

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791368

研究課題名(和文)動物および外科標本を活用した消化器癌の血管リンパ管新生と転移カスケードの解明

研究課題名(英文)Elucidation of angiogenesis, lymphangiogenesis and metastatic cascade in digestive malignancy utilizing animal and surgical specimens

研究代表者

佐々木 宏之(SASAKI, HIROYUKI)

東北大学・災害科学国際研究所・助教

研究者番号：90625097

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト大腸癌細胞株のマウス同所移植の原発巣及び転移巣のホルマリン固定標本を用いてE-cadherin, cytokeratin 20, beta-catenin, vimentinの免疫化学染色を行った。16種の大腸癌細胞株及びこれらに由来する同所移植腫瘍の染色様式は特徴的であり「上皮間葉転換(EMT)形質」を含む3つの形質群に分類できた。さらに免疫染色の結果をマイクロアレイデータと相関解析し、EMT候補遺伝子として5遺伝子を抽出した。このうちSERPINI1, CHST11遺伝子に対する発現抑制実験でE-cadherin, Snail といったEMT関連遺伝子群の発現を制御できた。

研究成果の概要(英文)：Utilizing 16 types of human colorectal cancer cell lines in vitro and their formalin-embedded orthotopically-implanted in vivo tumors in mice, immunohistochemistry (IHC) on E-cadherin, cytokeratin 20, beta-catenin and vimentin were analyzed. We found characteristic IHC results for the 16 types of colorectal cancer cells and their corresponding orthotopic tumors, which indicated that the cells can be classified into three phenotypes on the standpoint of EMT. We further correlated the outcome to their expression profile with microarray data, and isolated five candidate genes which should be important for regulation of EMT. Among the genes, the downregulation of expressions of SERPINI1 and CHST11 genes successfully regulated the expressions of EMT-related genes such as E-cadherin and Snail. Currently we are analyzing the outcome with clinical samples, and the manuscript was submitted to one journal, and after the first round of review it is under preparation for re-submission.

研究分野：医歯薬学

キーワード：実験外科学 消化器癌

1. 研究開始当初の背景

血管新生は既存の血管から新たな血管枝が分岐して血管網を構築する生理的現象であり、腫瘍での血管新生は癌増殖さらに転移及び浸潤過程に重要と考えられる。一方、腫瘍におけるリンパ管新生の概念は比較的新しい。これらの解明を目指した研究が各方面から精力的に進められていた。我々は、22 種のヒト大腸癌細胞株をヌードマウス盲腸に同所移植し、移植後8~12 週後の各臓器への転移の様態を明らかにした(Sasaki, et al. Cancer Science 2008; 99(4): Page 711-719)。この研究で明らかになったのは、KM12c, Clone A などではリンパ節転移を、HCT116, CX-1 などでは肝転移を、MIP101, HCT-8 では腹膜転移を起こしやすいが、細胞株間での転移様式と頻度は全く異なっていることである。つまり癌原発巣から転移巣までの転移カスケードの各ステップは、22 種の大腸癌細胞株で全く異なっていると予測される。癌転移の総括的な解析によって癌の浸潤と転移の制御機構を解明できると考えるが、この種の解析は本研究結果以外には全く報告されていなかった。我々は先のマウス実験で、パラフィン包埋標本600 検体を作成した。盲腸へ同所移植した大腸癌の原発巣は22 種すべてで得られ、リンパ節転移巣は19 株に、肝転移巣は12 株に、肺転移巣は9 株に得られた。腫瘍における血管新生、リンパ管新生は癌局所の浸潤と進展に重要であるのみならず、各臓器への転移においても重要な役割を果たしていると考えられる。

2. 研究の目的

我々が保有する22 種の大腸癌細胞株のマウス同所移植モデルから作成した、原発巣(盲腸)と転移巣(肝臓、肺、リンパ節、腹膜など)のパラフィン包埋標本600検体を用いて、免疫組織化学的に血管およびリンパ管新生の全容及び上皮間葉転換(EMT)との関連を明らかにし、癌の転移カスケードにおける意義を明らかにする。さらに22 種細胞株のマ

