

平成 21 年 6 月 26 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19591551

研究課題名（和文） 胃癌の発生と進展における癌幹細胞の意義

研究課題名（英文） Significance of cancer stem cells on tumor development and progression of human gastric cancer

研究代表者

寺島 雅典（TERASHIMA MASANORI）

静岡県立静岡がんセンター（研究所）・胃外科・部長

研究者番号：40197794

研究成果の概要：

近年、固形癌においても癌幹細胞が存在する可能性が指摘されているが、ヒト胃癌では未だ同定されていない。そこで、本研究では、胃癌において癌幹細胞を同定しその意義を明らかにする事を目的とした。まず始めに、幹細胞としての特質の一つであるソニックヘッジホグ（SHH）経路に関連する分子の発現と臨床病理学的因子との関連について検討した。その結果、SHHは分化型の胃癌で強い発現を認めた。また分化型の胃癌においては、SHHと結合するpatched-1（PTCH1）発現の強い症例では生存期間の短縮が認められた。従って、PTCH1は胃癌において重要な予後予測因子となる事が示唆された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：胃癌、癌幹細胞、細胞増殖、sHH、PTCH-1

1. 研究開始当初の背景

近年、固形癌においても癌幹細胞が存在する可能性が指摘されており（J Burket et al. J Pathol 2006, 209: 287-297）、胃癌においても骨髓造血幹細胞由来の細胞が組織修復、発癌に関与している事がマウスモデルにより証明されている（LM Houghton, et al. Science 20004, 306: 1568-1571）。臨床の場においても、化学療法が極めて良く奏効した後には再増殖してくる腫瘍や、根治切除後長期間を経てから再発の認められる症例を少なからず経験するが、これらの腫瘍は増殖速度

が遅いと考えられている癌幹細胞に由来している可能性が示唆されている（R Pardal, et al. Nat Rev Cancer 2003; 3: 895-902）。しかし、ヒト胃癌における癌幹細胞は未だ同定されておらず、その生物学的意義に関しても解明されていない。

我々は胃癌における造血幹細胞由来細胞の存在に関して検討する目的で、造血幹細胞の自己複製に関与する蛋白である HIWI の発現に関して検討したところ、HIWI の発現は分化型癌で認められ進行と共に低下する事から、分化型癌の発癌に関与している可能性が

示唆された（第 65 回日本癌学会で報告）。

また、前腸に關与する内胚葉幹細胞に発現している embryonic liver fodrin (ELF) の発現に関しても検討したところ、ELF の発現はリンパ節転移が進むほど低下し、陰性例で有意に予後が不良である事から、ELF は胃癌において癌抑制的に作用している可能性が示唆された。

更に、幹細胞の自己複製に關与する sonic Hedgehog (SHH) 経路に關して SHH、Patched (PTCH 1)、Smoothed (SMO) の発現に關して検討したところ SHH の発現と術後生存期間との間に有意な關連が得られた。

これらの研究を通じて、胃癌において癌幹細胞そのものは同定できていないものの、幹細胞の特徴を有する細胞が存在する事、これらの細胞が胃癌の発生と進展に關与している可能性が示唆された。

2. 研究の目的

本研究では、胃癌において癌幹細胞を同定しその臨床病理学的意義並びに生物学的特質を明らかにする事を目的とする。

勿論、臨床検体から癌幹細胞そのものを同定・分離することは現時点では困難と考えられるので、まず始めに、幹細胞としての特徴を有していると考えられる細胞の同定と臨床病理学的因子との關連について検討する。即ち、これまで検討してきた SHH 経路のみならず、正常幹細胞の自己複製に關与すると考えられている Wnt 経路、Notch 経路、Bmi1 等の発現様式に關して tissue array を用いて網羅的に解析する。胃癌組織のみならず正常粘膜、腸上皮化生においても検討を加える事により、癌幹細胞の胃癌発生に關する意義について検討が可能となるものと思われる。また、臨床病理学的因子や生存期間と比較する事により、胃癌の進展・増殖における癌幹細胞の關与並びに意義が明確になるものと思われる。

