

機関番号：13201

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21791274

研究課題名（和文）食道がんおよび胃癌における腫瘍幹細胞と骨髄由来細胞の相互作用の解析

研究課題名（英文）Relationship between cancer stem cells and bone marrow derived cells in esophageal and gastric cancer

研究代表者 奥村 知之 (Okumura Tomoyuki)
富山大学大学院医学薬学研究部 助教

研究者番号：10533523

研究成果の概要（和文）：胃癌および食道癌における腫瘍幹細胞と間質細胞の関係を示した。

研究成果の概要（英文）：interaction between cancer stem cells and mesenchymal cells in esophageal and gastric cancer

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：消化器外科学

キーワード：胃癌，食道癌，幹細胞，骨髄

1. 研究開始当初の背景

食道癌や胃癌をはじめとする消化器癌においては手術を中心として化学療法や放射線療法を組み合わせた集学的治療の進歩によってもいまだに進行再発症例の予後は不良であり最新の腫瘍生物学の知見に基づいた新たな治療法の開発が必要である。

2. 研究の目的

消化器癌における腫瘍幹細胞と骨髄由来細胞との相互作用による腫瘍幹細胞の制御機構の解明

3. 研究の方法

食道癌および胃癌症例における原発巣および転移巣切除標本における腫瘍幹細胞および骨髄間葉系幹細胞マーカーの発現を検討し、p75NTR、CD44、IL-4、IL-6およびマイクロアレイにて探索する新規標的分子に

対する分子伝達経路阻害による転移抑制効果を免疫不全マウスへの腫瘍細胞および骨髄由来相棒の移植実験によって示す。

4. 研究成果

食道癌幹細胞について、免疫組織化学およびフローサイトメトリーを用いた検討から食道扁平上皮癌においてALDH-1がp75NTR陽性細胞に含まれる少数分画で発現していることを確認した。食道癌組織標本を用いたp75NTR陽性および陰性症例におけるmiRNAの発現をマイクロアレイを用いて検討したところ、陽性症例において高発現しているものとして幹細胞関連miRNAとして報告されているLet7やmir143とともにmir1247が新規に抽出され、陽性症例において低発現なものとしてmir203やmir634が抽出された。さらに食道癌細胞株を用いてp75NTR高発現株(KYSE790)および低発現株(KYSE50)における上記miRNAの発現変動を

確認した。さらに ALDH-1 陽性症例で強発現している miRNA として Let7 や mir371, mir181 に加えて新規に mir943 や mir887 が抽出された。現在、ベクター導入によってこれら miRNA の発現を制御した食道癌細胞株を作製し発癌や転移に関わる機能解析を進めている。胃癌幹細胞について、胃癌切除検体から作製した組織アレイを用いて幹細胞マーカー (p75NTR, CD44, ALDH-1, LGR5, CD133) の発現を検討し ALDH-1 が有用である可能性を示した。ヒト胃癌切除組織および胃癌細胞株 MKN45 および NUGC4 において CD44/ALDH-1 発現細胞が存在することを確認しており、現在ヒト胃癌細胞株を用いて CD44/ALDH-1 発現細胞の分離および幹細胞形質の解析を進めている。さらにヒト胃癌細胞株 MKN45 および NUGC4 をヒト胃癌切除標本から採取した線維芽細胞とともに免疫不全マウス皮下および腹腔内へ移植したところ、胃癌細胞株単独移植群に比べて供移植群でより大きな腫瘍を形成し、免疫組織学的検討では ALDH-1/CD44 発現細胞および alpha SMA 陽性 CAF の増加を認めた (未発表)。また間葉系幹細胞マーカー (STRO-1, vimentin, alphaSMA) の発現を検討し癌部での alphaSMA 発現亢進を示した (未発表)。骨髄由来間葉系幹細胞 MSC を培養し腫瘍細胞との相互作用について免疫不全マウスへの移植実験によって確認中である。

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 4 件)