イクロアレイの発現プロファイルとの比較から、血管およびリンパ管新生をもたらす候補遺伝子群を絞り込む。臨床検体も併せて解析し、in vitro, in vivo による機能解析を進めて、血管およびリンパ管新生と癌の転移を制御する新規治療、集学的治療を開発する。

3. 研究の方法

マウス600パラフィン検体を用いた免疫組織化学染色(血管新生(抗CD34 抗体), リンパ管新生(抗D2-40 抗体), VEGF その他), EMT マーカー(E-cadherin, Vimentin)を施行し、

多種細胞株の転移との相関解析を施行、マイクロアレイ結果との相関解析の後に、-1. 外科切除標本による免疫組織化学染色、-2. 候補遺伝子の機能解析(siRNA を基盤とするin vitro, in vivo 解析、それ以外の遺伝子個別の機能解析)を行い、患者の臨床情報とも対比させた解析を行って、基礎研究者との共同のもとで、最終的には腫瘍外科領域における新しい治療法と集学的治療法へと展開する。

4. 研究成果

ヒト大腸癌細胞株の同所移植を行ったマウス原発巣と転移巣に由来する検体を用い免疫化学染色を行った。同所移植腫瘍における染色様式は特徴的であり、各細胞株を「上皮間葉転換(EMT)形質」を含む3つの形質群に分類出来た。マイクロアレイデータとの相関解析からEMT 候補遺伝子として5遺伝子が抽出され、このうちSERPINI1, CHST11 遺伝子に対し行った発現抑制実験では、EMT を抑制し細胞形態を大きく変化させることが示された。

本研究により、移植モデルにおける腫瘍形成・浸潤過程でのEMT 形質の獲得を確認出来た。また上記2 遺伝子がEMT 制御に関連していることが示唆され、大腸癌における腫瘍浸潤、転移メカニズムの解明につながるのではないかと考えられる。

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 9 件)

1. 大沼忍, 内藤剛, 羽根田祥, 工藤克昌, 神山篤史, 長尾 宗紀, 田中 直樹, 佐々木 宏之, 青木 豪, 阿部 友哉, 武者 宏昭, 森川 孝則, 吉田 寛, 元井 冬彦, 片寄 友, 柴田 近, 海野 倫明. 直腸神経内分泌腫瘍に対する治療方針. 癌と化学療法 (0385-0684)40 巻 12 号 Page2077-2079(2013.11) (査読有)
2. 佐々木 宏之(11人中1番目). 慢性膵炎に対するドレナージ手術の適応と実際. 胆と膵. 34 巻臨増特大 Page 981-984 (2013.10) (査読無)
3. Egawa S, Kodama M, Sasaki H. Installation of medical and public health coordinator in Japan. Proceedings of 9th APRU Research Symposium on Multi-hazards around the Pacific Rim, 2013.
4. 佐々木 宏之(12人中5番目). 開腹下に内視鏡的ポリープ切除術を施行した Peutz-Jeghers 症候群にともなう小腸重積の 1 例. 日本消化器病学会雑誌 (0446-6586)110 巻 6 号 Page 1014-1021(2013.06) (査読有)
5. 渡辺 和宏, 柴田 近, 小川 仁, 長尾 宗紀, 羽根田 祥, 工藤 克昌, 神山 篤史, 鈴木 秀幸, 三浦 康, 内藤 剛, 鹿郷 昌之, 田中 直樹, 大沼 忍, 佐々木 宏之, 海野 倫明, 福島 浩平. 炎症性腸疾患の経過 潰瘍性大腸炎の術後経過. 胃と腸 (0536-2180)48 巻 5 号 Page731-736(2013.05) (査読有)
6. 佐々木 宏之, 柴田近, 佐々木巖. 小腸手術後の必須アセスメント. 消化器外科 Nursing (1341-7819)17 巻 1 号 Page50-61(2012.01) (査読無)
7. Egawa S, Sasaki H. Curriculum planning of disaster medical

coordinator educational course.

