

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月13日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22591423

研究課題名（和文）癌転移臓器の幹細胞ニッチを標的としたホスト環境の外科的制御に関する  
基盤研究研究課題名（英文）The responsiveness of ALDH1-positive cells to chemotherapy in metastatic  
lesions and its prognostic significance in patients with breast cancer

研究代表者 榊原 雅裕 (MASAHIRO SAKAKIBARA)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70375632

研究成果の概要（和文）：本研究において、乳癌の主病巣および転移巣の ALDH1 陽性癌幹細胞の化学療法に対する奏功性と予後の関係が明らかとなった。さらに ALDH1 陽性癌幹細胞は進行性乳癌患者における新しいコンセプトを持ったサロゲートマーカーとなることが示唆された。本研究の成果は、乳癌に対する新しいコンセプトの化学療法の開発に寄与するだけでなく、腫瘍内の小集団を標的とする治療、つまり手術不能の乳癌に対する外科治療の基礎となることが期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, the responsiveness of ALDH1-positive cells to chemotherapy in primary and metastatic lesions and its associated prognostic significance were revealed in patients with breast cancer. ALDH1-positive cells may represent a surrogate marker as a new concept in patients with lymph node-positive breast cancer. In the future, ALDH1-positive cells may be used for diagnosis and treatment, and these cell populations could be targeted in the development of new chemotherapies. We hope that our results will provide basic data for therapies targeting cell subpopulations in tumors, rather than the whole body, in patients with noncurable, metastatic breast cancer.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・一般外科学

キーワード：乳腺外科学

### 1. 研究開始当初の背景

これまでに早期乳癌に対する根治的な治療法が確立してきたが、転移性乳癌には有効な根治治療が存在しなかった。転移性乳癌の難治性、つまり薬物抵抗性を構成する因子の一つとして癌幹細胞が注目されていた。ただし癌幹細胞の転移は臨床的に証明されていなかった。また治療に直結する癌幹細胞の転移巣での化学療法耐性を司るニッチも解明されていないのが当時の現状であった。

### 2. 研究の目的

本研究は難治性の乳癌に対する新規外科治療の構築のために以下の項目をその目的とした。

(1) 乳癌転移巣（臨床検体）における癌幹細胞転移の化学療法抵抗性への関連の証明

(2) 癌幹細胞転移の化学療法抵抗性に関与するニッチの同定

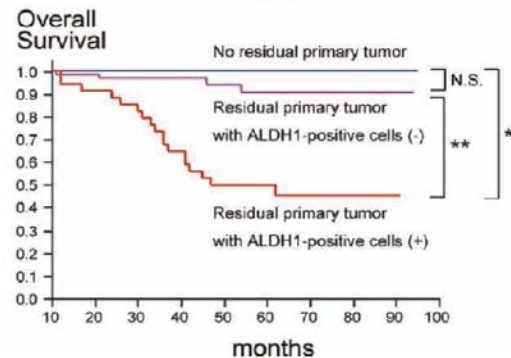
### 3. 研究の方法

本研究の目的に対して、病理学的手法により乳癌転移巣（臨床検体）における癌幹細胞転移の化学療法抵抗性を解析し、さらにプロテオミクス解析の方法を用いて癌幹細胞転移の化学療法抵抗性に関与するニッチの同定を試みた。

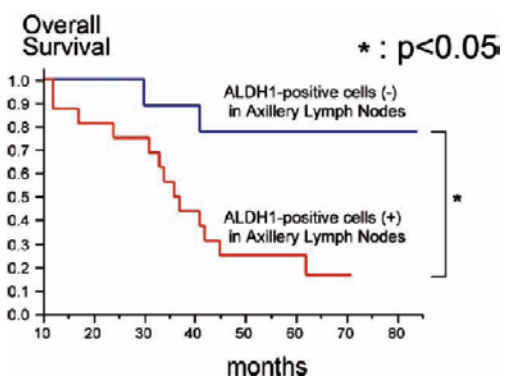
### 4. 研究成果

(1) 乳癌腋窩リンパ節の臨床検体におけるALDH1 陽性癌幹細胞転移を解析するために、術前化学療法症例の術前の腋窩リンパ節の細胞診検体と術後病理検体を用いてALDH1の免疫染色を行った。化学療法後のALDH1 陽性癌幹細胞およびALDH1 陰性癌細胞の残存と生存率の関係を下図に示す。化学療法後にALDH1 陽性癌幹細胞が残存する症例の予後は不良であった。特に注目すべきは化学療法後

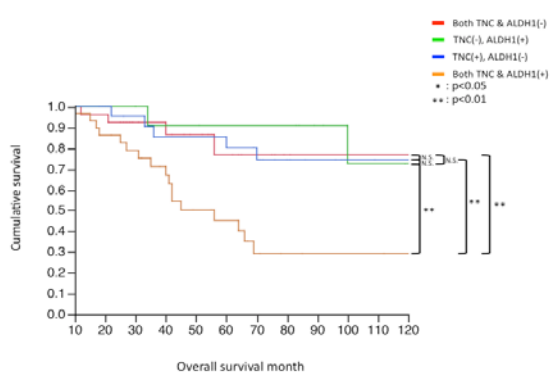
にALDH1 陽性癌幹細胞が存在しない症例、つまりALDH1 陰性癌細胞のみが残存する症例の生存率は癌細胞が化学療法により消失した症例と同等であった。ALDH1 陽性癌幹細胞転移の臨床的意義が強く証明される結果であった。



(2) ALDH1 陽性癌幹細胞の化学療法抵抗への直接的な関与を観察するために、化学療法前の腋窩リンパ節にALDH1 陽性癌幹細胞の存在が証明されている症例のみを用いて、化学療法後のALDH1 陽性癌幹細胞の消失と残存を解析した。これまでALDH1 陽性癌幹細胞が存在すれば化学療法抵抗性によりほとんどが残存すると考えられてきたが、我々の結果では転移巣では約30%の症例でALDH1 陽性癌幹細胞が化学療法で消失することが初めて確認された。さらに消失した症例の予後が良好であることも初めて観察された（下図）



(3)乳癌転移巣における癌幹細胞ニッチを同定するためにセンチネルリンパ節に転移のない患者と微小転移を持つ患者との間でプロテオミクス解析を行った。プロテオミクスの結果、数多くの細胞外マトリックスの増減が確認された。増幅の最も強いタンパクはテネイシンCであった。我々は転移のごく初期の段階で増強するテネイシンCを癌幹細胞転移のニッチと仮説し、臨床検体を用いてその検証を行った。ALDH1 とテネイシンCの二重染色において乳癌リンパ節転移巣におけるALDH1 陽性癌幹細胞転移の残存例の中でテネイシンCが共存する症例と共存しない症例が存在した。ALDH1 陽性癌幹細胞転移とテネイシンCの共存症例の予後は極めて悪かったが、対照的にテネイシンCの共存のないALDH1 陽性癌幹細胞転移の予後は良好であった（下図）。化学療法前にALDH1 陽性癌幹細胞の存在が証明されている症例のみを用いてテネイシンCを評価すると、興味深いことにテネイシンCの共存症例ではALDH1 陽性癌幹細胞の高い化学療法抵抗性が観察され、これとは対照的にテネイシンCの非共存症例ではALDH1 陽性癌幹細胞の消失が有意に高かった。



本研究において乳癌におけるALDH1 陽性癌幹細胞転移の臨床的意義、特にALDH1 陰性癌細胞との違いが明確となった。ALDH1 陽性癌幹

細胞転移の化学療法奏功と抵抗性が予後に直結することも明らかとなった。そしてその化学療法抵抗性に直接的に関与するニッチとしてテネイシンCが有力視された。テネイシンCは乳癌転移巣におけるALDH1 陽性癌幹細胞の化学療法抵抗性に関与することが明らかとなり、外科治療および薬物治療の標的としての可能性が強く示唆される結果であった。

## 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2件)

1. Masahiro Sakakibara, Toshihiko Fujimori, Tetsutaro Miyoshi, Takeshi Nagashima, Hiroshi Fujimoto, Hiroshi Tiberu Suzuki, Yohsuke Ohki, Koya Fushimi, Jissei Yokomizo, Yukio Nakatani and Masaru Miyazaki

ALDH1-positive cells in axillary lymph node metastases after chemotherapy as a prognostic factor in patients with node-positive breast cancer

*Cancer*. 2012 15;118(16):3899-910

## 2. 藤森俊彦、榑原雅裕

幹細胞マーカーALDH1 とリンパ節転移

増刊日本臨床 乳癌 (第2版)

-基礎と臨床の最新研究動向 454-459, 2012

[学会発表] (計2件)

1. リンパ節転移陽性乳癌における制御性T細胞を用いたセンチネルリンパ節単独での腋窩ステージング

日本臨床外科学会

平成23年11月(東京)

2. 癌幹細胞マーカーALDH1 を用いた乳癌術  
前加療の分子生物学的効果検証

日本癌治療学会

平成 22 年 10 月（京都）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

榑原 雅裕 (MASAHIRO SAKAKIBARA)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70375632

(2) 研究分担者

長嶋 健 (TAKESHI NAGASHIMA)

千葉大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：60292710

宮崎 勝 (MASARU MIYAZAKI)

千葉大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：70166156