

## 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 11 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791279

研究課題名（和文）炎症と化学療法抵抗性との関連—胆道癌における解析と克服—

研究課題名（英文）Inflammation inducing resistance for anti-cancer drug

研究代表者

小林 省吾（KOBAYASHI SHOGO）

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：30452436

研究成果の概要（和文）：胆道癌は胆道閉塞と黄疸、胆管炎、肝膿瘍を伴うため、ドレナージや胆道拡張術を施行しながら治療を行うことが必要になる。このことから、本研究では胆道癌における化学療法抵抗性に関して、胆道炎症の見地から検討した。臨床的評価では胆道炎症の可能性が少ない症例に生存の延長が見込まれ、基礎的評価では炎症性サイトカインの添加により化学療法抵抗性が惹起された。以上から、炎症刺激からの回避メカニズムの一つにより化学療法抵抗性が誘導され、胆道癌の治療抵抗性につながると考えられた。

研究成果の概要（英文）：Biliary tract cancer is commonly suffered from inflammation, such as cholangitis, obstructive jaundice, and liver abscess. In this study we evaluated the relationship between this inflammation and chemoresistance. The prognosis of the patients with possibility of cholangitis was poor and the surgical treatment to reduce cholangitis would have benefit for survival. IL-6 and TGF- $\beta$  among inflammation cytokines cross-talked in cholangiocarcinoma cells, and induced chemo-resistance for multi-anti cancer drugs. Induced Gemcitabine resistant cholangiocarcinoma cells produced IL-6 and TGF- $\beta$  and inhibition of smad4 attenuate these chemo-resistance. These indicated that inflammation stimulated IL-6 and TGF- $\beta$  production as cross-talk, which is one of the mechanisms of chemo-resistance for biliary tract cancer.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学

キーワード：胆道癌、化学療法抵抗性、胆道炎症、アポトーシス

## 1. 研究開始当初の背景

胆道癌は治療中に胆道閉塞を伴い、それに起因する黄疸、胆管炎、肝膿瘍を併発するため、ドレナージや胆道拡張術を施行しながら

治療を行うことが必要になる。たとえば化学療法による治療を行う場合、このような局所炎症をコントロールしながら治療を継続する必要がある。こうした中、化学療法の成績

は悪く、胆道癌に認可された5FU (TS1 を含む) やアドリアマイシン、マイトマイシン、ゲムシタピンを中心とした化学療法が試みられているが奏効率 20%程度、中央生存期間 9-12 カ月程度と満足できる成績ではなく、未だに有効な治療法は確立されていない。

一方で、研究者の行った 2007 年度若手(スタートアップ) では、化学療法抵抗性とアポトーシスの関連性について検討を行い、炎症性サイトカインの下流シグナルの一つである STAT を介したアポトーシス抵抗性によりゲムシタピンの抵抗性が生じている可能性を示唆した。

## 2. 研究の目的

以上の理由から、胆道局所の炎症作用により Prosurvival が誘導され、抗アポトーシス作用を増強することにより、化学療法抵抗性が生じている可能性が考えられる。この現象を臨床的・基礎的に評価することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 臨床的評価

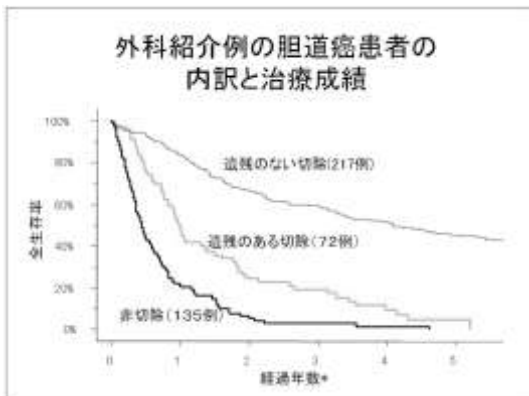
本研究の対象疾患となりうる「非切除」または「遺残のある切除」と化学療法に関する治療成績に関して検討した。

