

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591954

研究課題名(和文)食道癌幹細胞を標的とした新しい集学的治療体系の確立

研究課題名(英文)The study of novel prognostic marker and therapeutic target in esophageal squamous cell carcinoma patients

研究代表者

奥村 浩 (Okumura, Hiroshi)

鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・講師

研究者番号：10398282

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：食道癌幹細胞マーカー候補因子としてCYHR1 (cysteine/histidine-rich1)を同定した。食道癌細胞株によるCYHR1遺伝子の減弱は、癌細胞の増殖能低下、浸潤能低下を引き起こし、マウス皮下における腫瘍形成能を低下させた。また、ヒト食道癌組織におけるCYHR1 mRNA発現の検討では、高発現群がリンパ節転移を高率に有し、生存率が有意に低く、腫瘍深達度、リンパ節転移、病期などの因子を含めた変量解析において、独立した予後因子であった。以上の結果からCYHR1は、食道癌における新規予後因子マーカーのみならず、治療ターゲットとなりうる因子であることが示された。

研究成果の概要(英文)：CYHR1 (cysteine/histidine-rich1) was first discovered in a yeast two-hybrid screen with murine galectin-3, and there have been no previous reports of a relationship between the CYHR1 gene and human cancer. The present study evaluated the role and significance of CYHR1 in esophageal cancer. CYHR1 is associated with proliferation, invasion and tumorigenicity in esophageal cancer cells. The expression of CYHR1 mRNA is associated with lymph node metastasis and stage, and it is an independent prognostic factor in patients with esophageal cancer. CYHR1 is not only a prognostic marker for esophageal squamous cell carcinoma patients but also a possible therapeutic target.

研究分野：腫瘍外科学

キーワード：食道癌 癌遺伝子 予後因子 治療ターゲット

1. 研究開始当初の背景

本研究は、食道癌幹細胞を標的とした新しい集学的治療体系を確立することを目的とする。近年、癌の治療抵抗性に癌幹細胞の存在が理解されるようになってきた。癌幹細胞は自己複製能と、多分化能を持ち、転移、再発、薬剤耐性、放射線耐性などに関わる治療抵抗性細胞である。癌幹細胞を標的とする治療法の開発は癌の治療成績を飛躍的に進歩させるものとして期待されている。

2. 研究の目的

本研究では食道癌幹細胞の性質を明らかにし、感受性因子として食道癌集学的治療の臨床応用に発展させることを念頭に置いて、以下の事項を明らかにすること目的とする。

(1) 癌幹細胞のマーカー因子の同定およびその因子のシグナル経路および治療抵抗性のメカニズム解明

(2) 癌幹細胞マーカーによる治療感受性症例の予測および治療抵抗性症例に対する治療法の開発

3. 研究の方法

(1) 食道癌細胞を用いて幹細胞の特長であるスフェア形成能を調べる。スフェア形成細胞と親株で、EMT マーカーおよび間葉系マーカーの発現確認、DNA マイクロアレイを行い、癌幹細胞のマーカー因子の同定を行う。

(2) 癌幹細胞のマーカーと同定された因子の機能解析を行う。増殖能、浸潤能および腫瘍形成能の違いを検討する

(3) 組織検体を用いたマーカー発現による奏功例、非奏功例の予測確認：現在までに化学放射線療法後切除された症例の術前生検組織および切除標本の残存がん細胞において最も幹細胞マーカーとして有力な因子の遺伝子および蛋白発現を、治療前生検組織を用いて real-time RT-PCR 法および免疫染色法により確認し、術前化学放射線療法の効果と対比する。

4. 研究成果

2 種類の食道癌幹細胞マーカー候補因子および 7 種類の治療感受性因子を同定することができた。

(1) 特に良好なデータを示すことができた因子は、CYHR1 (cysteine/histidine-rich1)であった。食道癌細胞株による増殖能、浸潤能評価を含めた機能解析を行い、ノックアウト細胞の樹立による親株との比較実験、マウス背部への腫瘍細胞移植による腫瘍形成能の評価を行い、極めて重要な結果を得ることができた。食道癌細胞株による CYHR1 遺伝子の減弱は、癌細胞の増殖能低下、浸潤能低下を引き起こし、マウス皮下における腫瘍形成能を低下させた。また、ヒト食道癌組織における CYHR1 mRNA 発現の検討では、高発現群がリンパ節転移を高率に有し、生存率が有意に低く、腫瘍深達度、リンパ節転移、病期な

