

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21591712

研究課題名(和文) 食道癌におけるケモカインネットワークを標的とした新しい癌治療法の開発

研究課題名(英文) New cancer therapy targeting chemokine network in esophageal cancer

研究代表者

竹内 裕也 (TAKEUCHI HIROYA)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：20265838

研究成果の概要(和文): 105 例の食道扁平上皮癌切除検体に対してケモカインレセプターCCR7 の免疫組織染色を行ったところ、CCR7 陽性例 26 例(27%) はリンパ節転移と有意に相関し、術後 5 年生存率は有意に不良であった。ヒト食道癌細胞株におけるケモカインレセプターCCR7 の発現を確認した。さらに細胞遊走の機能的解析を行ったところ CCR7 を発現する細胞株は対応するケモカイン CCL21 の投与により濃度依存性に遊走活性を示した。一方食道扁平上皮癌細胞株、食道癌切除検体ともにケモカイン CXCL12 を発現しており、食道癌切除検体における CXCL12 陽性例は有意に予後不良であった。食道扁平上皮癌細胞株において CXCR4 発現株、CXCL12 発現株を作製し、増殖速度を検討したところ、CXCL12 と CXCR4 は食道癌において双方が発現して autocrine により悪性度を獲得している可能性が示唆された。食道扁平上皮癌細胞株において CXCR4 発現株、CXCL12 発現株で抗 HIV 治療薬である AMD3100 投与により細胞増殖が有意に抑制された。

研究成果の概要(英文): We investigated the CCR7 expression of 105 consecutive patients with esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) by immunohistochemistry, showing that positive CCR7 expression was significantly correlated with lymph node metastasis and poor prognosis. Cell mobility analyzer to directly assess cell migratory movements showed that CCR7-expressing ESCC cells exhibited a significant increase in velocity in response to the CC-chemokine ligand 21/secondary lymphoid-tissue chemokine (CCL21/SLC), a specific ligand for CCR7. We also investigated the CXCL12 of 81 patients with ESCC by immunohistochemistry, showing that positive CXCL12 expression was significantly correlated with poor prognosis. ESCC cell growth which over-expressed CXCL12 was significantly suppressed by AMD3100.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
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・消化器外科学

キーワード：(1) 食道扁平上皮癌 (2) ケモカインレセプター(3) CCR7 (4) CXCR4
(5) CCL21 (6) CXCL12

1. 研究開始当初の背景

- (1) 食道扁平上皮癌は高率にリンパ節転移、他臓器転移（肺転移、肝転移）を起こす癌であり、現在行われている手術、放射線療法、化学療法を組み合わせても予後は極めて不良である。
- (2) 他癌腫においてケモカイン - ケモカインレセプターネットワークが癌の増殖、浸潤、転移に関与することが明らかになりつつあった。

2. 研究の目的

- (1) 本研究は癌-宿主間のケモカインネットワークに着目し、食道癌におけるセンチネルリンパ節を含めたリンパ節転移や血行性転移に関わる分子生物学的因子とその転移成立機序の解明を目的とする。
- (2) さらに本研究ではケモカイン、ケモカインレセプターネットワークを標的とした新しい癌治療法、転移抑制剤の開発を目指す。

3. 研究の方法

- (1) ヒト食道扁平上皮癌細胞株（10種）におけるケモカインレセプターの発

現と細胞遊走の機能解析を行う。

- (2) 105例の食道癌切除検体とpT1の切除症例61検体においてCCR7の免疫組織染色を行う。
- (3) 食道扁平上皮癌細胞株(TE4)にCCR7発現ベクターを導入し、CCR7強発現TE4株を作成する。さらに食道癌センチネルリンパ節転移モデル（ヌードマウス）を作成して転移能を観察する。
- (4) 食道癌切除検体におけるCXCL12とCXCR4発現を免疫組織染色にて検討する。食道扁平上皮癌細胞株においてCXCR4発現株、CXCL12発現株を製し、増殖速度を検討する。CXCR4発現株、CXCL12発現株で抗HIV治療薬であるAMD3100投与により細胞増殖が抑制されるか検討する。

