

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 23 日現在

機関番号：37111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462355

研究課題名(和文)肉腫幹細胞を標的とした類上皮肉腫治療の新構築

研究課題名(英文) Identification and characterization of tumorigenic stem cells in epithelioid sarcoma

研究代表者

西尾 淳(NISHIO, Jun)

福岡大学・医学部・講師

研究者番号：90360304

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)：悪性軟部腫瘍の中でも診断・治療の両面において課題の多い類上皮肉腫に対して、我々が樹立したヒト培養細胞株(FU-EPS-1, SFT-8606)を用いた解析を行った。その結果、FU-EPS-1細胞株において腫瘍幹細胞の同定・分離が可能であると予想される結果が得られた。また、CA125は類上皮肉腫の病勢をよく反映する腫瘍血清マーカーであることが判明した。更に、種々の軟部腫瘍に対して、病理診断の補助となりうる特徴的な染色体異常を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Epithelioid sarcoma (EPS) is a highly malignant soft tissue tumor which is difficult to diagnose in some cases. EPS usually does not respond well to chemotherapy or radiotherapy; therefore, a novel therapeutic option needs to be developed. We analyzed the characteristics of cancer stem-like cells/cancer-initiating cells in EPS cell lines (FU-EPS-1 and SFT-8606). We isolated a subpopulation of cancer stem-like cells in the FU-EPS-1 cell line. In addition, we found that high-molecular weight glycoprotein CA125 would be a useful marker for monitoring the clinical course of EPS. Furthermore, we identified characteristic chromosomal aberrations in a variety of soft tissue tumors.

研究分野：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：類上皮肉腫 腫瘍幹細胞 軟部腫瘍 染色体異常 脂肪肉腫

1. 研究開始当初の背景

類上皮肉腫は若年成人の四肢遠位部に結節・潰瘍として発生するまれな悪性軟部腫瘍である。近年、会陰・外陰・骨盤部等の軀幹に発生する例(近位型)も報告されている。分化の方向については間葉系と上皮系の両方の性格を示し、その多彩性が示唆されている。化学療法や放射線治療には抵抗性で、治療方法としては唯一外科的切除のみが有効である。しかし、局所浸潤性の強い類上皮肉腫に対しては患部を含む広範囲な組織切除あるいは切断術を必要とし、機能面、審美面、精神面に於いて患者に与える苦痛は著しい。さらに、しばしば局所再発(50~70%)、肺(51%)やリンパ節(34%)への転移を認め、現在の標準治療である手術単独では予後不良であり、新たな治療戦略が求められている。

急性骨髄性白血病において白血病幹細胞の存在が証明されて以来、固形癌においても同様に、細胞表面マーカーや SP(side population)細胞を使って癌幹細胞の同定・分離が試みられている。現在、既存の癌治療法に抵抗性を有する癌幹細胞の性状解析は新規治療法の創出につながると期待されている。しかし、類上皮肉腫をはじめとする軟部腫瘍領域では肉腫幹細胞の同定はまだ明らかにされていない。肉腫幹細胞に関する研究はまだ世界的に始まったばかりで、解決すべき問題が山積している。

研究代表者は種々のヒト肉腫細胞株の樹立と動物実験モデルの構築に取り組んできた。ヒト肉腫由来細胞株の樹立については経験に頼る部分が大きく、どの研究室が試みても必ず成功するとはいえないのが現状である。研究代表者らは類上皮肉腫の患者からヒト培養細胞株: FU-EPS-1(Nishio et al. Int J Oncol, 2005)と SFT-8606(Iwasaki et al. Cancer Genet Cytogenet, 1996)の樹立に成功し、その細胞生物学的及び分子細胞遺伝学的特性について報告してきた。

2. 研究の目的

本研究は悪性軟部腫瘍の中でも最も多分化能を有する類上皮肉腫に注目し、類上皮肉腫における肉腫幹細胞の同定・分離を試み、その性状解析から治療応用へと展開するための研究基盤を確立することを目的とした。また、種々の軟部腫瘍の染色体及び分子細胞遺伝学的異常を解析し、その診断的価値を明らかにすることを目指した。

