

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 28 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16340

研究課題名(和文) スキルス胃癌に特異的な糖鎖発現解析とそれを標的とした治療開発

研究課題名(英文) Cell surface glycan analysis of scirrhous gastric cancer

研究代表者

明石 義正 (Akashi, Yoshimasa)

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：50709722

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：難治性スキルス胃癌に対して、癌細胞の膜タンパクよりも更に最外層に無数に表出している糖鎖を標的とした新規治療の開発を目的に研究を開始した。まず、スキルス胃癌に特異的な糖鎖発現を解析するために、スキルス胃癌由来と非スキルス胃癌由来の細胞株を用いてレクチンマイクロアレイによる網羅的探索を行い19種類の候補レクチンを選別した。

その中で、スキルス胃癌で有意に結合性の高いBPLレクチンを用いて臨床スキルス胃癌検体との結合性が高いことを確認したが、血液凝集検査でO型血液を除いて血液凝集を認めたため、生体への投与はO型以外では不可能であることが判明し、現在は別のrBC2-LCNによる治療開発を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胃癌の細胞株や臨床検体を用いた糖鎖発現の解析にはいくつかの既報があるが、胃癌の組織型及びスキルス胃癌と他の胃癌での糖鎖発現の違いについては未だ明らかとなっていない。我々は今回の研究によりスキルス胃癌で特異的に発現が増加する糖鎖、及び発現の低い糖鎖を明らかとし、それらと結合する19種類の候補レクチンを選別した。これらはスキルス胃癌を標的とした薬物治療あるいは、スキルス胃癌の早期診断のためのバイオマーカーとして臨床応用でき、予後の不良なスキルス胃癌の治療に貢献できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We started the experiments to develop a new concept drug treatment for scirrhous gastric cancer which is targeting cancer cell surface glycan. First, we clarified the different glycan expression profile between scirrhous and non-scirrhous gastric cancer cell lines, and we found 19 candidate lectins for drug carrier by a comprehensive lectin microarray analysis. BPL lectin, which has a higher binding affinity for scirrhous gastric cancer also showed high binding affinity for clinical samples. However, It showed hemagglutination in other than type O blood; therefore, this lectin is considered difficult to apply as a drug carrier, and we are currently tested next candidate lectin, rBC2-LCN.

研究分野：医学

キーワード：胃癌 スキルス胃癌 糖鎖 レクチン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

胃癌全体の5年生存率は74.5%まで向上したが、スキルス胃癌は早期発見が困難であるとともに、短期間に浸潤・腹膜播種を起こすため予後が不良で、特に腹膜播種の制御が最大の課題となっている。腹膜播種のある胃癌に対する現在の標準治療は全身化学療法だが、腹膜播種に対する効果は限定的で、近年は新規治療として腹腔内化学療法が注目されている。これは脂溶性の抗がん剤を腹腔内に長時間滞留させることで抗腫瘍効果を期待するものだが、現行の治療では完全寛解(がん細胞の死滅)を目指すことは困難であり、治癒を目指すには新規薬剤の開発と共に、能動的な腫瘍標的薬剤送達の改良が不可欠である。

腫瘍細胞への薬剤送達を向上するために腫瘍細胞を標的とした腫瘍標的治療法の開発が進められ、近年では分子標的抗体薬を代表格に臨床応用もされてきた。しかし、これらの分子標的抗体薬は癌細胞表面の膜タンパクを主な標的とするが、細胞膜の最外層には無数の糖鎖が表出しており、癌細胞の標的治療においては糖鎖を標的とした方が効率的である。筑波大学消化器外科では、膵癌に対して、膵癌幹細胞に特異的に表出している糖鎖 H type3 とそれに反応するレクチン rBC2 を同定し、このレクチンを緑膿菌外毒素(PE38)と結合させたレクチン-トキシン融合薬(rBC2-PE38)を開発した。この融合薬は、in vitro での IC50 が従来の抗体-毒素融合薬の約1000倍の殺細胞効果を示し、膵癌細胞株移植モデルだけでなく、ヒト膵癌移植マウスモデルでも極めて高い腫瘍抑制効果、延命効果を示した。この結果から、これまで臨床癌に対する標的とされてこなかった細胞表面の糖鎖を標的とした新規機軸の治療法の開発が期待され、現在前臨床試験へと開発が進められている。

スキルス胃癌と膵癌には、腫瘍内の間質増生が豊富であること、従来の薬物治療に抵抗性であること、予後が極めて不良であること、などの類似する点が多い。この難治癌を克服するために膵癌において知見の得られた癌細胞表面の糖鎖を標的とした新規治療法を開発したいと発案した。