### (2) 基礎的評価

炎症性サイトカインとして胆道癌のアポトーシス抵抗性や再発・生存に寄与する IL-6 と TGF- $\beta$  に着目し、これらのサイトカインの癌細胞にもたらす影響と化学療法抵抗性を誘導する可能性を検討した。

## 4. 研究成果

(1) 本研究は細胞実験が主体であるが、背景となる「非切除」または「遺残のある切除」と化学療法に関する治療成績の報告が殆どなく、検討を追加した。外科紹介例では、「非切除」が 3 割、「遺残のない切除」が 2 割を占めており、治療成績は「遺残のある切除」の方が良かった。おそらく胆道ドレナージが効率化され、胆道炎症が少なく、予後が改善されたと考えられた(下図、胆道学会、肝胆膵外科学会で報告、J Surg Oncol に採用)。また、「遺残のない切除」でも 5 年生存率は約 5 割で、何らかの補助療法が必要と考えられた。



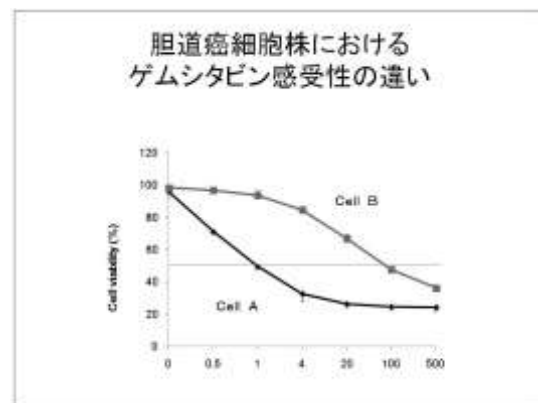
しかしながら、手術治療は大量肝切除が主体で高度侵襲を伴うため、術後補助療法は非手術例の 7 割しか投与できないことが前向き試験で分かった(下図、胆道学会、ASO-GI で報告、J Cancer Ther に採用)。以上の結果は 2 つのこと、すなわち、胆道炎症や閉塞を伴う場合治療成績が劣ること/手術前の非効率的な胆道ドレナージ中でも化学療法が必要となること、を意味すると考えられた。

**ゲムシタピンを用いた胆道癌の術後補助療法  
(前向き安全性試験)における  
手術法別治療完遂率割合**

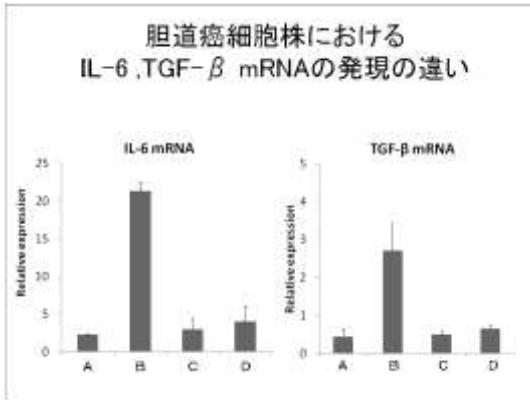
	根治+二物療法例	根治+二物療法 以外 (肝切除を含む)	p-value
n	15	12	
体質/減量なし	4	1	0.6931
体質/減量あり	7	0	
術後補助療法中止例	2	2	
術後補助療法中の再発例	1	1	
初めて 5FU 以上の治療 毒性の出現した患者例	6	2.5	0.4836
投与総量(単位 mg/m <sup>2</sup> ) (全患者量に対する割合)	14000 (79%)	13100 (72%)	0.2530

