

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 17 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861061

研究課題名(和文)食道扁平上皮癌幹細胞に対するヒストン修飾を標的とした新規治療戦略の検討

研究課題名(英文)An analysis on the new treatment strategy targeting histone-modification for the tumor-initiating cells of esophageal squamous cell carcinoma

研究代表者

村上 健太郎 (Murakami, Kentaro)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40436382

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：食道扁平上皮癌は予後不良な悪性度が高い癌種の1つである。現在の標準化学療法である5FU-cisplatin(FP)療法の奏功率は33.3%程度と満足できるものではなく、この状況を改善する何らかの新規治療戦略が必要とされている。様々な固形癌に癌幹細胞の存在が認識されつつあるが、食道扁平上皮癌に関する報告は極めて少ない。今回我々は、食道扁平上皮癌細胞株により形成されるスフェアに、機能的幹細胞マーカーであるALDH1が濃縮されることを確認し、さらにALDH1陽性細胞を多く含む食道扁平上皮癌が予後不良であることを確認した。ALDH1は食道扁平上皮癌幹細胞マーカーとして有用である可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) is one of the highly malignant cancers with poor prognosis. To improve the prognosis of advanced ESCC, the development of novel and potent chemotherapeutic agent is expected. In recent years, the existence of tumor-initiating cells and their treatment-resistance have been noted in gastrointestinal cancer. It is thought that tumor-initiating cells are major contributors to cancer relapse, and removing the tumor-initiating cells might improve the radical cure rate. However, there have been only a few reports on the tumor-initiating cells of ESCC. Here we confirmed that ALDH1 positive cells concentrated into the spheres derived from the ESCC cell line. Further the clinicopathological study was performed and the group with high expression level of ALDH1 had a trend toward worse survival compared with those with lower ALDH1. It was suggested that ALDH1 was one of the useful ESCC tumor-initiating cell markers.

研究分野：消化器外科

キーワード：食道扁平上皮癌 癌幹細胞 エピジェネティクス

1. 研究開始当初の背景

食道扁平上皮癌は、予後不良な悪性度が高い癌種の1つであり、依然として5年生存率は36.1%と予後不良なままである。現在の標準化学療法である5FU-cisplatin(FP)療法の奏功率は33.3%程度と満足できるものではなく、この状況を改善する何らかの新規治療戦略が必要とされている。

様々な固形癌に、腫瘍構成細胞を供給し続ける癌幹細胞の存在が認識されつつある。癌幹細胞は様々な抗癌剤や放射線療法に対して耐性であることが示され、癌再発の原因細胞であると報告されており(Bao et al. Nature 2006)、癌治療の重要な標的となる。しかし扁平上皮癌幹細胞の単離は遅れており、食道扁平上皮癌に関する報告は極めて少ない。また、固形癌幹細胞治療として、いまだ確立したものはない。

2. 研究の目的

癌幹細胞は、従来の抗癌剤や放射線療法に治療抵抗性を示し、再発や転移の根本的原因となると考えられる。本研究ではこの点に着目し、食道扁平上皮癌幹細胞を標的とした新規治療開発のための研究基盤を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、食道扁平上皮癌幹細胞を標的とし、食道扁平上皮癌幹細胞分画を同定、単離した後、新たな治療法を探索する。そのために、本研究では食道扁平上皮癌幹細胞の濃縮方法を確立する。

(1) 既存の細胞株から癌幹細胞を含む分画を同定する。同時に手術検体を染色し、染色部位・強度と予後を含めた臨床病理学的因子との関連を明らかにする。

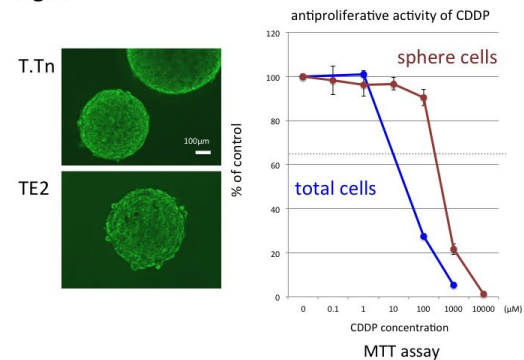
(2) 手術検体から新規食道扁平上皮癌細胞株を樹立する。新規細胞株における、1で同定した癌幹細胞マーカー陽性細胞の頻度、癌幹細胞特性を調べ、マーカーの有用性を再度確認する。

4. 研究成果

(1) 既存の細胞株を用いて

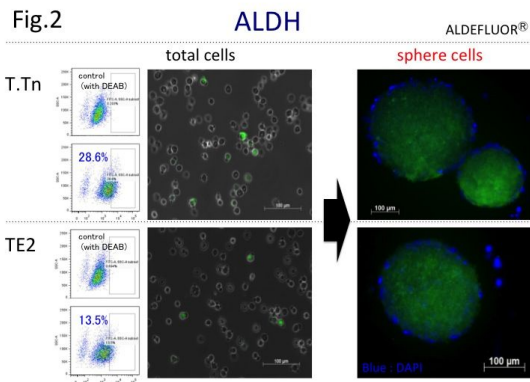
血清無添加培地を用いて非接着条件下で培養すると、癌幹細胞と考えられる一部の細胞のみが sphere を形成し生育する (sphere formation assay)。すなわち sphere 構成細胞には癌幹細胞が豊富に含まれると考えられる。申請者は、食道扁平上皮癌細胞株 T.Tn, TE2 が sphere を形成することを確認した(Fig.1)。