2. 研究の目的

(1) スキルス胃癌の原発巣、及び腹膜播種転移巣に特異的に表出する糖鎖を解析・同定し、その糖鎖と特異的に結合するレクチンを探索する。

(2) スキルス胃癌に特異的な糖鎖、結合レクチンを解明し、そのスキルス胃癌得意的結合性を有するレクチンをドラッグキャリアーとした新規腫瘍標的治療法の基盤的知見を得る。

3. 研究の方法

(1) 胃癌細胞株を用いた網羅的レクチンマイクロアレイ

レクチンマイクロアレイは癌細胞や癌幹細胞などの蛋白抽出液を振りかけると、癌に特異的な糖鎖修飾パターン(グライコフォーム)が判明する。これを用いてスキルス胃癌由来の細胞株と非スキルス胃癌由来の細胞株、合計5種類(KATO-1, NUGC-4, NCI-N87, SNU-1, MKN-45)の細胞表面に表出している糖鎖と結合するレクチンを解析し、スキルス胃癌と非スキルス胃癌の糖鎖発現の差異を検討。

(2) スキルス胃癌標的レクチンと胃癌細胞の結合性評価

レクチンマイクロアレイにより抽出された、スキルス胃癌に親和性の高いレクチンが結合する糖鎖の発現を胃癌細胞株の蛍光染色により評価。

(3) 臨床胃癌検体の免疫染色

手術で採取した臨床胃癌組織検体を用いて、スキルス胃癌親和性レクチンによる免疫染色で、その標的糖鎖の発現を解析。

(4) レクチン・薬物複合体の血液凝集評価

レクチンは細胞を凝集させ、血液凝集を行うことがあるため、レクチン・薬物複合体が生体へ投与可能か血液凝集素反応により評価。

4. 研究成果

(1) スキルス胃癌親和性レクチンの同定
5種類の胃癌細胞株に対してレクチンマイクロアレイを実施し、その中でスキルス胃癌細胞株(KATO-3, NUGC-4)と非スキルス胃癌細胞株での発現の違いを検討した。その結果、スキルス胃癌細胞に親和性の高いレクチン8種類と通常型胃癌細胞株と比較して親和性の低いレクチン11種類が同定された(図1)

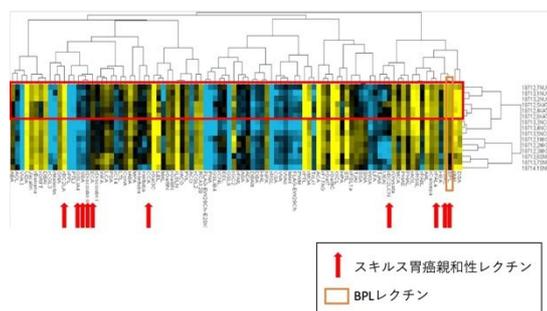


図1：スキルス胃癌特異的レクチンの同定

(2) スキルス胃癌標的レクチンと胃癌細胞の結合性

レクチンマイクロアレイの結果、スキルス胃癌に最も親和性の高い薬剤キャリア候補としてBPLレクチンを選定し、蛍光標識細胞染色(FITC-BPL)および細胞株マウス移植腫瘍の免疫染色で、スキルス胃癌細胞株(NUGC-4)での高い結合性を認めた(図2)

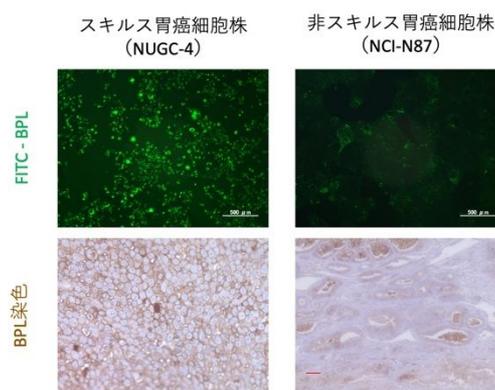


図2：胃癌細胞株とBPLレクチンの結合性

(3) 臨床胃癌検体の免疫染色

臨床手術検体プレパラートを用いたBPL免疫染色ではスキルス胃癌の8割以上で陽性であったが、一方で非スキルス胃癌である分化型胃癌(tub1, tub2)でも陽性であり、細胞株とは異なり組織型間での差異は明らかでなかった(図3)

