

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 17 日現在

機関番号：14101
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2013～2016
課題番号：25462109
研究課題名(和文) 膵癌撲滅に向けたテーラーメイド治療 化学放射線療法抵抗性・癌幹細胞に対する戦略

研究課題名(英文) Strategy for treatment of advanced pancreatic cancer paying attention to chemoradiation resistant cancer stem cell

研究代表者
水野 修吾 (Mizuno, Shugo)
三重大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70335131
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：難治性癌である進行膵癌にたいして、治療前に、化学放射線治療抵抗性の有無を見極めて、患者毎の個別化治療を行うことを最終目的とした研究を行った。治療前に膵癌の診断をするために施行した、内視鏡的組織診断の検体の一部を用いてhENT1という免疫染色を行い、ジェムザールという抗癌剤治療の効果が出やすい患者とそうでない患者のグループ分けが可能となった。抗癌剤治療抵抗性と診断された患者に対して、さらに効き目のある抗癌剤治療を模索中である。

研究成果の概要(英文)：Our goal of this study is to establish the tailor made treatment of advanced pancreatic cancer paying attention to chemoradiation resistant cancer stem cell. We could discriminate whether the pancreatic cancer cell had chemoradiation resistance or not by using immunohistochemistry "hENT1" of sample which were obtained by EUS FNAB

研究分野：進行膵癌に対する集学的治療

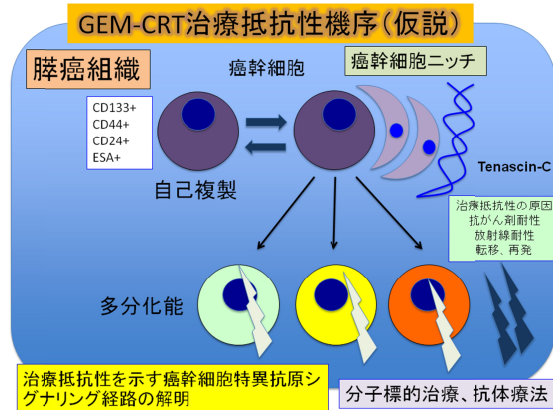
キーワード：化学放射線治療 膵癌

1. 研究開始当初の背景

当施設では 2005 年 2 月から現在まで、130 例以上の局所進行膵癌に対して EUS-FNAB にて膵癌と診断された後に、ゲムシタピン併用術前化学放射線療法 (GEM-CRT) を行い、治癒をめざした膵切除に加え、術後補助化学療法を施行する集学的治療により成績の向上を計ってきた。しかし、全ての膵癌患者に対して GEM-CRT が奏功するわけではなく、同じ外科的切除を施行しても、早期に転移・再発を認める症例もある。一方、最近、難治性悪性腫瘍を根治する新しい治療法を切り開くため、「癌幹細胞」が注目されている。特に細胞外基質の一つである tenascin-C (テネイシン C) の発現は癌における浸潤・転移を促進することから、テネイシン C 産生を阻害することにより、癌細胞の浸潤、転移を特異的に抑制されることが推察されている。しかし、この癌幹細胞に関する研究は、世界的にも始まったばかりであり、膵癌治療研究分野においても、放射線治療・薬剤治療抵抗性に繋がる癌幹細胞とニッチからなる癌幹細胞維持機構を明らかにすることは急務とされている。「癌幹細胞」に関する研究は、世界的にも始まったばかりであるが、膵癌においてもその研究の殆どは、既存の細胞株等を用いた *in vitro* の研究である。我々の施設は、130 例以上の局所進行膵癌に対して、2005 年より治療前に EUS-FNAB にて膵癌組織を採取し、同一レジメンにて GEM-CRT 施行後に治癒切除を目的とした切除を行ってきた、本邦のみならず世界的にも数少ない施設である。

2. 研究の目的

GEM-CRT を施行した過去 130 例の切除標本を用いて、膵癌幹細胞・ニッチの存在部位と程度を同定し、予後との関連を検討。同時にがん幹細胞ニッチにおける細胞外基質 (テネイシン C) の治療抵抗性獲得における役割を、マウスを用いて検証する。その後、prospective に診断時の EUS-FNA 検体と、GEM-CRT 施行後に切除された膵腫瘍組織をマウスで増殖させ、癌幹細胞とニッチを規定する新規バイオマーカーを同定し、それらの組織診断・血清診断への臨床応用、分子標的治療の開発を目指す。また、症例毎に、癌幹細胞とニッチの状況を把握し、至適な術後補助化学療法の選択にも役立つ。



3. 研究の方法

GEM-CRT 治療抵抗性膵癌における癌幹細胞マーカーと特性の検証：治療抵抗性に関連した癌幹細胞の局在、癌幹細胞特性維持に影響する細胞外マトリックス (テネイシン C) からみた GEM-CRT 治療抵抗性獲得機序を外科病理学的に検討する。検体は、2005 年以降に GEM-CRT 施行後に切除した 130 例の膵癌組織ホルマリン固定標本を使用する。膵癌特異的な癌幹細胞マーカー、細胞外マトリックスの局在を免疫組織学的に評価し、癌幹細胞ニッチと GEM-CRT 治療抵抗性との関連を外科病理学的に検討する。免疫染色：1) 癌幹細胞マーカー：CD44+, CD24+, ESA+, CD133+膵癌細胞 2) 細胞外マトリックス：テネイシン C、N-Cadherin。検討項目：GEM-CRT の臨床効果、組織学的効果、予後 (全生存期間、無再発生存期間)、再発形式。上記検討により、癌幹細胞の存在部位、癌幹細胞ニッチの局在、特性と GEM-CRT 治療抵抗性ならびに予後との関連が明らかになる。特に、GEM-CRT 有効群 (臨床効果良好または組織学的効果良好群) と無効群の比較検討を行うことにより、がん幹細胞ニッチにおける GEM-CRT 治療抵抗性獲得機序が外科病理学的に明らかにする。

