

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 9 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293344

研究課題名(和文) 上皮性卵巣癌における癌幹細胞とニッチを標的とした新規治療戦略

研究課題名(英文) Novel therapeutic strategy targeting ovarian cancer stem cells and their niche

研究代表者

片渕 秀隆 (Katabuchi, Hidetaka)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・教授

研究者番号：90224451

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では卵巣癌の遠隔転移におけるCD44v6の役割を明らかにすることを目的とした。遠隔転移とCD44v6との関連性について検討するために、免疫組織化学染色法による臨床病理学的検討を行った。その結果、卵巣癌原発巣におけるCD44v6の発現は、診断時における遠隔転移の有無に関して有意な相関がみられた。次に、無遠隔転移生存期間についてKaplan-Meier法を用いて解析した結果、CD44v6高発現群は低発現群と比較して有意に遠隔転移再発期間の短縮が認められた。以上の結果より、CD44v6陽性の卵巣癌幹細胞は遠隔転移に密接に関わることが示された。

研究成果の概要(英文)：To investigate the role of cancer stem cell marker CD44 variant 6 (CD44v6) in the development of distant metastasis in patients with epithelial ovarian cancer. The association between the expression of CD44v6 and distant metastasis was evaluated based on immunohistochemical analysis. Distant metastasis-free survival was compared between the CD44v6-high and -low groups. At the time of ovarian cancer diagnosis, distant metastasis occurred in 13 of 53 patients in the CD44v6-high group and 17 of 133 patients in the CD44v6-low group. The median metastasis-free survival after stage I-III ovarian cancer diagnosis was 19.5 months in the CD44v6-high group and 39.5 months in the CD44v6-low group. Multivariate analysis demonstrated that CD44v6 expression was an independent risk factor for distant metastatic recurrence. In conclusion, CD44v6 represents an important predictor of distant metastasis.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：卵巣癌 癌幹細胞 CD44

1. 研究開始当初の背景

本邦において、卵巣癌は近年著しい増加を示しており、その死亡数は1950年から2000年の半世紀の間に11.5倍に増加している。卵巣癌の早期診断は困難であり、3分の2の症例が腹膜播種などの進行した状態で診断される。この進行卵巣癌の治療は、手術療法に加え抗癌化学療法による集学的治療が主体となるが、その多くの症例で抗癌剤耐性癌細胞の出現を免れず、長期生存率は依然として不良である。近年、悪性腫瘍の治療抵抗性や再発・転移において、一群の細胞集団である“癌幹細胞”の関与が指摘されている。すなわち、集学的治療において、癌幹細胞がニッチという微小環境の中で自己の細胞周期を静止期に保ち休眠状態のまま維持される。分裂・増殖が活発な癌前駆細胞や分化した癌細胞を標的とした従来の抗癌化学療法では、いわゆる“芝刈り療法”となり、階層性の頂点に位置する癌幹細胞の根絶には不十分であると推察されている。しかし、これらを検証し新たな分子標的を探索するための有効な実験ツールが存在しない現状にあり、このことが卵巣癌新規治療薬の開発の妨げとなっている。われわれは過去四半世紀にわたる卵巣癌研究の中で、卵巣癌の母細胞とされているヒト卵巣表層上皮 ovarian surface epithelium (OSE) 細胞を用いて染色体安定性の不死化細胞株 (HOSE) (特許第 4613263 号) を樹立した。不死化 OSE 細胞に癌関連遺伝子を導入し (HOSEC)、マウスに移植することで、ヒト卵巣癌に類似した腹腔内播種モデルも作成した。また、この卵巣癌実験モデルシステムを用いることで、卵巣癌患者において、腹水中に存在する M2 マクロファージが、卵巣癌細胞の増殖に寄与することも明らかにした。さらに、われわれはマウス卵巣における組織幹細胞を含む細胞集団を、網羅的探索により見出した候補マーカーを用いて抽出し、これらの細胞に遺伝子操作による癌化誘導を行うことで、癌幹細胞を頂点とした階層性を有する実験モデルを樹立することに世界で初めて成功した。これまでの研究成果を基盤に、ヒト細胞を用いた新たな癌幹細胞型卵巣癌実験モデルの開発を行い、癌幹細胞とニッチとして微小環境を構成する細胞との相互作用を解明し、さらには、臨床検体を用いて、実験モデルで得られたデータを検証し、有効な治療標的となる分子を探索する。これらのシステム化された卵巣癌の研究は、これまでに存在せず、混沌の中にある既存の卵巣癌治療から脱却し、新規治療ストラテジーの構築へと繋がるものと考えられる。