どの因子を含めた多変量解析において、独立した予後因子であることを解明した。以上の研究成果については、論文作成を行い投稿中である。

(2) 次に、組織の発生や分化に関わる重要な転写因子のひとつである SOX9 が同定され、食道扁平上皮癌における SOX9 の発現に関する検討を行った。癌部と非癌部の凍結組織を用いて RT-PCR による SOX9 の mRNA 発現を評価し、臨床病理学的因子および予後との関連性について検討したところ、非癌部での高発現はリンパ管侵襲と有意に関連し非癌部高発現群は有意に予後不良であった。さらに、非癌部および癌部高発現である症例は特に予後不良であったことから、SOX9 の発癌への関係、高悪性度癌の発生母地としての意義があるのではないかと推測され、現在論文を作成中である。

(3) また、食道癌患者の組織標本における治療感受性因子および耐性因子発現と、治療前効果予測に対する研究においては、癌抑制遺伝子産生蛋白 p53、遺伝子修復因子 p53R2、ERCC1、細胞周期調節因子 14-3-3sigma、CDC25B、活性酸素調節因子 Nrf2、幹細胞制御因子 Gli1、の 7 種類の候補因子について治療効果との相関を検討し、最終的には癌抑制遺伝子、遺伝子修復因子に関して治療効果との良好な相関状況を確認し得た。現在はその因子による最良の組み合わせを基にした効果予測に関する論文を作成中である。

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 16 件)

1. Okumura H, Uchikado Y, Setoyama T, Matsumoto M, Owaki T, Ishigami S, Natsugoe S:

Biomarkers for predicting the response of esophageal squamous cell carcinoma to neoadjuvant Chemoradiation therapy. Surg Today 44, 421-428, 2014. (査読有り)

2. Okumura H, Uchikado Y, Omoto I, Kita Y, Sasaki K, Arigami T, Uenosono Y, Matsushita D, Hiraki Y, Owaki T, Ishigami S, Natsugoe S:

The usefulness of neoadjuvant chemoradiation therapy for locally advanced esophageal cancer with multiple lymph-node metastases.

Ann Surg Oncol. 2014Sep;21(9):2845-9. (査読有り)

3. Okumura H, Uchikado Y, Omoto I, Kita Y, Sasaki K, Arigami T, Uenosono Y, Matsushita D, Hiraki Y, Owaki T, Ishigami S, Natsugoe S:

The usefulness of neoadjuvant chemoradiation therapy for locally advanced esophageal cancer with multiple lymph-node metastases.

Ann Surg Oncol. 2014Sep;21(9):2845-9. (査読有

り)

4. Okumura H, Uchikado Y, Omoto I, Kita Y, Sasaki K, Arigami T, Uenosono Y, Matsushita D, Hiraki Y, Owaki T, Ishigami S, Natsugoe S:

The usefulness of neoadjuvant chemoradiation therapy for locally advanced esophageal cancer with multiple lymph-node metastases.

Ann Surg Oncol. 2014Sep;21(9):2845-9.(査読有り)

5 .Okumura H, Uchikado Y, Omoto I, Kita Y, Sasaki K, Arigami T, Uenosono Y, Matsushita D, Hiraki Y, Owaki T, Ishigami S, Natsugoe S:

The usefulness of neoadjuvant chemoradiation therapy for locally advanced esophageal cancer with multiple lymph-node metastases.

Ann Surg Oncol. 2014Sep;21(9):2845-9.(査読有り)

6.Okumura H, Uchikado Y, Omoto I, Kita Y, Sasaki K, Arigami T, Uenosono Y, Matsushita D, Hiraki Y, Owaki T, Ishigami S, Natsugoe S:

The usefulness of neoadjuvant chemoradiation therapy for locally advanced esophageal cancer with multiple lymph-node metastases.

Ann Surg Oncol. 2014Sep;21(9):2845-9.(査読有り)

7.Okumura H, Uchikado Y, Omoto I, Kita Y, Sasaki K, Arigami T, Uenosono Y, Matsushita D, Hiraki Y, Owaki T, Ishigami S, Natsugoe S:

The usefulness of neoadjuvant chemoradiation therapy for locally advanced esophageal cancer with multiple lymph-node metastases.

Ann Surg Oncol. 2014Sep;21(9):2845-9.(査読有り)

8. Sakurai T, Okumura H, Matsumoto M, Uchikado Y, Setoyama T, Omoto I, Owaki T, Maemura K, Ishigami S, Natsugoe S: The expression of LC-3 is related to tumor suppression through angiogenesis in esophageal cancer. Med Oncol. 30, 701, 2013 (査読有り)

9. Sakurai T, Okumura H, Matsumoto M, Uchikado Y, Setoyama T, Omoto I, Owaki T, Maemura K, Ishigami S, Natsugoe S: The expression of LC-3 is related to tumor suppression through angiogenesis in esophageal cancer. Med Oncol. 30, 701, 2013 (査読有り)

10. Sakurai T, Okumura H, Matsumoto M, Uchikado Y, Setoyama T, Omoto I, Owaki T, