

## 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 4 月 30 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21591713

研究課題名（和文） 胃癌腹膜播種性転移細胞の特性とその抗癌剤に対する感受性・耐性関連因子の検討

研究課題名（英文） Research of the characteristics of disseminated gastric cancer cells and the factors of sensitivity and tolerance to chemotherapeutic agents.

研究代表者

林 和彦 (HAYASHI KAZUHIKO)

東京女子医科大学・医学部・教授

研究者番号：10208613

研究成果の概要（和文）：

Osteopontin をノックダウンした胃癌の培養細胞株を用いて、抗癌剤曝露し薬剤感受性試験を行う計画であったが、胃癌細胞株でのノックダウンがうまくいかず、研究対象を大腸癌に上げ、大腸癌の細胞株を用いて行った。Docetaxel を使用した際には差が見られなかったが、5FU を曝露した場合にノックダウンした細胞で 5FU の効果が弱まっており、5FU 耐性を持つことがわかった。

研究成果の概要（英文）：

We planned the drug sensitivity test using gastric cancer cell line knocked down Osteopontin (OPN), however it did not work well. We next tried this work with colon cancer cell line. The colon cancer cell line which is knocked OPN down with specific siRNA has required 5FU resistance compared to control cell line. The difference was not observed when docetaxel was exposed.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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：十二指腸外科学、胃癌、腹膜播種

## 1. 研究開始当初の背景

胃癌は全世界におけるがんの死因の第二位であり、日本人においては減少傾向ではあるものの、未だがん死因の第二位を占める疾患

である。近年検診による早期発見や手術・化学療法の進歩によりその生命予後は従来に比べ改善してきてはいるが、切除不能・再発例は未だ予後不良であり、新たな治療方法が

望まれる疾患である。

胃癌再発形式の一つである腹膜播種性転移は、胃癌の転移形式として臨床上高頻度に見られる病態であり、腸閉塞や水腎症など、生命予後や QOL に与える影響は甚大である。その病勢のコントロールは困難を極め、これまで様々な化学療法や局所療法が試されてきたが、臨床上十分な効果を認めた治療法は少なく、標準治療は未だ確立していないのが現状である。

## 2. 研究の目的

このような状況を打開すべく、当科では胃癌術後腹膜播種性再発症例、若しくは腹膜播種 (CY<sub>1</sub> 若しくは P<sub>1</sub> 症例) による手術適応外症例、癌性腹膜炎の症例に対して Docetaxel (DOC) の腹腔内投与による病勢コントロールの可能性について検討してきた。これらの症例について血中・腹水中 DOC 濃度を測定し、その経時変化をみたところ、多くの腹水貯留のない CY<sub>1</sub> 症例において、腹水中 DOC は投与後 1~2 時間で C<sub>max</sub> に到達し、次第に漸減、24 時間以内にほぼ全てが吸収されていた。

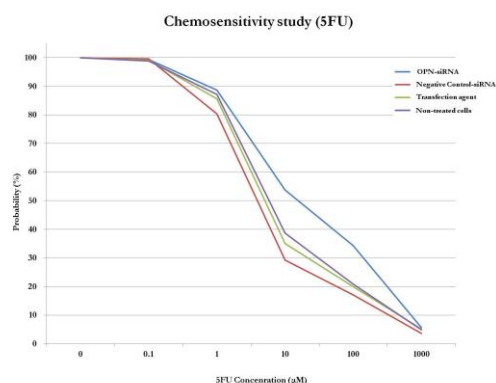
これらのデータを参考に、DOC 腹腔内投与時の患者の腹腔内と同様の環境を *in vitro* で再現させるため、胃癌培養細胞株を用いて DOC に 24 時間暴露し、十数種類の遺伝子についてその発現変化を Real-Time PCR で検討したところ、Osteopontin (OPN) の発現が非暴露群に比べ 8 倍近く上昇することを発見した (未発表データ)。これより、OPN が抗癌剤の耐性に関わる因子であると考え、この性状について詳細を検討することを目的とした。

## 3. 研究の方法

胃癌の培養細胞株を用いて、Osteopontin (OPN) を siRNA 法により特異的にノックダウンした条件下で抗癌剤暴露した。癌細胞株の抗癌剤濃度別の生存曲線を作成し薬剤感受性試験を行うことで、OPN が細胞増殖能および抗癌剤耐性に与える影響について検討した。

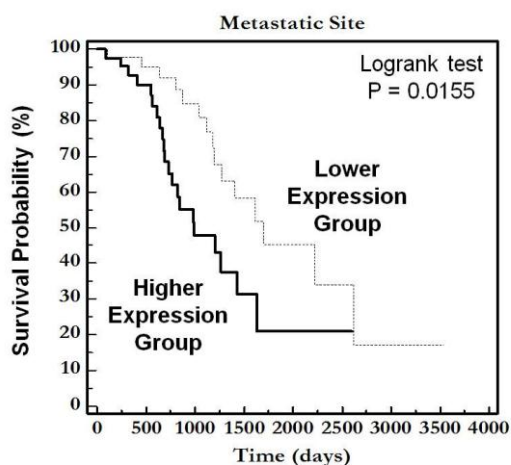
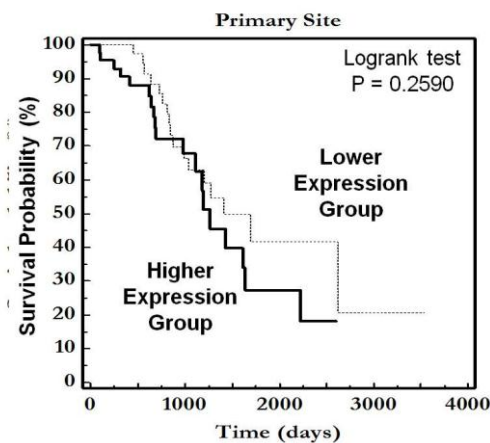
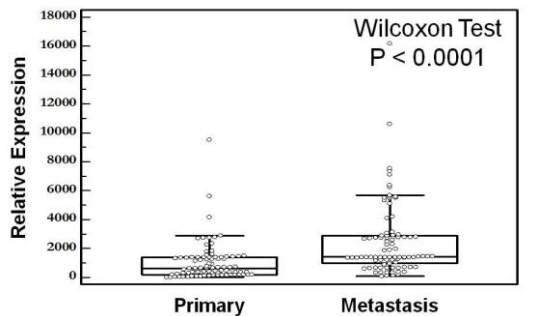
## 4. 研究成果

胃癌の培養細胞株を用いて OPN 特異的な siRNA 処理を行った細胞について、抗癌剤暴露し薬剤感受性試験の検討する計画であったが、胃癌細胞株でのノックダウンがうまくいかなかったため、研究対象を同じ消化器癌である大腸癌に広げ、大腸癌の細胞株を用いて行った。暴露抗癌剤として Docetaxel を使用した際、OPN をノックダウンした細胞株とコントロールの細胞とを比較するも細胞生存率には差が見られなかった。しかし、5FU を暴露した場合には、コントロールの細胞と比較してノックダウンした細胞で 5FU の効果が弱まっており、5FU 耐性を持つことがわかった。



今後、これらの薬剤耐性に関連する遺伝子の同定やその発現量の変化など、そのメカニズムにつき詳細を検討していく予定である。

また、これに関連した研究として、大腸癌同時性肝転移症例 88 例における OPN の発現の検討で、原発巣と転移巣で比較すると有意に ( $P < 0.0001$ ) 転移巣の OPN 発現量が高かった。また、転移巣の OPN 発現量が高い症例は低い症例と比較して有意に ( $P = 0.0155$ ) 生存期間が延長していた。これらの結果から、大腸癌における OPN 発現は転移巣形成若しくはその維持に関わっている可能性が、また、患者の予後に影響することが示唆された。



これらの症例の OPN 発現量と 5FU 系抗癌剤の効果についても、基礎データから得られた他の関連遺伝子の発現の状況等、その詳細につきさらに追加検討していく予定である。

#### 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 2 件)

- ① 林 和彦 (他 4 名, 2 番目), 各論 胆道癌の個別化医療 化学療法を中心に(癌個別化医療はどこまですすんだのか), 外科, 73 巻 10 号, 1069-1072, 2011, 査読無
- ② 林 和彦 (他 5 名, 2 番目), Epidermal growth factor receptor (EGFR) mRNA levels and protein expression levels in primary colorectal cancer and corresponding liver metastases, Cancer chemotherapy and pharmacology 65(5):825-831, 2010, 査読無

〔学会発表〕(計 5 件)

- ① 林 和彦 (他 3 名, 2 番目), 胃癌 5-FU 耐性株における LV 併用効果の基礎的検討(ミニシンポジウム 5, TR・基礎, 第 49 回日本癌治療学会学術集会) 2011. 10. 28, 名古屋
- ② 林 和彦 (他 6 名, 6 番目), Osteopontin Gene Expression Correlate with Patients Survival in Colorectal Cancer Patients with Synchronous Liver Metastasis, AACR Annual Meeting 2011, 2011. 4. 6, Orlando FL USA
- ③ 林 和彦 (他 10 名, 9 番目), 腹腔内洗浄液の癌関連遺伝子発現解析による胃癌の腹膜転移診断(口演 46, 胃 診断・その他 1 第 48 回日本癌治療学会学術集会) 2010. 10. 29, 京都
- ④ 林 和彦 (他 8 名, 7 番目), 胃癌治療における緩和手術の役割 臨床外科学会, 第 71 回日本臨床外科学会総会, 2009. 11. 20, 京都
- ⑤ 林 和彦 (他 11 名, 11 番目), S-1 併用 Docetaxel 腹腔内投与化学療法が著効し、根治手術をしえた腹膜播種を伴う 4 型胃癌の 1 例, 臨床外科学会, 第 71 回日本臨床外科学会総会, 2009. 11. 20, 京都

6. 研究組織

(1) 研究代表者

林 和彦 (HAYASHI KAZUHIKO)  
東京女子医科大学・医学部・教授  
研究者番号：10208613

(2) 研究分担者

倉持 英和 (KURAMOCHI HIDEKAZU)  
東京女子医科大学・医学部・助教  
研究者番号：30287362

上小鶴 弘孝 (KAMIKODURU HIROTAKA)  
東京女子医科大学・医学部・助教  
研究者番号：40328430