Proceedings of 8th APRU Research Symposium on Multi-hazards around the Pacific Rim, 2012. (査読有)

8. 佐々木 宏之(13人中9番目). 機械的イレウス 単純性イレウス 腸壁以外の病変によるイレウス. 外科 (0016-593X)74 巻 3 号 Page239-244(2012.03) (査読無)
9. Sasaki H(15人中7番目). IL-23 directly enhances the proliferative and invasive activities of colorectal carcinoma. Oncol Lett. 2012 Aug;4(2):199-204. Epub 2012 May 30. (査読有)

〔学会発表〕(計 28 件)

1. 大沼 忍, 内藤 剛, 木村 俊一, 唐澤 秀明, 青木 豪, 工藤 克昌, 佐々木 宏之, 渡辺 和宏, 田中 直樹, 長尾 宗紀, 阿部 友哉, 武者 宏昭, 元井 冬彦, 片寄 友, 海野 倫明. 局所再発直腸癌に対する治療戦略. 第 76 回日本臨床外科学会総会、2014 年 11 月 21 日、ホテルハマツ(福島)
2. 木村 俊一, 大沼 忍, 唐澤 秀明, 青木 豪, 佐々木 宏之, 工藤 克昌, 渡辺 和宏, 田中 直樹, 長尾 宗紀, 阿部 友哉, 武者 宏昭, 元井 冬彦, 片寄 友, 内藤 剛, 海野 倫明. 巨大直腸 GIST の治療戦略. 第 76 回日本臨床外科学会総会、2014 年 11 月 20 日、ホテルハマツ(福島)
3. 大沼 忍, 戸嶋 政秀, 工藤 克昌, 佐々木 宏之, 渡辺 和宏, 長尾 宗紀, 内藤 剛, 海野 倫明. 大腸癌化学療法におけるバイオマーカー 有害事象発現予測のための 5-FU 代謝関連酵素の遺伝子多型解析. 第 69 回日本大腸肛門病学会総会、2014 年 11 月 8 日、ヨコハマグランドインターコンチネンタルホテル