2. 研究の目的

卵巣癌は早期診断が困難であり、骨盤腔を越え腹膜播種を来した進行状態で診断されることが多い。さらに、初回治療が奏効し寛解が得られた場合でも、多くの症例では抗癌剤治療に対して耐性が出現し再発を繰り返

すことになる。近年、悪性腫瘍の治療抵抗性や再発において、癌幹細胞とニッチとして知られる周辺細胞との相互作用の重要性が指摘されている。白金製剤とタキサン系製剤の導入以後に改善した予後のその後の向上がみられない卵巣癌の治療の現状を鑑みると、分子病理学的根拠に基づいた新規治療の開発が次なる戦力である。われわれは、これまでに卵巣癌実験モデルシステムを構築していることから、われわれが得ることのできる臨床検体とこのシステムの両者を用いて、新たに癌幹細胞を取り巻くネットワークを標的とし、且つ、臨床に即した、これまでにない卵巣癌の新規治療戦略の確立を目指す。

3. 研究の方法

卵巣癌は早期診断が困難であり、腹膜播種や遠隔転移を来した進行癌で診断される症例が多い。近年、悪性腫瘍の転移や再発において癌幹細胞の関与が指摘され、その知見が急速に集積されている。癌幹細胞マーカーとして知られる CD44 は I 型膜タンパクで、ヒアルロン酸をはじめとする細胞外マトリックスに対する接着分子である。CD44 には様々な variant isoform (CD44v) の存在が知られており、その中で CD44v6 は卵巣癌における転移、浸潤との関連性が示唆されている。卵巣癌の遠隔転移における CD44v6 の役割を明らかにすることを目的として解析を行った。卵巣癌に対して手術療法を施行した患者 186 名を対象とした。遠隔転移と CD44v6 との関連性について検討するために、免疫組織化学染色法を用いて臨床病理学的検討を行った。さらに、CD44v6 高発現群および低発現群の両群間における無遠隔転移再発期間について比較検討した。加えて、遠隔転移に関わる様々な臨床病理学的因子について多変量解析を行った。

4. 研究成果

卵巣癌において、CD44v6 高発現の症例群は、診断時に遠隔転移を伴っている症例の頻度が有意に高いことが示された。また、遠隔転移病巣では原発巣と比較して CD44v6 陽性細胞が有意に高い割合で存在していることが見出された。次に、診断時に遠隔転移が認められなかった臨床進行期 I-III 期の卵巣癌症例 156 例を対象として、無遠隔転移再発期間について Kaplan-Meier 法を用いて解析した結果、CD44v6 高発現群は低発現群と比較して有意に遠隔転移再発期間の短縮が認められた。さらに、多変量 Cox 比例ハザードモデルによる解析の結果、CD44v6 の発現は遠隔転移再発の独立した危険因子であることが証明された。つまり、CD44v6 は卵巣癌の遠隔転移に関与しており、遠隔転移を予測するバイオマーカーとして有用であることが示された。遠隔転移を伴う卵巣癌の克服のためには、卵巣癌幹細胞として機能する CD44v6 陽性細胞を標的とした治療が新たな治療戦略として

有望と考えられる。今回の解析で卵巣癌幹細胞の生物学的特性が明らかにされたので、今後は癌幹細胞ニッチに関する研究をすすめる予定である。

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 10 件)

1. Hepatobiliary and Pancreatic: Rapid growing cystic ovarian metastasis from pancreatic cancer. Nomoto D, Hashimoto D, Motohara T, Chikamoto A, Nitta H, Beppu T, Katabuchi H, Baba H. J Gastroenterol Hepatol. 2016,31:707

2. CD44 variant 6 is correlated with peritoneal dissemination and poor prognosis in patients with advanced epithelial ovarian cancer. Tjhay F, Motohara T, Tayama S, Narantuya D, Fujimoto K, Guo J, Sakaguchi I, Honda R, Tashiro H, Katabuchi H. Cancer Sci. 2015,106:1421-8