4. 研究成果

UICC-T3、T4 の局所進行膵癌に対して、gemcitabine (GEM) を用いた化学放射線療法 (GEM-CRT) を 2005 年 2 月から 130 例以上に施行している。このうち治療前の EUS-FNAB 検体を用いた免疫組織染色にて hENT1 発現を検討し得た 51 例 (UICC-T3 : 28 例、T4 : 23 例) を対象に、治療前の hENT1 発現と GEM-CRT との治療効果を検討したところ、hENT1 陽性の切除例は生存期間中央値 (MST) が 30 ヶ月以上と著明な延長を示していたのに対して、hENT1 陰性の切除例では約 9 ヶ月の MST であった。すなわち、膵切除を施行したにもかかわらず、非切除例とほぼ同等の成績であり、この成績を発表した (Pancreas.2016 45 :761-71)。また 2011 年以後は膵癌に対する S-1 の効果が明らかとなったため、GEM/S-1 CRT を 120 例以上に施行しているが、この GS-CRT 症例においても、治療前の EUS-FNAB 検体を用いた hENT1 発現の検討を行い、さら

に dihydropyrimidine dehydrogenase(DPD) 発現についても検討した。EUS-FNAB 検体は、膵癌診断にもちいた残りの検体を使用した。hENT1 と DPD はそれぞれ 79.2% (76/95)、61.1% (58/95) で評価可能であった。hENT1 は 67.1% (51/76) が陽性であり、DPD は 27.6% (16/58) が陽性であった。hENT1 陽性例は MST25 ヶ月と陰性例の 14 ヶ月に比べて有意に予後延長しており、また DPD においても陰性例は陽性例に比して有意に予後延長していた (MST:33 ヶ月 vs. 14 ヶ月)。さらに生存率に寄与する因子を多変量解析にて検討したところ、hENT1 と DPD のみが有意な因子であり、GS-CRT 症例においても、治療開始前の EUS-FNAB 検体を用いた抗癌剤耐性遺伝子発現の検討の有用性を証明し得た。このように、治療前の EUS-FNAB 検体を用いて GEM ベースもしくは S-1 ベースの化学放射線治療に対する、抵抗性の有無の判断を行うことが可能となり、その有用性も証明された。次のステップとしての、治療抵抗性膵癌に対する、治療戦略であるが、細胞外マトリックスの一つである、テネascin C の発現に注目し、その局在と治療効果との関係について臨床検体と動物実験にて検証を進めているが、発表できるまでのデータを揃えることが出来なかったのが現実である。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

Clinical significance of conversion surgery after gemcitabine plus S1 based chemoradiotherapy in patients with initially locally advanced unresectable pancreatic adenocarcinoma: application of intratumoral expression of Tenascin C as a surrogate marker.

Yasuhiro Murata, Masanobu Usui, Aoi Hayasaki, Yusuke Iizawa, Hiroyuki Kato, Akihiro Tanemura, Naohisa Kuriyama, Yoshinori Azumi, Masashi Kishiwada, Shugo Mizuno, Hiroyuki Sakurai, Toshimichi Yoshida, Shuji Isaji.

The Joint Conference of the 47th annual meeting of the Japan Pancreas Society (JPS) and the 20th meeting of the International Association of Pancreatology (IAP) 2016.8/6 仙台国際センター(宮城県・仙台市)

Clinical significance of plasma apolipoprotein AII isoforms as a surrogate of pancreatic exocrine in

sufficiency for patients with pancreatic adenocarcinoma, paying attention to pancreatic morphological changes including tumor after chemoradiotherapy

Aoi Hayasaki, Yasuhiro Murata, Masanobu Usui, Hiroyuki Kato, Akihiro Tanemura, Naohisa Kuriyama, Yoshinori Azumi, Masashi Kishiwada, Shugo Mizuno, Hiroyuki Sakurai, Shuji Isaji.

The Joint Conference of the 47th annual meeting of the Japan Pancreas Society (JPS) and the 20th meeting of the International Association of Pancreatology (IAP) 2016.8/4 仙台国際センター(宮城県・仙台市)

局所進行膵癌に対する化学放射線治療における腫瘍内 Tenascin C 発現の臨床的意義の検討

村田泰洋、臼井正信、岸和田昌之、加藤宏之、種村彰洋、栗山直久、安積良紀、水野修吾、櫻井洋至、吉田利通、伊佐地秀司

第46回日本膵臓学会大会2015.6/20 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

浸潤性膵管癌に対する化学放射線療法後切除例における組織学的効果の臨床的意義-腫瘍内 Tenascin C 発現の surrogate marker としての有用性の検討-

村田泰洋、飯澤祐介、加藤宏之、種村彰洋、栗山直久、岸和田昌之、安積良紀、水野修吾、臼井正信、櫻井洋至、伊佐地秀司

第115回日本外科学会定期学術集会2015.4/17 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

〔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

水野修吾 (MIZUNO Shugo)
三重大学医学部附属病院 講師
研究者番号：70335131

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

伊佐地 秀司 (ISAJI Shuji)
岸和田 昌之 (KISHIWADA Masashi)
村田 泰洋 (MURATA Yasuhiro)
山田 玲子 (YAMADA Reiko)
日比 妙美 (HIBI Taemi)