

平成 21 年 5 月 10 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19591509

研究課題名（和文） 癌幹細胞を標的とした新規癌特異的免疫治療法の開発

研究課題名（英文） Development of new cancer-immunotherapy targeting cancer stem cells

研究代表者

田中 文明（Fumiaki Tanaka）

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：30332836

研究成果の概要：消化器癌における癌幹細胞のマーカーを明らかにするとともに、その生物学的特徴を明らかにすることを第一目標として研究を行った。細胞周期を指標とした方法により癌幹細胞成分を抽出した。また、網羅的遺伝子発現解析により、癌幹細胞に特徴的な遺伝子候補を同定した。それらの遺伝子が癌幹細胞に対する新規免疫治療の実施に有用な分子である可能性が示唆された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：癌幹細胞、特異的認識、免疫治療

1. 研究開始当初の背景

われわれは世界で初めて消化器癌幹細胞、あるいは癌幹細胞様細胞の存在およびその生物学的特徴を捉えることに成功した(Stem Cells, 2005)。

また、標的とする癌細胞を特異的に破壊する方法として、われわれはこれまでに癌抗原（癌細胞のみに発現し正常細胞に発現しないタンパク質）を発現する癌細胞を特異的に破壊する癌特異的免疫療

法を開発し、2005年1月より高度先進医療に認可された。

2. 研究の目的

癌は癌幹細胞とそれから分化した癌細胞によって構成され、そのため治療による感受性（抗癌剤の効きやすさ、放射線治療の効きやすさ）が同一患者の癌細胞内でも異なる。癌の治療が困難である最大の理由は、腫瘍に含まれる癌幹細胞は抗

癌剤・放射線に抵抗性を示すためと想定される。また、癌幹細胞が遠隔転移をすれば同様に治療抵抗性な腫瘍を形成する。すなわち、癌治療において、癌幹細胞を治療することができれば、再発・転移を含めて難治性癌をコントロールできる可能性がある。

本研究では、まず多臓器由来の癌幹細胞を、その特徴（癌幹細胞の特徴的遺伝子発現パターンの解析）をとらえることによって選択的に同定すること、そして癌幹細胞を特異的に破壊する新規治療法を開発することで難治性癌を根本的に制御する新規治療を開発することを目的とする。

3．研究の方法

- (1) 消化器癌株化癌細胞からの癌幹細胞の抽出
- (2) 癌幹細胞の特異的遺伝子発現解析
- (3) 癌幹細胞の治療抵抗性の証明
- (4) 癌幹細胞特異的に破壊する抗腫瘍免疫能の誘導

4．研究成果

消化器癌における癌幹細胞のマーカーを明らかにするとともに、その生物学的特徴を明らかにすることを第一目標として研究を行った。われわれは、ヒト肝細胞癌株化細胞を用いて、初めて癌幹細胞の存在を明らかにした(Haraguchi, Tanaka et al., Stem cells, 2006)。最終目標である癌幹細胞を標的とした特異的免疫治療を実施するために、マウス肝細胞癌細胞株MH129を用いて癌幹細胞の同定を進めた。ヒト肝細胞HuH7の癌幹細胞同定と同じ手法のSP成分をソーティングし、培養実験を行ったが、MH129では癌幹細胞成分は得られなかった。そこで、新規同定方法として、癌幹細胞が長期生存できるという性質を考慮し、細胞周期が停止しているG0期に着目した。FACSを用いてG0期細胞をソーティングした後、in vitroで増殖能、コロニー形成能を解析した。

その結果、in vitroでは非G0期細胞と比較してG0細胞が増殖能、コロニー形成能に

優れ、かつ肝臓細胞のマーカーであるアルブミンのみならず胆管細胞マーカーのKRT19を発現することが示された。すなわち、多分化能を有することを示した。また、未分化な細胞であることを示す表面マーカーの一つであるKRT14の発現をG0細胞でのみ認めた。またin vivoにおける腫瘍造成能にも優れていることが初めて明らかにされた。また、無血清培地において肝細胞、胆管細胞へ分化させる因子を混合培養することで、それぞれの成分への分化を実施している。また、薬剤耐性に関して、ABCトランスポーター遺伝子に依存するアンソラサイクリン系抗癌剤のみならず、多種の抗癌剤を用いて耐性実験を行っている。又同時に、4万4千遺伝子搭載オリゴマイクロアレイを用いて遺伝子発現解析を行った。本解析の結果、G0細胞群特異的な候補遺伝子群の同定がなされた。

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13件)