3. 研究の方法

(1)試料提供者よりインフォームド・コンセントを得たうえで、摘出された腫瘍組織のうち病理診断に必要でない余剰部分を用いて染色体分析を行った。構造的に極めて複雑な染色体異常を示した場合には、SKY(spectral karyotyping)法と CGH(comparative genomic hybridization)法を用いて総合的なカリオタイプングを進めた。

(2)ヒト類上皮肉腫細胞株 (FU-EPS-1, SFT-8606) を用いて、細胞幹表面マーカーの発現を解析した。有望なマーカーにより特異的に分取した細胞集団の機能解析を進めた。(3)類上皮肉腫症例における血清 CA125 値の上昇の有無及び病勢との相関を検討した。

4. 研究成果

(1)世界で初めてグロムス腫瘍におけるクロソナルな染色体異常 t(1;5)(p13;q32)を報告した。また、神経周膜腫において 10q24 の再構成が特徴的な染色体異常であることが判明した。さらに、脂肪性腫瘍において 12 番染色体の重複が組織学的異型と関連している可能性が示唆された。

(2)FU-EPS-1 細胞株において有望な細胞表面マーカーを同定した。さらに同定したマーカーにより特異的に分取した細胞集団の機能解析を進め、ある特定分子が類上皮肉腫に対する治療標的抗原及び予後予測マーカーとなる可能性が示唆された。

(3)類上皮肉腫において血清 CA125 値は高値を呈し、病勢に相関して推移した。ただし、多くの症例を集積し検討することはできなかった。

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 27 件)

1. Nishio J, Iwasaki H, Shibata T, Nabeshima K, Naito M. Duplication of chromosome segment 12q13-15 in a lipomatous tumor with minimal nuclear atypia: a molecular cytogenetic study by SKY and FISH. *Oncol Lett* 11:2875-2878, 2016. 査読有
2. Iwasaki H, Ishiguro M, Nishio J, Aoki M, Yokoyama R, Yokoyama K, Taguchi K, Nabeshima K. Extensive lipoma-like changes of myxoid liposarcoma: morphologic, immunohistochemical, and molecular cytogenetic analyses. *Virchows Arch* 466:453-464, 2015. 査読有
3. Sievers E, Trautmann M, Kindler D, Huss S, Gruenewald I, Dirksen U, Renner M, Mechttersheimer G, Pedeutour F, Aman P, Nishio J, Schildhaus HU, Kirfel J, Schirmacher P, Wardelmann E, Buettner R, Hartmann W. SRC inhabitation represents a potential therapeutic strategy in liposarcoma. *Int J Cancer* 137:2578-2588, 2015. 査読有
4. Nishio J, Arashiro Y, Mori S, Iwasaki H, Naito M. Periosteal chondroma of the distal tibia: computed tomography and magnetic resonance imaging