Fig.1

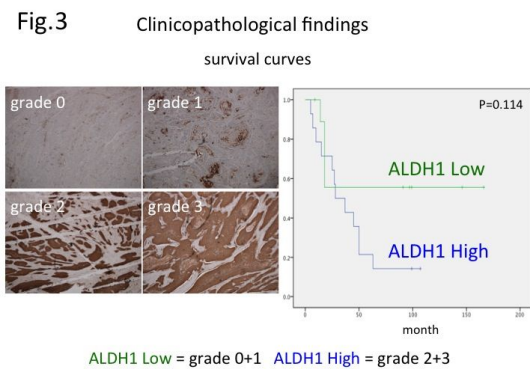


申請者は、上記2細胞株の全培養細胞と sphere 構成細胞を比較し、後者に enrich されているマーカーを選択する方針とした。

食道扁平上皮癌幹細胞マーカーの候補として、まず細胞表面マーカーである CD24, 44, 133, EpCAM を検討したが、sphere 構成細胞に enrich されている細胞表面マーカーを認めなかった。そこで機能的マーカーである ALDH1 に着目したところ、ALDH1 陽性細胞は sphere 構成細胞に enrich されていた (Fig.2)。



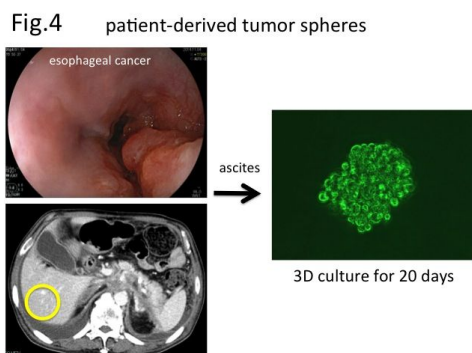
また、臨床病理学的にも ALDH1 高発現群は予後不良であった (Fig.3)



以上の結果から、機能的マーカーである ALDH1 は食道扁平上皮癌幹細胞マーカーとして有用である可能性が示唆された。

(2) 手術検体から樹立した新規細胞株を用いて

現在のところ、食道扁平上皮癌切除標本から癌幹細胞分画を直接分離することはできていない。しかし、腹膜播種した癌細胞から sphere を作成することに成功し (Fig.4)、今後の実験系に利用可能である。



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11件)

村上健太郎

食道扁平上皮癌 tumor-initiating cell 分画同定の試み

日本消化器癌発生学会

2015年11月19-20日

米子全日空ホテル(鳥取県・米子市)

Kentaro Murakami

An analysis on the usefulness of ALDH in esophageal squamous cell carcinoma

International Conference of Federation of Asian Clinical Oncology (FACO) (日本癌治療学会)

2015年10月29-31日

国立京都国際会館(京都府・京都市)

村上健太郎

食道扁平上皮癌における ALDH 陽性細胞の意義に関する検討

日本癌病態治療研究会

2015年6月25-26日

日光千姫物語(栃木県・日光市)

Kentaro Murakami

An analysis on the usefulness of ALDH in esophageal squamous cell carcinoma

American Association for Cancer Research (AACR)

2015年4月18-22日

Pennsylvania Convention Center (USA)

村上健太郎

食道扁平上皮癌における tumor-initiating cell 同定の試み

日本外科学会

2015年4月16-18日

名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

村上健太郎

食道扁平上皮癌における最良の幹細胞マーカーは?

What is the best tumor-initiating cell marker in esophageal squamous cell carcinoma?

日本消化器癌発生学会

2014年11月19-20日

米子全日空ホテル(鳥取県・米子市)

村上健太郎

ALDH は食道扁平上皮癌幹細胞の有用なマーカーである

日本癌学会

2014年9月25-27日

パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

Kentaro Murakami

An analysis of the method for identifying cancer stem-like cell in esophageal squamous cell carcinoma

International Society for Diseases of the Esophagus (ISDE)

2014年9月22-24日

The Westin Bayshore Hotel (Canada)

Kentaro Murakami

What is the best marker for identifying cancer stem-like cells in esophageal squamous cell carcinoma?

Cancer Stem Cell Conference

2014年8月17-20日

Cleveland Convention Center (USA)

村上健太郎

食道扁平上皮癌における幹細胞マーカーの検討

日本癌病態治療研究会

2014年6月12-13日

ホテルグランヴェール岐山(岐阜県・岐阜市)

村上健太郎

食道扁平上皮癌幹細胞マーカー探索の試み

日本外科学会

2014年4月3-5日

国立京都国際会館(京都府・京都市)

〔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 なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

村上 健太郎 (MURAKAMI, Kentaro)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40436382

(2)研究分担者 なし

()

研究者番号：

(3)連携研究者 なし

()

研究者番号：