

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月7日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10501

研究課題名(和文) 食道癌のがん幹細胞に着目した化学・放射線治療耐性の分子機序の解明と新規治療の開発

研究課題名(英文) Elucidation of molecular mechanism of resistance to chemoradiotherapy of esophageal cancer and development of new treatment focusing on cancer stem cells

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：食道扁平上皮癌においてCD44v9は原発巣よりリンパ節転移部で高発現していた。腫瘍先進部ではCD44v9発現は深達度が深く、EMT症例が有意に多かった。また、有意に予後不良であった。以上から腫瘍先進部のCD44v9発現が、EMTおよび予後不良に関与することが示唆された。また、CD44v9発現と遊走能・浸潤能、増殖能、抗酸化能との関連を検討したところ、食道扁平上皮癌深部浸潤部のEMTに伴い発現が誘導され、腫瘍細胞の遊走能・浸潤能の亢進、さらに悪性度獲得に寄与すると考えられた。以上からCD44v9は食道扁平上皮癌における腫瘍浸潤能や予後不良因子の一つと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CD44のバリエーションアイソフォーム(CD44v)の発現は、遠隔転移と関連していることが報告されており、がん幹細胞のマーカーの一つと考えられていた。

食道扁平上皮癌におけるCD44v9の発現と臨床病理学的因子および転移獲得能に関与するか明らかにした。CD44v9の高発現症例は深達度が深く、予後不良であった。食道扁平上皮癌深部浸潤部のEMTに伴い発現が誘導され、腫瘍細胞の遊走能・浸潤能が亢進し、悪性度獲得に寄与すると考えられた。以上から、本研究において、CD44v9の発現は食道扁平上皮癌における予後不良因子のバイオマーカーとなり、治療標的因子となりえることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：CD44v9 levels were higher at the tumor invasive front compared with the center of the tumor and were higher in metastatic lymph nodes compared with primary tumors. High levels of CD44v9 at the tumor invasive front were significantly associated with deeper tumor invasion, and shorter overall survival and recurrence-free survival. The expression of CD44v9 was increased by transforming growth factor- treatment, which induced esophageal squamous cell carcinoma cells to undergo the epithelial-mesenchymal transition. Moreover, inhibition of CD44v9 expression decreased the migration and invasiveness of esophageal squamous cell carcinoma cells. These results indicate that the expression of CD44v9 at the tumor invasive front was strongly associated with the epithelial-mesenchymal transition and poor prognosis of patients with esophageal squamous cell carcinoma.

研究分野：消化器外科、腫瘍外科

キーワード：食道扁平上皮癌 がん幹細胞 CD44v9

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

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。この癌細胞は「がん幹細胞 (cancer stem cell)」と呼ばれ、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・転移の原因となっている可能性があると考えられている。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。

食道癌は他の消化管癌のなかでは選択可能な抗癌剤治療薬も少なく、依然として予後不良の難治性癌である。現在は手術療法に加え、化学療法・放射線療法を含めた集学的治療を行っているが、他消化管癌と比較し、十分な治療成績は得られておらず、治療成績の向上が望まれる。

2. 研究の目的

本研究では、難治性消化管癌においてがん幹細胞の発現を確認し、化学療法・放射線療法にたいして耐性の要因となりえるがん幹細胞を探索し、治療耐性のメカニズムを明らかにする。そのうえで、薬剤耐性を制御する microRNA の働きの検討を行い、幹細胞治療を標的とした新しい分子標的治療の開発を目指す。

3. 研究の方法

原発巣、食道切除時に転移陽性であったリンパ節巣を抗ヒト CD44v9 抗体(COSMO BIO 社)を用いて免疫組織化学染色を行った。

siCD44v9 を用いて CD44v9 をノックダウンし、WB にて CD44v9、E-cadherin、Vimentin 発現を解析した。

TGF- α を用いて EMT を誘導し、WB にて CD44v9、E-cadherin、Vimentin 発現を解析した。

siCD44v9 および TGF- α を用いて、CD44v9 の遊走能・浸潤能に対する影響を Transwell migration/invasion assay で評価した。

4. 研究成果

CD44v9 は CD44 のスプライシングバリエーションの一つで、がん幹細胞のマーカーの一つと考えられている。様々な癌種において Epithelial Mesenchymal Transition (EMT) と癌幹細胞の関連が報告されている。