- characterization and correlation with histological findings. *Mol Clin Oncol* 3:677-681, 2015. 査読有
5. Nishio J, Mori S, Nabeshima K, Naito M. Successful enucleation of large multinodular/plexiform schwannoma of the foot and ankle. *SpringerPlus* 4:260, 2015. 査読有
 6. Nishio J, Nabeshima K, Mori S, Naito M. Translocation (1;5) in a glomus tumor. *Anticancer Res* 35:6167-6170, 2015. 査読有
 7. Nishio J, Iwasaki H, Nabeshima K, Naito M. Immunohistochemical, cytogenetic, and molecular cytogenetic characterization of both components of a dedifferentiated liposarcoma: implication for histogenesis. *Anticancer Res* 35:345-350, 2015. 査読有
 8. Nishio J, Iwasaki H, Aoki M, Nabeshima K, Naito M. FDG PET/CT and MR imaging of CD34-negative soft-tissue solitary fibrous tumor with NAB2-STAT6 fusion gene. *Anticancer Res* 35:967-971, 2015. 査読有
 9. Yamamoto K, Nishio J, Yano S, Naito M. Solitary schwannoma of the sural nerve: an unusual clinical presentation. *Exp Ther Med* 7:90-92, 2014. 査読有
 10. Kosaka H, Nishio J, Matsunaga T, Aoki M, Iwasaki H, Naito M. Imaging features of periosteal chondroma manifesting as a subcutaneous mass in the index finger. *Case Rep Orthop* 2014:763480, 2014. 査読有
 11. Nishio J, Iwasaki H, Aoki M, Nabeshima K, Naito M. FDG PET/CT findings of superficial angiomyxoma. *Clin Nucl Med* 39:367-370, 2014. 査読有
 12. Nishio J, Iwasaki H, Hayashi H, Nabeshima K, Naito M. Soft tissue perineurioma of the foot with 10q24 rearrangements: unique MRI features with histopathologic correlation. *Skeletal Radiol* 43:1017-1022, 2014. 査読有
 13. Aoki M, Nishio J, Iwasaki H, Masaki M, Kawakami Y, Nishino T, Ohjimi H, Tamura K, Nabeshima K, Naito M. Osteosarcoma of the patella mimicking giant cell tumor: imaging features with histopathological correlation. *Anticancer Res* 34:2541-2545, 2014. 査読有
 14. Nishio J, Iwasaki H, Nabeshima K, Kamachi Y, Naito M. Atypical lipomatous tumor with structural rearrangements involving chromosomes 3 and 8. *Anticancer Res* 34:3073-3076, 2014. 査読有
 15. Nishio J, Inamitsu H, Iwasaki H, Hayashi H, Naito M. Calcifying aponeurotic fibroma of the finger in an elderly patient: CT and MRI findings with pathologic correlation. *Exp Ther Med* 8:841-843, 2014. 査読有
 16. Nishio J, Kamachi Y, Iwasaki H, Naito M. Diffuse-type tenosynovial giant cell tumor with t(1;17)(p13;p13) and trisomy 5. *In Vivo* 28:949-952, 2014. 査読有
 17. Nishio J, Iwasaki H, Nagatoma M, Naito M. Fibroma of tendon sheath with 11q rearrangements. *Anticancer Res* 34:5159-5162, 2014. 査読有
 18. Shibata T, Nishio J, Matsunaga T, Aoki M, Iwasaki H, Naito M. Giant cell tumor of the patella: an uncommon cause of anterior knee pain. *Mol Clin Oncol* 3:207-211, 2014. 査読有
 19. Emori M, Tsukahara T, Murase M, Kano M, Murata K, Takahashi A, Kubo T, Asanuma H, Yasuda K, Kochin V, Kaya M, Nagoya S, Nishio J, Iwasaki H, Sonoda T, Hasegawa T, Torigoe T, Wada T, Yamashita T, Sato N. High expression of CD109 antigen regulates the phenotype of cancer stem-like cells/cancer-initiating cells in the novel epithelioid sarcoma cell line ESX and is related to poor prognosis of soft tissue sarcoma. *PLoS One* 8:e841187, 2013. 査読有
 20. Ideta S, Nishio J, Aoki M, Ishimatsu T, Nabeshima K, Iwasaki H, Naito M. Imaging findings of ossifying fibromyxoid tumor with histopathological correlation: a case report. *Oncol Lett* 5:1301-1304, 2013. 査読有
 21. Nishio J, Aoki M, Tanaka Y, Iwasaki H, Naito M. Painless angioleiomyoma of the first web space of the hand. *In Vivo* 27:519-522, 2013. 査読有
 22. Nishio J, Ideta S, Aoki M, Hamasaki M, Nabeshima K, Iwasaki H, Naito M. Fibrolipoma of the ring finger: MR imaging and histological correlation. *In Vivo* 27:541-544, 2013. 査読有
 23. Nishio J, Aoki M, Nabeshima K, Iwasaki H, Naito M. Imaging features of desmoid-type fibromatosis in the teres major muscle. *In Vivo* 27:555-559, 2013. 査読有
 24. Nishio J, Iwasaki H, Yano S, Naito M. Collagenous fibroma (desmoplastic fibroblastoma) with trisomy 8 as the sole cytogenetic abnormality.

Anticancer Res 33:3259-3262, 2013. 査読有

25. Nishio J, Ueki T, Naito M. Intramuscular schwannoma of the musculocutaneous nerve: an uncommon clinical presentation. *Exp Ther Med* 6:164-166, 2013. 査読有
26. Nishio J, Ideta S, Iwasaki H, Naito M. Scapular osteochondrolipoma: imaging features with pathological correlation. *Oncol Lett* 6:817-820, 2013. 査読有
27. Nishio J, Kuwabara Y, Nabeshima S, Iwasaki H, Naito M. PET-positive polyostotic fibrous dysplasia mimicking Ollier disease. *In Vivo* 27:821-826, 2013. 査読有

〔学会発表〕(計 10 件)

西尾淳、鍋島一樹、森俊、内藤正俊：Translocation (1;5)を呈したグロムス腫瘍の 1 例。第 130 回西日本整形・災害外科学会 2015 年 11 月 14 日 宮崎市民プラザ

柴田達也、西尾淳、松永大樹、内藤正俊：膝蓋骨に発生した骨巨細胞種の治療経験。第 128 回西日本整形・災害外科学会 2014 年 11 月 22 日 沖縄コンベンションセンター

西尾淳、岩崎宏、西野剛史、林博之、青木光希子、鍋島一樹、内藤正俊：足部に発生した soft tissue perineurioma の 1 例。第 47 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 2014 年 7 月 18 日 大阪国際会議場

石黒昌子、竹下盛重、横山庫一郎、横山良平、西尾淳、青木光希子、古賀佳織、坂田則行、中山吉福、鍋島一樹、二村聡、濱崎慎、濱田義浩、林博之、久野敏、溝口幹朗、山田梢、岩崎宏：脂肪腫における MDM2 遺伝子と CDK4 遺伝子の発現増幅レベルの検索。第 47 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 2014 年 7 月 18 日 大阪国際会議場

小阪英智、西尾淳、松永大樹、青木光希子、岩崎宏、蒲池祐紀、野口貴雄、内藤正俊：左示指基節骨に発生した骨膜性軟骨腫の 1 例。第 127 回西日本整形・災害外科学会 2014 年 6 月 7 日 電気ビル共創館 (福岡市)

Nishio J, Iwasaki H, Aoki M, Nabeshima K, Naito M. Cytogenetic findings of collagenous fibroma (desmoplastic fibroblastoma): report of two cases and review of the literature. 10th Annual Asia Pacific Musculoskeletal Tumour Society, April 9-11, 2014. Grand Hyatt Melbourne Australia

Nishio J, Ishiko T, Minamikawa T, Naito M. Arthroscopic removal of an

intraarticular osteoid osteoma of the radial styloid. 10th Annual Asia Pacific Musculoskeletal Tumour Society, April 9-11, 2014. Grand Hyatt Melbourne Australia

江森誠人、塚原智英、村瀬正樹、嘉野真允、西尾淳、岩崎宏、鳥越俊彦、和田卓郎、佐藤昇志、山下敏彦：類上皮肉腫における新規がん幹細胞制御分子 CD109 の同定。第 28 回日本整形外科学会基礎学術集会 2013 年 10 月 18 日 幕張メッセ国際会議場 (千葉市)

江森誠人、塚原智英、高谷あかり、西尾淳、岩崎宏、鳥越俊彦、佐藤昇志、山下敏彦、和田卓郎：類上皮肉腫幹細胞を標的とした特異抗原の同定。第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 2013 年 7 月 11 日 東京ドームホテル
西尾淳、秋穂俊輔、青木光希子、鍋島一樹、岩崎宏、内藤正俊：染色体転座 t(2;11)は collagenous fibroma に特異的である。第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 2013 年 7 月 11 日 東京ドームホテル

〔図書〕(計 1 件)

Hisaoaka M, Nishio J. IARC Press, Lyon, France. WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone. 2013, 468 (53-54)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西尾 淳 (NISHIO, Jun)
福岡大学・医学部・講師
研究者番号：90360304

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし