

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：82606

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791341

研究課題名(和文)がん幹細胞における放射線感受性の分子生物学的探究

研究課題名(英文)Cancer stem cell and radiosensitivity.

研究代表者

茂木 厚(Motegi, Atsushi)

独立行政法人国立がん研究センター・東病院・医員

研究者番号：10433997

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：がん幹細胞が放射線感受性に及ぼす影響を明らかとするため、頭頸部癌を対象に研究を行った。がんセンター東病院で根治的放射線治療を施行された中咽頭癌症例の生検標本を用いて、免疫組織学的にがん幹細胞マーカーとHPV感染を反映するp16蛋白の発現と、治療効果の相関について検討した。局所領域制御率は、がん幹細胞マーカー発現が治療成績に有意に相関していた。また、p16との組み合わせで予後不良群を検出可能であった。その結果を踏まえ、現在ヒト食道癌細胞株を用いた照射実験で、がん幹細胞マーカーの発現(蛍光抗体法やwestern blotting法)と放射線照射後の生残率の相関に関する追加で検討を進めている。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the correlation between cancer-stem-cell marker expression and tumor radiosensitivity, immunohistochemical analysis in head and neck cancer was performed. Expression of cancer-stem-cell marker CD44 and p16, the surrogate marker of HPV infection, in oropharyngeal cancer were investigated retrospectively. The impact of protein expressions on treatment outcomes were also investigated. The loco-regional control rates of the patient with CD44 expression was significantly worse than those without CD44 expression. And moreover, the combined analysis of CD44 and p16 showed that patients with CD44 negative and p16 positive expression had the best treatment outcomes, and those with CD44 positive and p16 negative expression had the worst treatment outcomes. This result might indicate that cause of tumorigenesis can affect cancer-stem-cell marker expression in oropharyngeal cancer.

研究分野：放射線腫瘍学

キーワード：放射線感受性 中咽頭癌 がん幹細胞マーカー CD44 p16 HPV

1. 研究開始当初の背景

近年、癌治療における放射線治療は発展を続けている。従来は根治が困難であった癌種においても、強度変調放射線治療などの照射技術や抗癌剤の進歩により、良好な治療成績が得られつつある。しかし、膠芽腫など、最新の放射線治療技術や、化学療法を用いても、治療抵抗性で制御困難な癌腫も多数存在している。また、肺癌、頭頸部癌の一部や食道癌など、放射線感受性が比較的高く、早期であれば比較的高い確率で根治を期待できる癌腫も、進行し腫瘍体積が増大すると、制御率が低下することが知られている。これは、腫瘍細胞の絶対数が多く殺傷しなければならない細胞数が多いことに加え、腫瘍増大に伴う腫瘍細胞の高悪性度能の獲得により、治療への抵抗性が増すこともその一因と考えられる。腫瘍制御には、基本的に腫瘍細胞の完全な消滅が必要とされるが、治療終了時に腫瘍の残存を認めたり、一時的に腫瘍消失が得られても、治療後早期、あるいは遅発性の転移再発を生じる事があり、後者の場合は、臨床的に検出できないレベルで腫瘍細胞が残存していると推察される。強力な治療に関わらず、最終的に残存する腫瘍細胞は、一定の治療抵抗性を有すると見なすこともでき、これらは例えば突然変異や細胞増殖因子受容体の過剰発現などにより、治療ストレスに適応して生存を図っていると考えられてきた。腫瘍の治療抵抗性やその獲得のメカニズムを解明することは、癌治療において重要な課題となっている。放射線治療の分野において、がん幹細胞の概念を導入すると、腫瘍制御には全てのがん幹細胞を放射線照射で殺傷する必要がある、ということになる。これまで、放射線治療の成功の可否は、宿主の全身状態や腫瘍体積のみならず、腫瘍細胞の放射線感受性にも依存する、とされてきた。がん幹細胞の制御が腫瘍制御に不可欠であるとすれば、放射線治療における腫瘍の治療抵抗性とは、がん幹細胞の放射線治療抵抗性ということになる。がん幹細胞が放射線感受性に及ぼす影響について検討することで、最終的にはがんの治療成績の向上につながる研究が可能になると考えられた。

2. 研究の目的

がん幹細胞の放射線感受性や、生物学的な放射線応答を明らかにする事を目的に研究を行う。また、すでに数多くの癌腫において、臨床検体中にごん幹細胞マーカーが発現することが知られている。がん幹細胞マーカーの発現した細胞が、必ずしも全てがん幹細胞ということにはならないが、がん幹細胞マーカー発現の検討は一部の癌腫を対象に検討が進められている。そのことを踏まえ、がん幹細胞マーカーの発現が、放射線感受性に与える影響についても検討す

る。

3. 研究の方法

種々の細胞株を用いて、がん幹細胞、非幹細胞の分離を試み、それぞれの放射線感受性を比較検討する。また、がん幹細胞における照射後の DNA 損傷とその回復を経時的に観察する。これによりがん幹細胞と非幹細胞の相違とその機序を明らかにする。併せて照射による細胞周期進行、アポトーシスなどの細胞死の形態や頻度に両者に相違があるかどうかを検討する。照射で誘導される細胞死や細胞周期進行に関わる分子や活性化を解析し、放射線感受性に相違に重要な役割を果たしている分子をピックアップする。まずは、実際に放射線治療を施行された症例の臨床検体を用いて、がん幹細胞マーカーの発現が、放射線感受性に与える影響について検討した。

4. 研究成果

まず、がん幹細胞が放射線感受性に及ぼす影響を明らかとするため、頭頸部癌を対象に研究を行った。がんセンター東病院で根治的放射線治療を施行された中咽頭癌患者 61 例の生検標本を用いて、免疫組織学的にごん幹細胞マーカー発現と、治療効果の相関について検討した。結果、56%の細胞に HPV 感染の surrogate marker である p16 の発現が認められ、75%にごん幹細胞マーカーである CD44 蛋白の発現が認められた。p16 陰性症例は全例 CD44 蛋白陽性であり、発がん要因ががん幹細胞マーカー発現に影響していることが示唆された。がん幹細胞マーカーの発現パターンの解析を行ったところ、がん細胞集団はいずれもびまん性にマーカーの陽性所見を示しており、マーカーの免疫組織学的発現が必ずしもがん幹細胞を示唆する訳ではないことも明らかとなった。また、治療成績との相関では、CD44 発現陰性例の 3 年局所領域制御率は 93%であったのに対し、陽性例は 71%で、がん幹細胞マーカー発現が治療成績に有意に相関していた。また、p16 と CD44 の発現を組み合わせた結果、p16 陽性で CD44 陰性症例の局所領域制御率が最も良好で、p16 陰性で CD44 陽性症例の成績が最も不良であり、さらに、両者が陽性のグループの治療成績はそれらの中間であった。HPV 感染を伴う中咽頭癌にはがん幹細胞マーカー発現が少なく、治療成績が良好であることが示唆された。従来、HPV 感染を伴う中咽頭癌は、予後良好とされてきたが、喫煙歴があったり、進行した病期の症例では、予後が不良となることが明らかとなってきた。放射線治療の効果が乏しいことが予想される症例に対しては、手術を提示するなど、患者選択を行う上でも、がん幹細胞マーカーの検討は、実臨床の上できわめて有用であると予想された。

これらの結果を踏まえ、現在ヒト食道癌細胞株を用いた照射実験において、がん幹細胞の分離や、がん幹細胞マーカーの発現(蛍光抗体法や western blotting 法)と放射線治療後の生残率の相関に関して検討を進めている。

がん幹細胞マーカーの発現と放射線治療後の中咽頭癌の治療後の成績に関しては、論分投稿準備を進めている。また、種々の学会において成果を発表し、有意義な議論をすることが出来た。

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 3件)

1. Accelerated radiotherapy for T1 to T2 glottic cancer. Motegi A, Kawashima M, Arahira S, Zenda S, Toshima M, Onozawa M, Hayashi R, Akimoto T. Head Neck 2015 (37) 579-584 査読あり

2. Locoregional Control After Intensity-modulated Radiotherapy for Nasopharyngeal Carcinoma with an Anatomy-based Target Definition. Mitsuhiko Kawashima, Takaki Arijii, Satoru Kameoka, Takashi Ueda, Ryosuke Kohno, Teiji Nishio, Satoko Arahira, Atsushi Motegi, Sadamoto Zenda, Tetsuo Akimoto, Makoto Tahara, and Ryuichi Hayashi. Japanese Journal of Clinical Oncology. 2013 43(12)1218-1225 査読あり

3. DeCoP, a Dermatitis Control Program using a moderately absorbent surgical pad for head and neck cancer patients receiving radiotherapy: a retrospective analysis. Sadamoto Zenda, Shinobu Ishi, Tetsuo Akimoto, Satoko Arahira, Atsushi Motegi, Makoto Tahara, Ryuichi Hayashi, and Chie Asanuma. Japanese Journal of Clinical Oncology. Published online 2015. 査読あり

[学会発表](計 6件)

1. 頭頸部扁平上皮癌におけるがん幹細胞マーカー発現と HPV 感染の相関の研究. 茂木厚、藤井誠志、荒平聡子、全田貞幹、林隆一、田原信、秋元哲夫. 日本放射線腫瘍学会第 27 回学術大会、平成 26 年 12 月、横浜.

2. 頭頸部扁平上皮癌におけるがん幹細胞マーカー発現と HPV 感染の相関の研究. 茂木厚、藤井誠志、荒平聡子、全田貞幹、林隆一、田原信、秋元哲夫. 第 38 回日本頭頸部癌学会、平成 26 年 6 月、東京.

3. Impact of the expression of tumor stem

cell marker CD44 and p16 expression on radiotherapeutic outcomes of oropharyngeal squamous cell carcinoma Atsushi Motegi, Satoshi Fujii, Makoto Tahara, Ryuichi Hayashi and Tetsuo Akimoto. 15th International Congress of Radiation Reserch, May 2015, Kyoto.

4. Acute toxicities and DVH parameters for OARs of proton beam therapy for stage III non-small cell lung cancer. Atsushi Motegi., Satoko Arahira., Masamichi Toshima., Masakatsu Onozawa., Sadamoto Zenda, Yuichiro Ohe., Tetsuo Akimoto. ASTRO 's 56th annual meeting. Semptember 2014, San Francisco, USA.

5. 期非小細胞肺癌に対する陽子線治療の初期経験. 茂木厚、荒平聡子、戸嶋雅道、全田貞幹、小野澤正勝、大江裕一郎、秋元哲夫 日本放射線腫瘍学会第 26 回学術大会、平成 25 年 10 月、青森.

6. 早期声門癌に対する加速分割照射の治療成績及び晩期有害事象の検討. 茂木厚、河島光彦、荒平聡子、全田貞幹、戸嶋雅道、富岡利文、篠崎剛、宮崎眞和、林隆一、秋元哲夫 日本放射線腫瘍学会第 25 回学術集会、平成 24 年 11 月、東京.

[図書](計 0件)

[産業財産権]

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織
(1)研究代表者

茂木 厚 (Motegi, Atsushi)

国立がん研究センター東病院放射線治療
科・医員
研究者番号：10433997

(2)研究分担者
()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

研究者番号：