- ① Okumura T, Ericksen RE, Takaishi S, Wang SS, Dubeykovskiy Z, Shibata W, Betz KS, Muthupalani S, Rogers AB, Fox JG, Rustgi AK, Wang TC. K-ras mutation targeted to gastric tissue progenitor cells results in chronic inflammation, an altered microenvironment, and progression to intraepithelial neoplasia. *Cancer Research*, 査読あり 70(21) 8435-45, 2010
 - ② Okumura T, Wang SW, Takaishi S, Tu S, Ericksen R, Rustgi AK, and Wang TC Identification of a bone marrow-derived mesenchymal progenitor cell subset that can contribute to the gastric epithelium. *Laboratory Investigation* 査読あり 89(12) 1410-22. 2009
 - ③ Wang SS, Asfaha S, Okumura T, Betz KS, Muthupalani S, Rogers AB, Tu S, Takaishi S, Jin G, Yang X, Wu DC, Fox JG, Wang TC. Fibroblastic colony-forming unit bone marrow cells delay progression to gastric dysplasia in a helicobacter model of gastric tumorigenesis. *Stem Cells*. 査読あり 27(9) 2301-11 2009
 - ④ Takaishi S, Okumura T, Tu S, Wang SW, Shibata W, Vigneshwaran R, Gordon AK S, Shimada Y, and Wang TC Identification of gastric cancer stem cells using the cell surface marker CD44 *Stem Cells* 査読あり 27 1006-1020, 2009
- [学会発表] (計 7 件)
- ① Tomoyuki Okumura, Yutaka Shimada, Soshi Osawa, Shinich Sekine, Ryota Hori, T Omura, Makoto Moriyama, Koshi Matsui, Isaku Yoshioka, Syojo Hojyo, Shigeaki Sawada, Toru Yoshida, Takuya Nagata Hideyuki Uotani, Junya Hukuoka, Kazuhiro Tsukada Identification of aldehyde dehydrogenase (ALDH) -1/CD44 double positive cells in gastric cancer. The 9th International Gastric Cancer Congress April 22, 2011, Seoul, Korea
 - ② 奥村知之、嶋田 裕、大澤宗士、関根慎一、堀 亮太、大村哲也、森山亮仁、松井恒志、吉岡伊作、澤田成朗、吉田徹、長田拓哉、魚谷英之、福岡順也、塚田一博 胃癌組織における幹細胞マーカー CD44 および ALDH-1 の発現 第 83 回日本胃癌学会総会 2011 年 3 月 5 日 青森県三沢市
 - ③ 奥村知之、嶋田 裕、Russell Ericksen、Sophie Wang、高石繁雄、Timothy Wang、塚田一博 k19-kras マウス胃癌モデルにおける DCAMKL-1 および LGR-5 発現細胞の役割 第 83 回日本胃癌学会総会 2011 年 3 月 5 日 青森県三沢市
 - ④ 奥村知之、嶋田裕、大澤宗士、関根慎一、神山公希、堀亮太、澤田成明、吉田徹、長田拓哉、魚谷英之、塚田一博 低親和性神経成長因子受容体 (p75NTR) を標的とした食道癌治療の可能性 第 21 回日本消化器癌発生学会総会 2010 年 11 月 18 日 軽井沢
 - ⑤ 奥村知之、嶋田裕、大澤宗士、関根慎一、澤田成朗、長田拓哉、福岡順也、

塚田一博 胃癌における ALDH-1 の発現と
その意義 第 69 回日本癌学会学術総会 2010
年 9 月 22 日 大阪

⑥ Tomoyuki Okumura, Yutaka Shimada,
Soshi Osawa, Shinichi Sekine,
Makoto Moriyama, Kazuhiro Tsukada
Expression of miRNAs in p75NTR
positive esophageal squamous cell
carcinoma The 12th World Congress
of the International Society for
Diseases of Esophagus September
4th, 2010 Kagoshima, Japan

⑦ 奥村知之、嶋田裕、大澤宗土、関根慎一、
吉岡伊作、澤田成朗、吉田徹、長田拓哉、
塚田一博 p75NTR 陽性食道扁平上皮癌
細胞で発現している micro-RNA の探索
第 65 回日本消化器外科学会総会 2010
年 7 月 14 日 下関

6. 研究組織

(1) 研究代表者

奥村 知之 (Okumura Tomoyuki)
富山大学大学院医学薬学研究部 助教
研究者番号：10533523

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：