合わせると高い neoplasia 発生リスク因子であった (Odds 比 11.3、95%CI=3.7-36.0、 $p<0.0001$ )。

##### (3) 結論

直腸粘膜における 8-NG 高発現は単独でも

UC における CRC/dysplasia のマーカーとなりうる可能性が示唆され、特に発症後 7 年以上経過し直腸粘膜に 8-NG 高発現が認められる場合には、より注意深いサーベイランスが必要となると考えられた。

#### 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 1 件)

Saigusa S, Araki T, Tanaka K, Hashimoto K, Okita Y, Fujikawa H, Okugawa Y, Toiyama Y, Inoue Y, Uchida K, Mohri Y, Kusunoki M. Identification of patients with developing ulcerative colitis-associated neoplasia by nitritative DNA damage marker 8-nitroguanine expression in rectal mucosa. 査読有 J Clin Gastroenterol. 2013; 47: e80-e86.

[学会発表](計 1 件)

荒木俊光, 三枝晋, 橋本清, 大北喜基, 藤川裕之, 奥川喜永, 川村幹雄, 廣純一郎, 田中光司, 井上靖浩, 内田恵一, 毛利靖彦, 楠正人. 一酸化窒素の発癌機構に着目した colitic cancer 早期診断アプローチ. 第 67 回日本大腸肛門病学会学術集会. 2012/11/17, 福岡

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

[その他]

なし

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

荒木俊光 ( ARAKI TOSHIMITSU )

三重大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70343217

(2)研究分担者

楠 正人 ( KUSUNOKI MASATO )

三重大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：50192026

吉山繁幸 ( YOSHIYAMA SHIGEYUKI )

三重大学・医学部附属病院・診療従事者

研究者番号：60444436

大北喜基 ( OKITA YOSHIKI )

三重大学・医学部・助教

研究者番号：20378342

三木誓雄 ( MIKI CHIKAO )

三重大学・大学院医学系研究科・客員教授

研究者番号：50242962

(3)連携研究者

なし