- (横浜)
4. 長尾 宗紀, 渡辺 和宏, 大沼 忍, 佐々木 宏之, 内藤 剛, 海野 倫明. 当科におけるストーマ閉鎖時の吻合法についての検討 機能的端々吻合 vs 手縫い吻合. 第 69 回日本大腸肛門病学会総会、2014 年 11 月 8 日、横浜ベイホテル東急(横浜)
 5. 内藤 剛, 田中 直樹, 長尾 宗紀, 宮地 智洋, 土屋 堯裕, 唐澤 秀明, 佐々木 宏之, 工藤 克昌, 大沼 忍, 渡辺 和宏, 阿部 友哉, 武者 宏昭, 中川 圭, 森川 孝則, 吉田 寛, 元井 冬彦, 片寄 友, 海野 倫明. 肥満と癌 減量手術と悪性腫瘍. 第 35 回日本肥満学会、2014 年 10 月 24 日、フェニックスシーガイアリゾートコンベンションセンター(宮崎)
 6. 羽根田 祥, 大沼 忍, 武者 宏昭, 森川 孝則, 長尾 宗紀, 阿部 友哉, 田中 直樹, 工藤 克昌, 佐々木 宏之, 青木 豪, 唐澤 秀明, 吉田 寛, 林 洋毅, 中川 圭, 岡田 恭穂, 元井 冬彦, 片寄 友, 内藤 剛, 海野 倫明. クロウン病症例における在宅中心静脈栄養療法導入基準の検討. 第 56 回日本消化器病学会大会、2014 年 10 月 23 日、神戸国際展示場(神戸)
 7. 松田泰史、三浦康、藤淵航、山根順子、石田和之、佐々木宏之、長尾宗紀、大沼忍、元井冬彦、片寄友、内藤剛、海野倫明. マウス同所移植モデルを用いた、上皮間葉転換制御遺伝子 CHST11 及び SERPINI1 遺伝子の解析. 第 73 回日本癌学会学術総会、2014 年 9 月 27 日、パシフィコ横浜(横浜)
 8. 柴田 近, 染谷 崇徳, 長尾 宗紀, 宮地 智洋, 林 啓一, 内藤 剛, 武者 宏昭, 森川 孝則, 大沼 忍, 工藤 克昌, 田中 直樹, 羽根田 祥, 佐々木 宏之, 神山 篤史, 青木 豪, 吉田 寛, 元井 冬彦, 片寄 友, 江川 新一, 海野 倫明. 結腸運動と排便の制御における壁在性神経の連続性と外来神経の役割. 第 100 回日本消化器病学会総会、2014 年 4 月 26 日、東京国際フォーラム(東京)
 9. 工藤 克昌, 武者 宏昭, 田中 直樹, 大沼 忍, 羽根田 祥, 神山 篤史, 森川 孝則, 阿部 友哉, 長尾 宗紀, 佐々木 宏之, 青木 豪, 唐澤 秀明, 吉田 寛, 中川 圭, 柴田 近, 元井 冬彦, 内藤 剛, 江川 新一, 片寄 友, 海野 倫明. 胃癌手術例における術後 1 年後の体重変化の検討. 第 100 回日本消化器病学会総会、2014 年 4 月 25 日、東京国際フォーラム(東京)
 10. 長尾 宗紀, 羽根田 祥, 田中 直樹, 佐々木 宏之, 大沼 忍, 神山 篤史, 工藤 克昌, 阿部 友哉, 武者 宏昭, 森川 孝則, 坂田 直昭, 林 洋毅, 岡田 恭穂, 中川 圭, 吉田 寛, 元井 冬彦, 内藤 剛, 片寄 友, 江川 新一, 海野 倫明. 高齢者(50 歳以上)潰瘍性大腸炎手術例における術式選択. 第 100 回日本消化器病学会総会、2014 年 4 月 24 日、東京国際フォーラム(東京)
 11. 神山 篤史, 羽根田 祥, 長尾 宗紀, 大沼 忍, 工藤 克昌, 田中 直樹, 武者 宏昭, 阿部 友哉, 高橋 賢一, 生澤 史江, 舟山 裕士, 内藤 剛, 森川 孝則, 片寄 友, 江川 新一, 元井 冬彦, 佐々木 宏之, 青木 豪, 唐澤 秀明, 海野 倫明. クロウン病癌化 15 例の検討. 第 100 回日本消化器病学会総会、2014 年 4 月 24 日、東京国際フォーラム(東京)
 12. 羽根田 祥, 長尾 宗紀, 工藤 克昌, 神山 篤史, 森川 孝則, 武者 宏昭, 阿部 友哉, 田中 直樹, 大沼 忍, 佐々木 宏之, 青木 豪, 唐澤 秀明, 元井 冬彦, 吉田 寛, 林 洋毅, 岡田 恭穂, 中川 圭, 片寄 友, 内藤 剛, 海野 倫明. クロ-