また、これと平行して癌幹細胞の生物学的特質を明らかにする目的で、胃癌培養細胞株から幹細胞を多く含むとされている side population (SP)細胞を分離し、この細胞集団における上記蛋白や抗癌剤感受性關連分子の発現並びに抗癌剤に対する感受性について *in vitro*、*in vivo* の系を用いて検討する。更に、*in vitro* の系において転移モデルを作成し、微小転移における癌幹細胞の關与に關しても検討する。

更に、探索的研究として癌幹細胞を治療標的とした分子標的治療や、癌幹細胞に特有な抗原を利用した特異的細胞免疫療法の可能性についても検討し、次世代の癌治療における癌幹細胞の有用性を明らかにする。

3. 研究の方法

1).胃癌切除組織における癌幹細胞關連分子発現に關する免疫組織学的検討

過去 4 年間の胃癌切除例 138 例を対象として、癌部、腸上皮化生部、正常部から組織を採取し、sHH 経路の幹細胞自己複製關連分子 (SHH、PTCH1、SMO、GLI) の発現に關して免疫組織染色にて検討する。

2).胃癌切除組織における癌幹細胞關連分子の mRNA 発現に關する検討

上記の症例中 41 例を対象として、癌部、非癌部から組織を採取し RNA を抽出後、上記の分子の発現に關して real-time RT-PCR の手法により、mRNA の発現に關しても定量的に測定する。

3).各分子の発現動態と臨床病理学的因子、生存期間との關連について検討し、胃癌の発生・増殖・進展に關与していると思われる分子を同定する。

4. 研究成果

1).胃癌切除組織における癌幹細胞關連分子発現に關する免疫組織学的検討

SHH の発現は正常粘膜で 45 例 (37.8%)、癌部で 94 例 (73.4%) に認められた。PTCH1 の発現は正常粘膜で 38 例 (32.2%)、癌部で 53 例 (41.7%) に認められた。SMO の発現は正常粘膜で 54 例 (45.8%)、癌部で 50 例 (39.4%) に認められた。SHH、PTCH1 ともに正常上皮では限局性に弱い発現を認めるのみであったが、癌組織においては瀰漫性に強い発現が認められた。SMO は癌部に比し、正常粘膜で強い発現が認められた。

SHH は未分化型胃癌に比べ分化型胃癌で強い発現を認めた。また分化型胃癌においては、PTCH1 発現強陽性症例は発現陰性・弱陽性症例に比べ優位に生存期間が短縮していた。

分化型胃癌における多変量解析では PTCH1 の発現とリンパ節転移が独立した予後因子であった。SHH、SMO の発現と臨床病理学的因子および生存期間との間には明らかな關連を認めなかった。

2).胃癌切除組織における癌幹細胞關連分子の mRNA 発現に關する検討

PTCH1 は癌部で有意に高発現していた、SHH、SMO、GLI1 の発現には癌部と非癌部で有意な差を認めなかった。

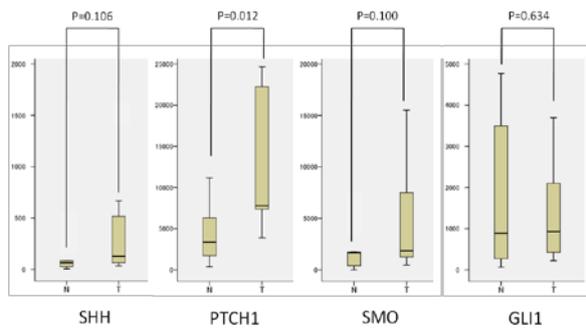


図1. 癌部、非癌部における各分子 mRNA の発現

各分子の発現と臨床病理学的因子との関連について検討すると、PTCH1 の発現は未分化型癌、髄様性の増殖様式をとるもの、洗浄細胞診陽性例で有意に高い発現が認められて、同様に、SMO では髄様性の増殖様式をとるもの、腹膜播種陽性例で、GLI1 では未分化型癌、髄様性の増殖様式をとるもので高発現が得られた。