4. 研究成果

- (1) ヒト食道癌細胞株におけるCCR7の発現を確認した。さらにCell mobility analyzerを用いて細胞遊走の機能的解析を行ったところCCR7を発現する細胞株は対応するケモカインCCL21の投与により濃度依存性に遊走活性を示した。（論文作成中）

- (2) 105 例の食道癌切除検体に対して CCR7 の免疫組織染色を行ったところ、CCR7 陽性例 26 例 (27%) はリンパ節転移と有意に相関し、術後 5 年生存率は有意に不良であった。また別の pT1 の切除症例 61 検体においても CCR7 陽性例 (17 例) はリンパ節転移と相関する予後不良因子であり、EMR/ESD 後の追加治療の是非を決定する上で有用なマーカーとなることが明らかとなった。(論文作成中)
- (3) 食道扁平上皮癌細胞株(TE4)に CCR7 発現ベクターを導入し、CCR7 強発現 TE4 株を作成した。CCR7 強発現 TE4 は通常の TE4 に比べてケモカイン CCL21 の添加により、リンパ管上皮との接着能が有意に亢進した。また食道癌センチネルリンパ節転移モデル(ヌードマウス)を作成して転移能を観察したところ、通常の TE4 に比べて CCR7 強発現 TE4 は有意に早期からリンパ節転移が生じることが明らかとなった。(論文作成中)
- (4) 食道扁平上皮癌細胞株と切除検体 81 例における CXCL12 と CXCR4 発現を免疫組織染色にて検討したところ、とくに細胞株、食道癌切除検体ともに CXCL12 を発現しており、食道癌切除検体における CXCL12 陽性例 64 例 (79%) は有意に予後不良であった。食道扁平上皮癌細胞株において CXCR4 発現株、CXCL12 発現株を作製し、増殖速度を検討したところ CXCL12 を投与、あるいは過剰発現させることで TE4 の増殖は促進された。
- (5) 食道扁平上皮癌細胞株において CXCR4 発現株、CXCL12 発現株で抗 HIV 治療薬である AMD3100 投与により細胞増殖が抑制さ

れた。CXCL12 と CXCR4 は食道癌において双方が発現して autocrine により悪性度を獲得している可能性が示唆された。

- (6) これまでの研究により食道扁平上皮癌におけるケモカインネットワークの腫瘍学的な意義を明らかにしつつある。今後、メカニズムの解析とともに悪性度診断、治療への応用を模索していく。

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0件)

[学会発表](計4件)

内雄介, 竹内裕也, 入野誠之, 北川雄光, 他.
食道扁平上皮癌手術症例における CXCR4、CCR7 の発現と予後に関する検討. 第 49 回日本癌治療学会学術集会, 名古屋市, 2011 年 10 月 27~29 日.

入野誠之, 竹内裕也, 北川雄光, 他.
Involvement of chemokine receptor CCR7 in lymph node metastasis and poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. 第 111 回日本外科学会定期学術集会, 紙上開催, 2011 年 5 月 25 日.

入野誠之, 竹内裕也, 西知彦, 北川雄光, 他.
食道扁平上皮癌リンパ節転移におけるケモカインレセプター CCR7 発現の意義. 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪市, 2010 年 9 月 24 日.

入野誠之, 竹内裕也, 北川雄光, 他 食道
扁平上皮癌における Chemokine Receptor
CCR 7 発現の基礎的検討とその臨床的意義
第 110 回日本外科学会学術総会, 名古屋,
2010 年 4 月 10 日.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹内 裕也 (TAKEUCHI HIROYA)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号: 20265838

(2) 研究分担者

北川 雄光 (KITAGAWA YUKO)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号: 20204878

入野 誠之 (IRINO TOMOYUKI)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号: 20445216

西 知彦 (NISHI TOMOHIKO)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号: 70445386

(3) 連携研究者

なし