

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462060

研究課題名(和文)大腸癌の幹細胞に着目した新規治療の開発と薬物耐性の分子機序の検討

研究課題名(英文)The study for molecular mechanism of drug resistance and development of new treatment which aimed at colorectal cancer stem cell.

研究代表者

木村 和恵 (KIMURA, Yasue)

九州大学・医学(系)研究科(研究院)・共同研究員

研究者番号：70631927

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：大腸癌組織を用い、大腸癌幹細胞マーカー陽性細胞の同定を行い、LgR5とEGFRの発現をIHC法で同定することが可能となった。深達度が深いほうがEGFR発現の強度が増加しており、進行度の違いにより幹細胞の発現強度も異なることが示された。また、抗癌剤治療効果が認められる症例にはEGFRが強発現しており、治療効果が得られにくい症例ではEGFRの発現は低下していた。また、治療後の残存癌細胞にLgR5が発現していた。LgR5は大腸癌における幹細胞として重要であり、EGFRに關与する分子標的薬は大腸癌に対する抗癌剤治療の効果を増強し、治療への応用が期待できると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We recognized LgR5 and EGFR in colon cancer tissue by immunohistochemistry. The expression of EGFR was strong in advanced colon cancer. The expression of EGFR was more strongly in the case with high therapeutic effect by chemotherapy than the case with low therapeutic effect.

研究分野：消化管

キーワード：大腸癌 幹細胞

1. 研究開始当初の背景

(背景)

(1) 我が国における大腸癌罹患率は増加しているが、新規抗癌剤であるオキサリプラチンやカンプトテシン、抗 VEGF 抗体である Bevacizumab や抗 EGFR 抗体である Cetuximab や Panitumumab などの分子標的薬の併用により MST が 2 年以上延長してきた。また、肝転移や肺転移に対する外科治療によりさらなる治療成績の向上が認められている。新規抗癌剤の導入や分子標的薬の併用により治療成績は向上してきた。しかし抗癌剤耐性を呈し、手術後、再発転移を繰り返す大腸癌もまだ多い。また、早期に再発をきたす症例もあれば 5 年以上経過し再発する症例もある。さらに異時性肝転移症例においては、抗癌剤治療に耐性を示すため、外科治療にて切除をおこなうが、再発を繰り返す症例もある。そこにはがん幹細胞が関与しており、再発の原因になっていると考えられる。

(2) がん細胞は部位に依存しない無制限増殖能、浸潤能、転移能をもつ細胞であるが、臨床で遭遇するがんを形成するすべてのがん細胞すべてがこれらの性質を持っているとは限らず、がん細胞の一部が自己複製能や多分化能という幹細胞と同様の性質を持ち、がん組織中で自己複製を繰り返しつつ、分化してがん細胞集団となっていると考えられている。この考えは「がん幹細胞仮説」とも呼ばれる。このがん幹細胞は化学療法や放射線などの治療へ抵抗性を示すために残存しやすく、再発・転移の原因となる可能性がある。したがって、がん幹細胞を標的とした治療法を確立することで再発、転

移のリスクが少ない新しいがん治療が構築できるものと期待されている。

(3) 分子標的薬剤の標的となり得る VEGFR, EGFR, PDGFR, IGF-1R などのチロシンキナーゼレセプターからのシグナルを抑制することが癌の治療に重要であることが示唆されてきた。

2. 研究の目的

癌幹細胞を標的とした EGFR リガンド阻害剤による新しい分子標的治療の確立をめざし、幹細胞の抽出を臨床検体より行い、その EGFR リガンドの違いを原発巣や転移巣、また播種巣との比較で明らかにする。