(4) BPLレクチン・薬物複合体

BPLレクチンとSaporin毒素の複合体を作成した。In vitroにおいてBPL-Saporin複合体の効果はBPL高発現のスキルス胃癌細胞株で強い傾向を認めた。しかし、BPLレクチンの血液凝集検査を施行したところ、O型を除く血液型の血液で凝集反応を認めたことから、BPLレクチンは生体内へ投与することは困難であると判断し、別のスキルス胃癌親和性レクチン(rBC2)を用いた研究を進めることとした。今後検討を重ねていく。

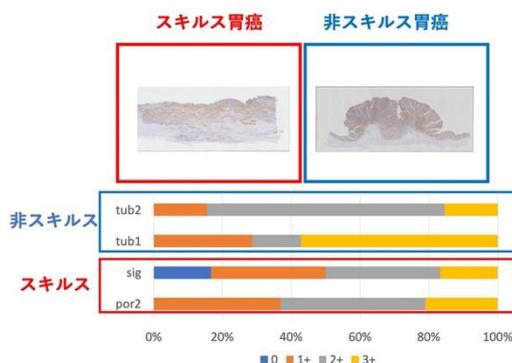


図3：臨床胃癌検体におけるBPL発現

<引用文献>

- 1) Shimomura O, Oda T, et al. A novel therapeutic strategy for pancreatic cancer: targeting cell surface glycan using rBC2LC-N lectin-drug conjugate (LDC). Mol Cancer Ther; 17(1): 2018