- ン病における腸管不全発症症例の検討. 第 100 回日本消化器病学会総会、2014 年 4 月 23 日、東京国際フォーラム (東京)
13. 大沼 忍, 内藤 剛, 阿部 友哉, 佐々木 宏之, 長尾 宗紀, 羽根田 祥, 神山 篤史, 森川 孝則, 武者 宏昭, 田中 直樹, 工藤 克昌, 青木 豪, 唐澤 秀明, 岡田 恭穂, 林 洋毅, 中川 圭, 吉田 寛, 元井 冬彦, 片寄 友, 柴田 近, 海野 倫明. 長期生存症例の特徴から見た直腸癌局所再発に対する外科治療. 第 114 回日本外科学会定期学術集会、2014 年 4 月 5 日、グランドプリンスホテル京都 (京都)
 14. 田中 直樹, 武者 宏昭, 工藤 克昌, 大沼 忍, 羽根田 祥, 神山 篤史, 阿部 友哉, 森川 孝則, 長尾 宗紀, 佐々木 宏之, 青木 豪, 唐澤 秀明, 元井 冬彦, 吉田 寛, 林 洋毅, 中川 圭, 岡田 恭穂, 片寄 友, 内藤 剛, 柴田 近, 海野 倫明. 胃切除術周術期の体重減少と体組成変化. 第 114 回日本外科学会定期学術集会、2014 年 4 月 4 日、国立京都国際会館 (京都)
 15. 内藤 剛, 大沼 忍, 阿部 友哉, 佐々木 宏之, 長尾 宗紀, 羽根田 祥, 森川 孝則, 武者 宏昭, 田中 直樹, 工藤 克昌, 神山 篤史, 唐澤 秀明, 元井 冬彦, 吉田 寛, 林 洋毅, 中川 圭, 岡田 恭穂, 坂田 直昭, 片寄 友, 柴田 近, 海野 倫明. 腹腔鏡下右側結腸切除術における至適郭清範囲と郭清手技. 第 114 回日本外科学会定期学術集会、2014 年 4 月 4 日、グランドプリンスホテル京都 (京都)
 16. 工藤 克昌, 武者 宏昭, 田中 直樹, 大沼 忍, 羽根田 祥, 神山 篤史, 阿部 友哉, 森川 孝則, 長尾 宗紀, 佐々木 宏之, 青木 豪, 唐澤 秀明, 元井 冬彦, 吉田 寛, 林 洋毅, 中川 圭, 岡田 恭穂, 片寄 友, 内藤 剛, 柴田 近, 海野 倫明. 胃癌手術症例における CONUT 法による術前栄養評価と術後長期成績の検討. 第 114 回日本外科学会定期学術集会、2014 年 4 月 3 日、国立京都国際会館 (京都)
 17. 羽根田 祥, 長尾 宗紀, 工藤 克昌, 神山 篤史, 森川 孝則, 武者 宏昭, 阿部 友哉, 田中 直樹, 大沼 忍, 佐々木 宏之, 青木 豪, 唐澤 秀明, 元井 冬彦, 吉田 寛, 林 洋毅, 中川 圭, 岡田 恭穂, 片寄 友, 内藤 剛, 柴田 近, 海野 倫明. クローン病における HPN 導入基準の検討. 第 114 回日本外科学会定期学術集会、2014 年 4 月 3 日、国立京都国際会館 (京都)
 18. 柴田 近, 笠島 敦子, 内藤 剛, 森川 孝則, 武者 宏明, 阿部 友哉, 長尾 宗紀, 田中 直樹, 羽根田 祥, 大沼 忍, 工藤 克昌, 佐々木 宏之, 青木 豪, 神山 篤史, 岡田 恭穂, 林 洋毅, 吉田 寛, 元井 冬彦, 片寄 友, 笹野 公伸, 海野 倫明. 膵神経内分泌腫瘍におけるグルカゴン受容体の発現と臨床病理学的因子の関連. 第 114 回日本外科学会定期学術集会、2014 年 4 月 3 日、国立京都国際会館 (京都)
 19. 長尾 宗紀, 羽根田 祥, 田中 直樹, 佐々木 宏之, 大沼 忍, 神山 篤史, 工藤 克昌, 阿部 友哉, 武者 宏昭, 森川 孝則, 坂田 直昭, 林 洋毅, 岡田 恭穂, 中川 圭, 吉田 寛, 元井 冬彦, 内藤 剛, 片寄 友, 江川 新一, 柴田 近, 海野 倫明. 当科における高齢者、50 歳以上)潰瘍性大腸炎手術例の検討. 第 114 回日本外科学会定期学術集会、2014 年 4 月 3 日、国立京都国際会館 (京都)
 20. 神山 篤史, 高橋 賢一, 生澤 史江, 舟山 裕士, 柴田 近, 内藤 剛, 森川 孝則,