大腸癌における幹細胞治療のための新しい分子標的を探索する。

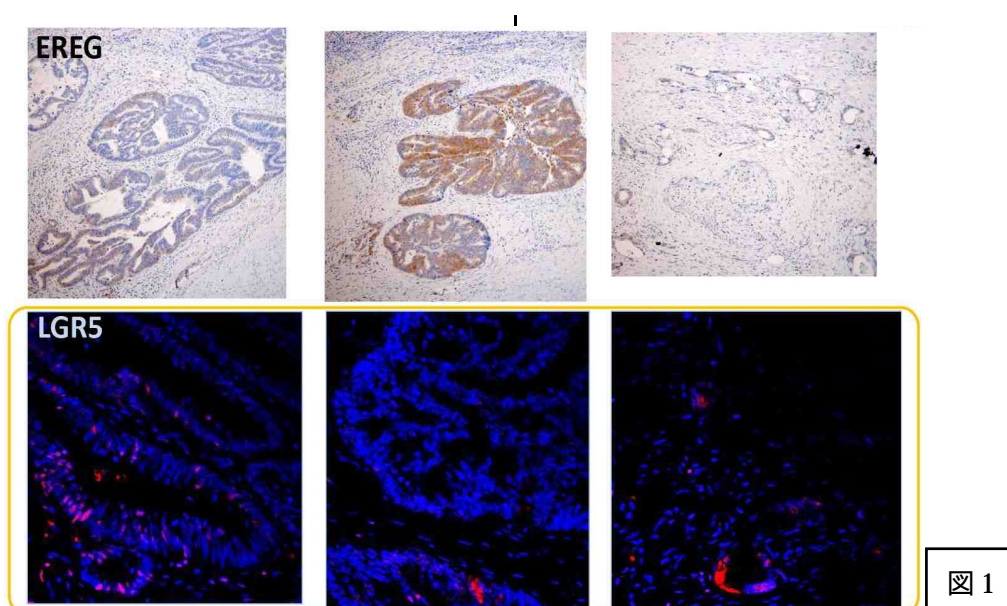
EGFR リガンドの抑制剤を用いた新しい分子標的治療の開発を行なう。

薬剤耐性を制御する microRNA の働きを検討を行う

3. 研究の方法

幹細胞の性質を持った大腸癌細胞を同定し、Laser capture microdissection によって細胞単位で採取し、その他の部位と EGFR リガンドの発現の違いや細胞分裂に関わるチェックポイントキナーゼなどの蛋白群の遺伝子発現の変化を検討する。さらに、細胞内シグナルの状態を確認するとともに、それを利用した治療法の開発を行う。

4. 研究成果



大腸癌細胞株において、LgR5 と EREG の染色を行い、同定することが可能となった。さらに当科で手術を施行された大腸癌症例を用い、大腸癌幹細胞マーカー陽性細胞の同定を行った。大腸癌組織検体を免疫組織化学染色法にて LgR5、EREG の発現を確認し、幹細胞の性質を持った大腸癌細胞を同定した（図 1）。

LgR5 と EREG の発現を IHC 法で同定することができた。深達度が深いほうが EREG 発現の強度が増加しており、進行度の違いにより幹細胞の発現強度も異なることが示された（図 2）。また、抗癌剤治療効果が認められる症例には EREG が強発現しており（図 3）、治療効果が得られにくい症例では EREG の発現は低下していた。また、治療後の残存癌細胞に LgR5 が発現していた。

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 4 件）

- 1 . Zaitu Y, Oki E, Ando K, Ida S, Kimura Y, Saeki H, Morita M, Hirahashi M, Oda Y, Maehara Y. Loss of Heterozygosity

of PTEN (Encoding Phosphate and Tensin Homolog) Associated with Elevated HER2 Expression Is an Adverse Prognostic Indicator in Gastric Cancer.

Oncology.2015;88(3):189-94.

doi: 10.1159/000368984. Epub 2014 Nov 27.

2. Bekki Y, Kimura Y, Morita M, Zaitu Y, Saeki H, Okamoto T, Oki E, Baba S, Oda Y, Maehara Y. Esophageal cancer associated with bilateral hilar lymphadenopathy caused by sarcoid-like reactions: a report of two cases. Esophagus. July, 12 :3, 322-326,2015
3. Ikeda T, Kumashiro R, Taketani K, Ando K, Kimura Y, Saeki H, Oki E, Morita M, Akahoshi T, Hashizume M, Maehara Y. Endoscopic evaluation of clinical colorectal anastomotic leakage. J Surg Res. Jan;193(1):126-34. 2015
4. Kimura Y, Oki E, Ando K, Saeki H, Kusumoto T, Maehara Y. Incidence of Venous Thromboembolism Following Laparoscopic Surgery for Gastrointestinal Cancer: A Single-Center, Prospective Cohort Study. World J Surg. 2016

Feb;40(2):309-14.

doi: 10.1007/s00268-015-3234-y.

5. Oki E, Ando K, Saeki H, Nakashima Y, Kimura Y, Hiyoshi Y, Imamura Y, Ohgaki K, Ito S, Morita M, Ikeda T, Maehara Y.
The use of a circular side stapling technique in laparoscopic low anterior resection for rectal cancer: experience of 30 serial cases. Int Surg. 2015 Jun;100(6):979-83. doi: 10.9738/INTSURG-D-14-00202.1. Epub 2015 Jan 15.

〔学会発表〕(計 3件)

1. 第115回日本外科学会学術集会
名古屋 2015.4.16-18

演題：当科における局所進行結腸癌に対する
腹腔鏡下手術の適応と治療成績

木村和恵、楠元英次、杉山雅彦、太田光彦、
堤敬文、坂口善久、楠本哲也、池尻公二

2. 第69回日本食道学会学術集会
横浜 2015.7.2-3

演題：リンパ節転移部位から見た食道胃接合
部癌に対する手術術式の検討

木村和恵、楠元英次、杉山雅彦、太田光彦、
堤敬文、坂口善久、楠本哲也、池尻公二

3. 2015 JDDW

- 第13回日本消化器外科学会大会
2015.10.8-11 東京

演題：胃癌肝転移に対する外科治療適応～
HER2発現

木村和恵、楠元英次、杉山雅彦、太田光彦、
堤敬文、坂口善久、楠本哲也、池尻公二

〔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

木村 和恵 (KIMURA Yasue)
九州大学・医学研究院・共同研究員
研究者番号：70631927

(2)研究分担者

森田 勝 (MORITA Masaru)
独立行政法人国立病院機構(九州がんセ
ンター臨床研究センター)・その他部局
等・統括診療部長

研究者番号：30294937

沖 英次 (OKI Eiji)

九州大学・大学病院・講師

研究者番号：70380392

佐伯 浩司 (SAEKI Hiroshi)

九州大学・大学病院・講師

研究者番号：80325448

(3)連携研究者

()

研究者番号：