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ohara Y, Oda T, Enomoto T, Hisakura K, Akashi Y, Ogawa K, Owada Y, Domoto Y, Miyazaki Y, Shimomura O, Kurata M, Ohkohchi N.	4. 巻 16
2. 論文標題 Surgical resection of hepatic and rectal metastases of pancreatic acinar cell carcinoma (PACC): a case report.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 World J Surg Oncol	6. 最初と最後の頁 1457-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12957-018-1457-8.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki Yoshihiro, Oda Tatsuya, Shimomura Osamu, Enomoto Tsuyoshi, Akashi Yoshimasa, Hisakura Katsuji, Ohara Yusuke, Kimura Sota, Hashimoto Shinji, Ohkohchi Nobuhiro	4. 巻 48
2. 論文標題 Retrocolic Gastrojejunostomy After Pancreaticoduodenectomy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pancreas	6. 最初と最後の頁 579 ~ 584
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MPA.0000000000001295	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kitaguchi Daichi, Oda Tatsuya, Enomoto Tsuyoshi, Ohara Yusuke, Owada Yohei, Akashi Yoshimasa, Furuta Tomoaki, Yu Yang, Kimura Sota, Kuroda Yukihito, Kurimori Ko, Miyazaki Yoshihiro, Furuya Kinji, Shimomura Osamu, Tateno Hiroaki	4. 巻 111
2. 論文標題 Lectin drug conjugate therapy for colorectal cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4548 ~ 4557
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14687	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa Koichi, Honda Michitaka, Akashi Yoshimasa, Inagawa Satoshi, Kaneda Akinao, Hori Soshi, Owada Yohei, Ohara Yusuke, Hisakura Katsuji, Enomoto Tsuyoshi, Shimomura Osamu, Takahashi Kazuhiro, Oda Tatsuya	4. 巻 25
2. 論文標題 Comparison of 2- and 4-week S-1 administration as adjuvant chemotherapy for advanced gastric cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 1807 ~ 1813
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-020-01719-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shimomura Osamu, Oda Tatsuya, Hashimoto Shinji, Doi Manami, Hiroshima Yuichi, Numajiri Haruko, Takahashi Kazuhiro, Furuya Kinji, Miyazaki Yoshihiro, Owada Yohei, Ogawa Koichi, Ohara Yusuke, Hisakura Katsuji, Akashi Yoshimasa, Enomoto Tsuyoshi, Sakurai Hideyuki	4. 巻 37
2. 論文標題 Survival impact on triple-modal strategy comprising hyperthermia, external radiation, and chemotherapy for unresectable locally advanced (UR-LA) pancreatic ductal adenocarcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 101542 ~ 101542
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.suronc.2021.101542	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 小川光一、明石義正、久倉勝治、榎本剛史、大原佑介、大和田洋平、小田竜也、大河内信弘
2. 発表標題 上部胃癌との比較による食道胃接合部腺癌の臨床病理学的特徴
3. 学会等名 第90回日本胃癌学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 明石義正、小川光一、久倉勝治、榎本剛史、大原佑介、大和田洋平、小田竜也、大河内信弘
2. 発表標題 体組成計測定データからみた胃癌術後のQOL評価
3. 学会等名 第90回日本胃癌学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 明石義正、小川光一、久倉勝治、榎本剛史、大原佑介、大和田洋平、小田竜也、大河内信弘
2. 発表標題 胃GISTに対する治療戦略
3. 学会等名 第118回日本外科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 明石義正、小川光一、久倉勝治、榎本剛史、大原佑介、大和田洋平、小田竜也、大河内信弘
2. 発表標題 網嚢と腸間膜根をランドマークとした高度肥満症例に対する腹腔鏡下胃切除6番リンパ節郭清
3. 学会等名 第73回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小川光一、明石義正、久倉勝治、榎本剛史、大原佑介、大和田洋平、小田竜也、大河内信弘
2. 発表標題 胃癌ESD後追加切除における至適術式の検討
3. 学会等名 第73回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堂本優、明石義正、小川光一、久倉勝治、榎本剛史、大原佑介、大和田洋平、小田竜也、大河内信弘
2. 発表標題 胃切除後の重症膵液瘻予測におけるドレーンアミラーゼ積算値の有用性
3. 学会等名 第73回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 明石義正、小川光一、久倉勝治、榎本剛史、大原佑介、大和田洋平、小田竜也、大河内信弘
2. 発表標題 当科における残胃癌症例の特徴と治療成績
3. 学会等名 第48回胃外科術後障害研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小川光一、明石義正、久倉勝治、榎本剛史、大原佑介、大和田洋平、小田竜也、大河内信弘
2. 発表標題 生体インピーダンス法による内臓脂肪レベルを用いた胃癌術後膵液瘻の簡便な予測法
3. 学会等名 第48回胃外科術後障害研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 明石義正、小川光一、久倉勝治、榎本剛史、大原佑介、大和田洋平、小田竜也、大河内信弘
2. 発表標題 食道浸潤長からみたGE食道胃接合部癌に対する下縦隔リンパ節郭清の適応
3. 学会等名 第80回日本臨床外科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 明石義正、小川光一、久倉勝治、榎本剛史、大原佑介、大和田洋平、小田竜也、大河内信弘
2. 発表標題 腹腔鏡下噴門側胃切除ダブルトラクト再建の機能温存術式としての意義
3. 学会等名 第31回日本内視鏡外科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 黒田順士、明石義正、小川光一、久倉勝治、榎本剛史、大原佑介、大和田洋平、小田竜也、大河内信弘
2. 発表標題 Traineeにも施行可能な胃粘膜下腫瘍（SMT）に対するTailored surgery
3. 学会等名 第31回日本内視鏡外科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akashi Y, Ogawa K, Hisakura K, Enomoto T, Ohara Y, Shimomura O, Takahashi K, Kurata M, Oda T
2. 発表標題 Surgical navigation of laparoscopic gastrectomy using deformable 3D-CT image.
3. 学会等名 International Gastric Cancer Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 明石義正、小川光一、久倉勝治、榎本剛史、大原佑介、大和田洋平、下村治、高橋一広、倉田昌直、小田竜也
2. 発表標題 Validity of guideline-oriented treatment strategy for elderly gastric cancer patients.
3. 学会等名 第91回日本胃癌学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 明石義正、小川光一、久倉勝治、榎本剛史、大原佑介、大和田洋平、下村治、高橋一広、倉田昌直、小田竜也
2. 発表標題 傾向スコア法を用いた腹腔鏡下幽門側胃切除術の予後に対する検証
3. 学会等名 第74回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 明石義正、小川光一、久倉勝治、榎本剛史、大原佑介、大和田洋平、下村治、高橋一広、倉田昌直、小田竜也
2. 発表標題 腹腔鏡手術は胃切除術後のイレウスを低減させるか
3. 学会等名 第32回日本内視鏡外科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 明石義正、小川光一、久倉勝治、榎本剛史、大原佑介、大和田洋平、下村治、高橋一広、小田竜也
2. 発表標題 胃粘膜下腫瘍に対する腹腔鏡下胃局所切除術の手術難易度スコア
3. 学会等名 第120回日本外科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 明石義正、小川光一、久倉勝治、榎本剛史、大原佑介、大和田洋平、下村治、高橋一広、小田竜也
2. 発表標題 患者年齢が胃癌の予後に与える影響
3. 学会等名 第74回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 明石義正、小川光一、久倉勝治、榎本剛史、大原佑介、大和田洋平、下村治、高橋一広、小田竜也
2. 発表標題 Comparison of reconstruction methods after proximal gastrectomy in post-surgical body weight loss.
3. 学会等名 第33回日本内視鏡外科学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 寺田弘、金保安則、原晃 他	4. 発行年 2019年
2. 出版社 オーム社	5. 総ページ数 709
3. 書名 Common Diseaseの病態生理と薬物治療	

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------