- 大沼 忍, 羽根田 祥, 長尾 宗紀, 工藤 克昌, 武者 宏昭, 田中 直樹, 佐々木 宏之, 阿部 友哉, 青木 豪, 元井 冬彦, 吉田 寛, 江川 新一, 片寄 友, 海野 倫明. 潰瘍性大腸炎関連大腸癌 39 例の検討. 第 114 回日本外科学会定期学術集会、2014 年 4 月 3 日、国立京都国際会館 (京都)
21. 武者 宏昭, 田中 直樹, 工藤 昌克, 安本 明浩, 大沼 忍, 羽根田 祥, 神山 篤, 阿部 友哉, 長尾 宗紀, 佐々木 宏之, 青木 豪, 唐澤 秀明, 森川 孝則, 吉田 寛, 元井 冬彦, 内藤 剛, 片寄 友, 柴田 近, 徳村 弘実, 海野 倫明. 胃上部早期胃がんに対する術式選択: 噴門側胃切除 vs 胃全摘術 噴門側胃切除. 第 114 回日本外科学会定期学術集会、2014 年 4 月 3 日、グランドプリンスホテル 京都 (京都)
22. 工藤 克昌, 柴田 近, 武者 宏昭, 田中 直樹, 大沼 忍, 羽根田 祥, 神山 篤史, 阿部 友哉, 長尾 宗紀, 佐々木 宏之, 森川 孝則, 青木 豪, 内藤 剛, 元井 冬彦, 海野 倫明. 胃癌手術後 1 年後の体重減少の検討. 第 86 回日本胃癌学会総会、2014 年 3 月 21 日、パシフィコ横浜 (横浜)
23. 田中 直樹, 鹿郷 昌之, 柴田 近, 武者 宏昭, 工藤 克昌, 大沼 忍, 羽根田 祥, 神山 篤史, 阿部 友哉, 長尾 宗紀, 佐々木 宏之, 森川 孝則, 元井 冬彦, 内藤 剛, 海野 倫明. 腹腔鏡補助下胃切除術の周術期成績と手術リスク. 第 86 回日本胃癌学会総会、2014 年 3 月 20 日、パシフィコ横浜 (横浜)
24. 羽根田 祥, 小川 仁, 内藤 剛, 長尾 宗紀, 大沼 忍, 佐々木 宏之, 三浦 康, 柴田 近, 江川 新一, 海野 倫明. 当院におけるクローン病術後の腸管不全症例の検討. 第 68 回日本消化器外科学会総会、2013 年 7 月 19 日、シーガイアコンベンションセンター (宮崎)
25. 佐々木 宏之, 三浦 康, 大沼 忍, 内藤 剛, 小川 仁, 長尾 宗紀, 田中 直樹, 柴田 近, 江川 新一, 海野 倫明. 当科における大腸癌肺転移症例の検討. 第 68 回日本消化器外科学会総会、2013 年 7 月 19 日、シーガイアコンベンションセンター (宮崎)
26. 染谷 崇徳, 長尾 宗紀, 田中 直樹, 佐々木 宏之, 小川 仁, 内藤 剛, 三浦 康, 柴田 近, 江川 新一, 海野 倫明. 結腸内 TRPA1 agonist 投与による結腸運動亢進・排便誘発作用の検討. 第 68 回日本消化器外科学会総会、2013 年 7 月 17 日、シーガイアコンベンションセンター (宮崎)
27. 大沼 忍, 三浦 康, 内藤 剛, 小川 仁, 長尾 宗紀, 羽根田 祥, 佐々木 宏之, 柴田 近, 江川 新一, 海野 倫明. 直腸癌局所再発症例に対する治癒切除は予後を改善させる. 第 68 回日本消化器外科学会総会、2013 年 7 月 17 日、シーガイアコンベンションセンター (宮崎)
28. 長尾 宗紀, 小川 仁, 羽根田 祥, 佐々木 宏之, 大沼 忍, 内藤 剛, 三浦 康, 柴田 近, 江川 新一, 海野 倫明. 潰瘍性大腸炎に対する回腸肛門吻合術後の長期予後 (術後 15 年以上) の検討. 第 68 回日本消化器外科学会総会、2013 年 7 月 17 日、シーガイアコンベンションセンター (宮崎)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐々木 宏之 (SASAKI HIROYUKI)

東北大学・災害科学国際研究所・助教

研究者番号: 90625097