3. Clinicopathological heterogeneity in ovarian clear cell adenocarcinoma: a study on individual therapy practice. Matsuo Y, Tashiro H, Yanai H, Moriya T, Katabuchi H. Med Mol Morphol. 2015,48:146-54

4. Development of a mouse model for testing therapeutic agents: the anticancer effect of dienogest on endometrial neoplasms. Saito F, Tashiro H, Yamaguchi M, Honda R, Ohba T, Suzuki A, Katabuchi H. Gynecol Endocrinol. 2016, 32:403-7

5. Prognostic significance of CD169-positive lymph node sinus macrophages in patients with endometrial carcinoma. Ohnishi K, Yamaguchi M, Erdenebaatar C, Saito F, Tashiro H, Katabuchi H, Takeya M, Komohara Y. Cancer Sci. 2016 [Epub ahead of print]

6. Successful outcome following detection and removal of a very small ovarian teratoma associated with anti-NMDA receptor encephalitis during pregnancy. Mizutamari E, Matsuo Y, Namimoto T, Ohba T, Yamashita Y, Katabuchi H. Clin Case Rep. 2016, 4:223-5

7. An Ovarian Carcinoid Tumor With Peptide YY-Positive Insular Component: A Case Report and Review of the Literature. Erdenebaatar C, Yamaguchi M, Saito F, Motooka C, Tashiro H, Katabuchi H. Int J

Gynecol Pathol. 2015 [Epub ahead of print]

8. Long-Term Outcome of Aromatase Inhibitor Therapy With Letrozole in Patients With Advanced Low-Grade Endometrial Stromal Sarcoma. Yamaguchi M, Erdenebaatar C, Saito F, Motohara T, Miyahara Y, Tashiro H, Katabuchi H. Int J Gynecol Cancer. 2015, 25:1645-51

9. Choriocarcinoma coexisting with epithelioid trophoblastic tumor of the uterine horn. Imamura Y, Tashiro H, Saito F, Takaishi K, Ohba T, Fukunaga M, Katabuchi H. Gynecol Oncol Rep. 2015, 14:31-3

10. High-dose oral tegafur-uracil maintenance therapy in patients with uterine cervical cancer. Sakaguchi I, Motohara T, Saito F, Takaishi K, Fukumatsu Y, Tohya T, Shibata S, Mimori H, Tashiro H, Katabuchi H. J Gynecol Oncol. 2015, 26:193-200

[学会発表](計 4 件)

1. 2015 International Conference on Women's Reproduction and Health (February 7-8, 2015, Taipei, Taiwan) The origin and novel therapeutic discovery of epithelial ovarian cancer, Small group discussion for collaboration. Katabuchi H.

2. IFFS/JSRM International Meeting 2015 (April 27-29, 2015, Yokohama, Japan) Early diagnosis of PCOS and treatment of irregular menstruation or amenorrhea could prevent endometrial cancer in youngwomen under 35 years of age. Okamura Y, Honda R, Honda T, Itoh F, Ohba T, Katabuchi H.

3. The 1st congress of the "Society of Endometriosis and Uterine Disorders" (May 7-9, 2015, Paris, France) Reproductive outcome and deliveries following cytoreductive surgery for patients with adenomyosis. Honda R, Katabuchi H.

4. The 6th Asan-Kumamoto Symposium (May 22-23, 2015, Kumamoto, Japan) Onionin A, a natural compound, inactivates STAT3 pathway in epithelial ovarian cancer cells and M2 macrophages in the cancer microenvironment. Tsuboki J, Takaishi K, Itoh F, Honda R, Tashiro H, Katabuchi H.

〔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：
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

片淵 秀隆 (KATABUCHI HIDETAKA)
熊本大学・大学院生命科学研究部・教授
研究者番号：90224451

(2) 研究分担者

田代 浩徳 (TASHIRO HIRONORI)
熊本大学・医学部附属病院・特任准教授
研究者番号：70304996

本原 剛志 (MOTOHARA TAKESHI)
熊本大学・大学院生命科学研究部・助教
研究者番号：10457591

高石 清美 (TAKAISHI KIYOMI)
熊本大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：00601303

坂口 勲 (SAKAGUCHI ISAO)
熊本大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：40448527