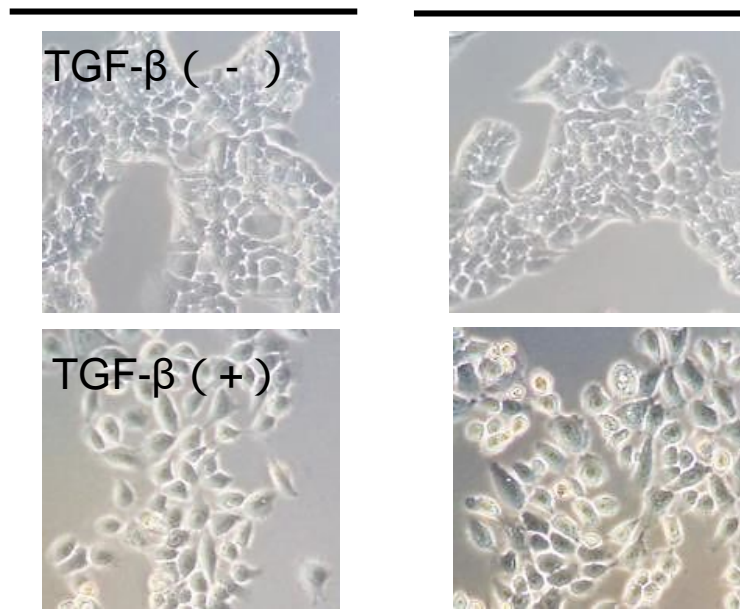
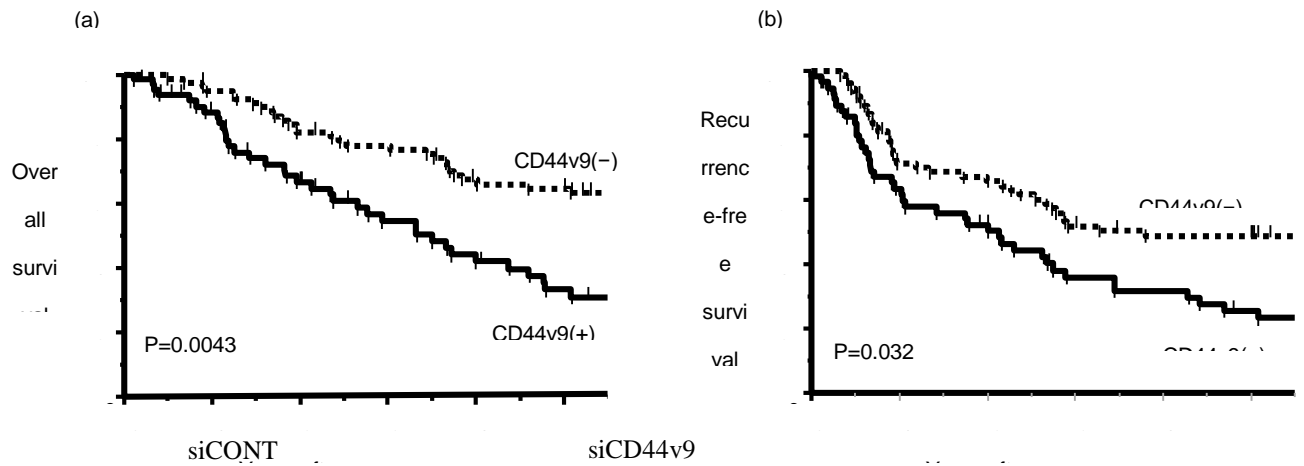
食道扁平上皮癌における CD44v9 発現は原発巣よりリンパ節転移部で高発現していた。さらに臨床病理学的因子と比較検討したところ腫瘍先進部における CD44v9 発現は深達度が深く、EMT 症例が有意に多かった。また、有意に予後不良であった。以上から腫瘍先進部の CD44v9 発現が、EMT および予後不良に関与することが示唆された。

また、CD44v9 発現と遊走能・浸潤能、増殖能、抗酸化能との関連を検討したところ、食道扁平上皮癌深部浸潤部の EMT に伴い発現が誘導され、腫瘍細胞の遊走能・浸潤能の亢進、さらに悪性度獲得に寄与すると考えられた。以上から CD44v9 は食道扁平上皮癌における腫瘍浸潤能や予後不良因子の一つと考えられる。

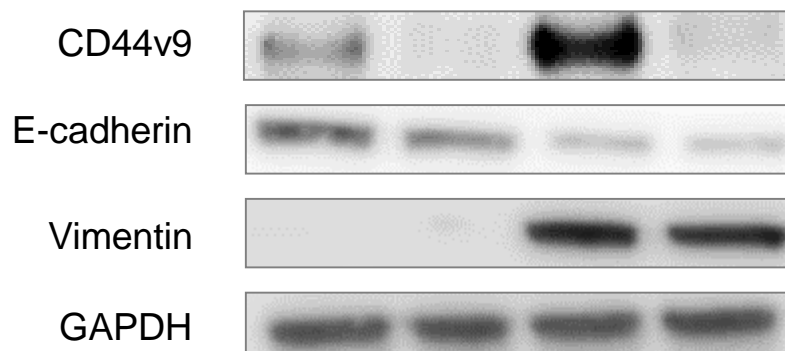
【結果】

Fig1. CD44v9 発現の有無による生存曲線 (a) 全生存 (b) 無再発生存
 CD44v9 発現症例は有意に予後が悪い。(p = 0.0043 and p = 0.032, respectively). HR, hazard ratio.

Fig2. EMT 誘導下での CD44v9 の発現 (a) TE6 cells の TGF- β 下での形態学的変化 (b) ウェスタンブロット法 : TGF- β とノックアウト CD44v9 における発現の違い CD44v9, E-cadherin, vimentin in TE6



(b)	TGF- β	-	-	+	+
	siCD44v9	-	+	-	+



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：沖 英次

ローマ字氏名：OKI, eiji

所属研究機関名：九州大学

部局名：大学病院

職名：講師

研究者番号(8桁)：70380392

研究分担者氏名：佐伯 浩司

ローマ字氏名：SAEKI, hiroshi

所属研究機関名：九州大学

部局名：大学病院

職名：講師

研究者番号(8桁)：80325448

研究分担者氏名：中島 雄一郎

ローマ字氏名：NAKASHIMA, yuichiro

所属研究機関名：九州大学

部局名：医学研究院

職名：助教

研究者番号(8桁): 40733564

(2)研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。