### (2)

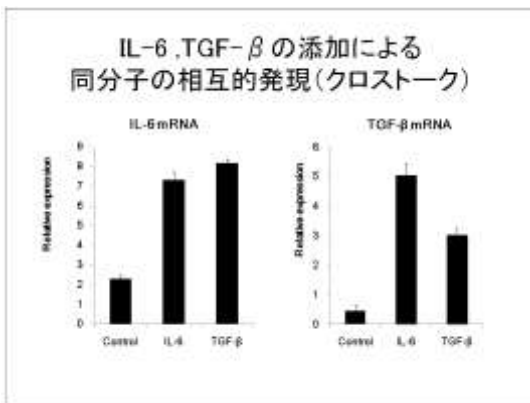
①胆道癌細胞株に関して、胆道癌での使用が本邦で認可されているゲムシタピンと 5FU に関して検討を行い、化学療法抵抗株と感受株に分類した。感受株については獲得性化学療法耐性株を作成中した。



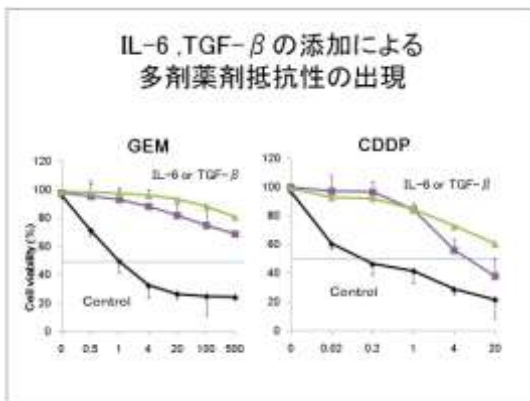
②胆道癌細胞株と切除標本を用いて、胆道癌における炎症の状況を把握するために、炎症性サイトカインのうち IL-6 と TGF- $\beta$  発現を検討した。胆道癌細胞株 4 種類すべてにおいてこれらのサイトカインは発現していた。切除標本においても両者の発現を確認し、腫瘍先進部や転移巣で高発現であった。



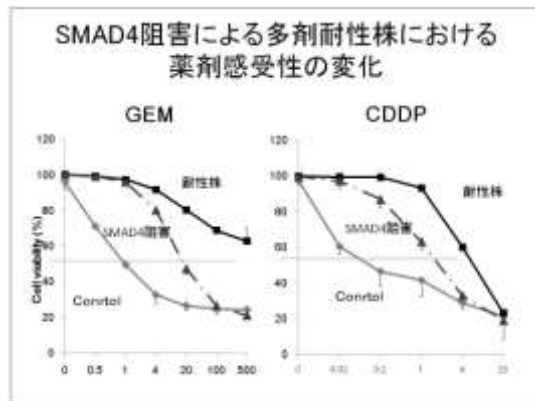
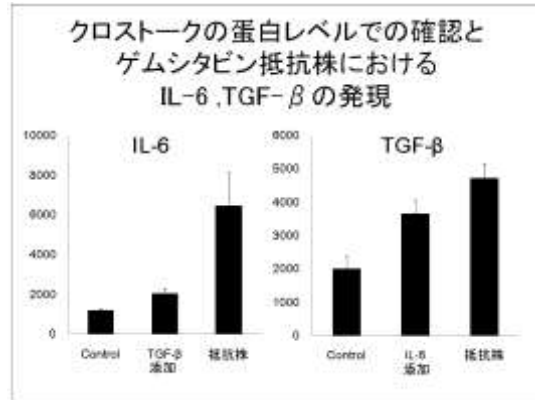
③胆道癌細胞株に受容体の発現を確認した上で、IL-6とTGF-βを投与したところ、クロストーク様に、すなわち相互的に作用し分泌を促すことが明らかになった。



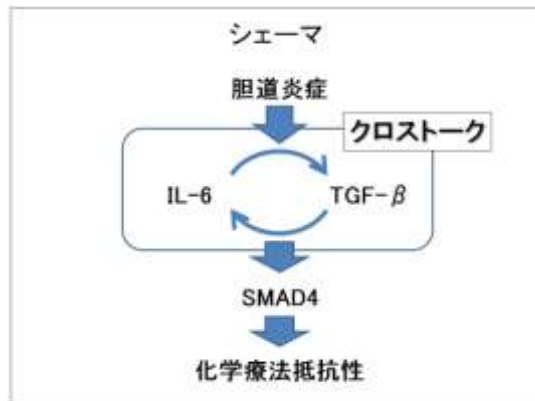
④ゲムシタピン感受胆道癌細胞にIL-6とTGF-βを投与し化学療法感受性を検討したところ、多剤に対する化学療法抵抗性が誘導されることが明らかになった。



⑤この主たる経路はSmad4に関連している可能性が示唆された。



⑥結果から想定されたシエーマを示す。以上の結果は外科学会、消化器外科学会で発表予定、英文論文として投稿中である。



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 Kobayashi S, Nagano H, Marubashi S, Wada H, Eguchi H, Takeda Y, Tanemura M, Umeshita K, Doki Y, Mori M. Treatment of borderline cases for curative resection of

biliary tract cancer. J Surg Oncol. 査読有  
104 巻、(2011)、499-503.

② Shogo Kobayashi, Atsushi Miyamoto,  
Junzo Shimizu, Masaki Kashiwazaki,  
Yutaka Takeda, Shigeyuki Ueshima,  
Yongkook Kim, Toru Kitagawa, Keizo Dono,  
Masaki Mori, Yuichiro Doki, Hiroaki  
Nagano Comparison of 4-weekly vs.  
3-weekly gemcitabine as adjuvant  
chemotherapy following curative resection  
for biliary tract cancer: A prospective  
randomized controlled trial. Journal of  
Cancer Therapy 査読有、2 巻、(2011)、  
703-709.

[学会発表] (計 6 件)

① 小林省吾、永野浩昭、和田浩志、川本弘一、  
丸橋 繁、江口英利、種村匡弘、梅下浩司、  
土岐祐一郎、森 正樹 進行胆道癌の長期生  
存例の臨床病理学的特徴とその術前予測  
日本外科学会 2012/4/14 千葉

② 山田大作、小林省吾、和田浩志、川本弘一、  
丸橋繁、江口英利、梅下浩司\*、永野浩昭、  
土岐祐一郎、森正樹 胆道癌における IL-6/  
TGF-  
クロストークと化学療法耐性への影響 日  
本外科学会 2012/4/13 千葉

③ Shin Nakahira, Shogo Kobayashi,  
Atsushi Miyamoto, Junzo Shimizu, Masaki  
Kashiwazaki, Shigeyuki Ueshima,  
Yongkook Kim, Toru Kitagawa, Keizo  
Dono,  
Masaki Mori, Yuichiro Doki and Hiroaki  
Nagano A prospective randomized  
controlled trial comparing 4-weekly versus  
3-weekly adjuvant chemotherapy  
with gemcitabine after curative resection  
of biliary tract cancer ASCO-GI, USA,  
Friday, January 20, 2012

④ 小林省吾、丸橋繁、和田浩志、江口英利、  
種村匡弘、梅下浩司\*、土岐祐一郎、森正樹、  
永野浩昭 ゲムシタピン時代における非治  
療切除の意義 日本胆道学会 2011/9/16  
宮崎

⑤ 清水潤三、小林省吾、堂野恵三、鳥正幸、  
金よう国、中平伸、武田裕、柏崎正樹、宮本  
敦史、永野浩昭、土岐祐一郎、森正樹 胆道  
癌治療切除例に対するゲムシタピン術後補  
助化学療法の投与方法別無作為化比較試験結  
果 日本胆道学会 2011/9/16 宮崎

⑥ 小林省吾、永野浩昭、和田浩志、丸橋繁、  
江口英利、武田裕、種村匡弘、梅下浩司、土  
岐祐一郎、森正樹 いわゆる  
'Borderline-Curative Resection' 症例に対  
する胆道癌の治療法の検討日本肝胆膵外科  
学会 2010/5/27 仙台

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小林 省吾 (KOBAYASHI SHOGO)  
大阪大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：30452436

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：