1. Ieta K, Tanaka F, Yokobori T, Kita Y, Haraguchi N, Mimori K, Kato H, Asao T, Inoue H, Kuwano H, Mori M, Clinicopathological significance of stanniocalcin 2 (*STC2*) gene expression in colorectal cancer, *Int J Cancer*, in press
2. Motoyama K, Inoue H, Takatsuno Y, Tanaka F, Mimori K, Uetake H, Sugihara K, Mori M. Over- and under-expressed microRNAs in human colorectal cancer. *Int J Oncol*. 34: 1069-75, 2009
3. Sakashita K, Tanaka F, Zhang X, Mimori K, Kamohara Y, Inoue H, Sawada T, Hirakawa K, Mori M. Clinical significance of ApoE expression in human gastric cancer. *Oncol Rep*. 20 :1313-9, 2008.
4. Tanaka F, Haraguchi N, Isikawa K, Inoue H, Mori M, Potential role of dendritic cell vaccination with MAGE peptides in

- gastrointestinal carcinomas, *Oncol Rep* 20: 1111-1116, 2008
5. Sakashita K, Mimori K, **Tanaka F**, Tahara K, Inoue H, Sawada T, Ohira M, Hirakawa K, Mori M, Clinical significance of low expression of Prostatein mRNA in human gastric cancer, *J Surg Oncol*. 2008 Oct 17. [Epub ahead of print]
 6. Haraguchi N, Ohkuma M, Sakashita H, Matsuzaki S, **Tanaka F**, Mimori K, Kamohara Y, Inoue H, Mori M. CD133+CD44+ population efficiently enriches colon cancer initiating cells. *Ann Surg Oncol*.;15:2927-33, 2008
 7. Kamohara Y, Haraguchi N, Mimori K, **Tanaka F**, Inoue H, Mori M, Kanematsu T. The search for cancer stem cells in hepatocellular carcinoma. *Surgery*.;144:119-24, 2008
 8. Ishikawa K, Kamohara Y, **Tanaka F**, Haraguchi N, Mimori K, Inoue H, Mori M. Mitotic centromere-associated kinesin is a novel marker for prognosis and lymph node metastasis in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 3;98:1824-9, 2008
 9. Nakamura Y, **Tanaka F**, Yoshikawa Y, Mimori K, Inoue H, Yanaga K, Mori M. PDGF-BB is a novel prognostic factor in colorectal cancer. *Ann Surg Oncol*;15:2129-36., 2008
 10. Yokoe T, **Tanaka F**, Mimori K, Inoue H, Ohmachi T, Kusunoki M, Mori M. Efficient identification of a novel cancer/testis antigen for immunotherapy using three-step microarray analysis, *Cancer Res*. 15;68:1074-82, 2008
 11. Motoyama K, **Tanaka F**, Kosaka Y, Mimori K, Uetake H, Inoue H, Sugihara K, Mori M. Clinical significance of BMP7 in human colorectal cancer. *Ann Surg Oncol*, 15:1530-7, 2008
 12. Ieta K, **Tanaka F**, Haraguchi N, Kita Y, Sakashita H, Mimori K, Matsumoto T,

Inoue H, Kuwano H, Mori M. Biological and Genetic Characteristics of Tumor-Initiating Cells in Colon Cancer. *Ann Surg Oncol*. 15: 638-48, 2008

13. Sasaki A, **Tanaka F**, Mimori K, Inoue H, Kai S, Shibata K, Ohta M, Kitano S, Mori M. Prognostic value of tumor-infiltrating FOXP3(+) regulatory T cells in patients with hepatocellular carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 34: 173-9, 2008

〔学会発表〕(計3件)

1. **田中文明**、横江 毅、石川健二、三森功士、田原光一郎、井上 裕、森 正樹、樹状細胞と癌抗原を用いた進行癌に対する癌ワクチン治療；未来への工夫、第70回日本臨床外科学会総会、2008.11.29、東京
2. **田中文明**、原口直紹、横江 毅、石川健二、三森功士、蒲原行雄、井上 裕、森 正樹、消化器癌への樹状細胞と癌抗原を用いた癌ワクチン治療；これまでとこれからへ、第63回日本消化器外科学会総会、パネルディスカッション、札幌、2008.7.17
3. **田中文明**、原口直紹、石川健二、三森功士、蒲原行雄、井上 裕、森 正樹、消化器癌幹細胞を標的とした新規癌治療の開発、第108回日本外科学会定期学術集会、2008.5.16、長崎

〔その他〕

ホームページ等

http://www.mib-beppu.kyushu-u.ac.jp/MIB_res/Surgery/

6. 研究組織

(1)研究代表者

田中 文明 (Fumiaki Tanaka)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：30332836

(2)研究分担者

井上 裕 (Hiroshi Inoue)

九州大学・生体防御医学研究所・共同研究員

研究者番号：90203249
吉武 慎一郎 (Shinichirou Yoshitake)
九州大学・大学病院・講師
研究者番号：80315142

(3)連携研究者：なし