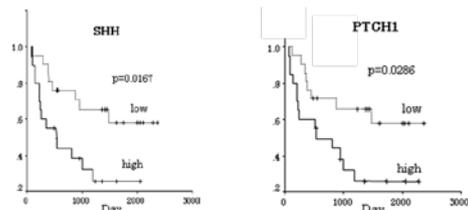


図2. SHH、PTCH1 発現による術後生存期間の比較

各分子の発現と生存期間との比較では、SMO と GLI1 では有意な関連を認めなかったが、SHH、PTCH1 では発現の高い症例において有意に生存期間が短縮していた。

更に、各臨床病理学的因子と、SHH 経路関連分子を共変量として多変量解析を施行したところ、肝転移と PTCH1 が有意な独立した予後因子として選択された。

以上の検討から、胃癌において SHH 経路は癌の進展に重要な役割を果たしており、予後予測因子として有用と思われた。

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 7 件)

- 1) Soeta N, Terashima M, Gotoh M, Mori S, Nishiyama K, Ishioka K, Kaneko H, Suzutani T. An improved rapid quantitative detection and identification method for a wide range of fungi. J Med Microbiol. 査読有り、2009、掲載予定
- 2) Ohtani S, Terashima M, Satoh J, Soeta

N, Saze Z, Kashimura S, Ohnaka F, Hoshino Y, Kogure M, Gotoh M. Expression of tight-junction-associated proteins in human gastric cancer: downregulation of claudin-4 correlates with tumor aggressiveness and survival. Gastric Cancer. 査読有り、12、2009、43-51.

3) Kogure M, Kashimura S, Matsuyama S, Ohtani S, Saze Z, Odashima Y, Saitoh T, Soeta N, Osuka F, Hoshino Y, Saito T, Terashima S, Terashima M, Gotoh M. Prognostic role of immunosuppressive acidic protein in patients with esophageal cancer. Dis Esophagus. 査読有り、21、2008、214-9.

4) 寺島雅典、フッ化ピリミジンと遺伝子多型、癌と化学療法、査読有り、35、2008、1101-1104.

5) Hoshino Y, Terashima S, Teranishi Y, Terashima M, Kogure M, Saitoh T, Osuka F, Kashimura S, Saze Z, Gotoh M. Ornithine decarboxylase activity as a prognostic marker for colorectal cancer. Fukushima J Med Sci. 査読有り、53、2007、1-9.

6) Katsube T, Ogawa K, Ichikawa W, Fujii M, Tokunaga A, Takagi Y, Kochi M, Hayashi K, Kubota T, Aiba K, Arai K, Terashima M, Kitajima M. Phase I/II study of irinotecan (CPT-11) and S-1 in the treatment of advanced gastric cancer. Anticancer Drugs. 査読有り、18、2007、605-10.

7) 寺島雅典ほか、欧米とわが国における標準治療の違い。癌と化学療法、査読有り、34、2007、694-699

[学会発表] (計 2 件)

- 1) 佐瀬善一郎、寺島雅典ほか、胃癌における Sonic hedgehog pathway 活性化の臨床病理学的検討、第 67 回日本癌学会、2008 年 10 月 28 日、名古屋
- 2) 佐瀬善一郎、寺島雅典ほか、胃癌における sonic hedgehog pathway の臨床的意義、第 66 回日本癌学会、2007 年 10 月 5 日、横浜市

[図書] (計 2 件)

- 1) 寺島雅典、ヴァンメディカル、胃癌診療と化学療法 (分担執筆)、2008、207
- 2) 寺島雅典、日本メディカルセンター、消化器がん化学療法 (分担執筆)、2008、316

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)
特記すべき事無し

○取得状況 (計 件)
特記すべき事無し

〔その他〕
特記すべき事無し

6. 研究組織

(1) 研究代表者

寺島 雅典

静岡県立静岡がんセンター・その他部局・研究員

40197794

(2) 研究分担者

後藤 満一

福島県立医科大学・医学部・教授

50162160

木暮 道彦

福島県立医科大学・医学部・講師

90264548

星野 豊

福島県立医科大学・医学部・講師

30295414

大須賀 文彦

福島県立医科大学・医学部・助教

80404870

檜村 省吾

福島県立医科大学・医学部・助教

80398346

望月 徹

静岡県立静岡がんセンター・その他部局・研究員

00117780

大島 啓一

静岡県立静岡がんセンター・その他部局・研究員

10399587

(3) 連携研究者

なし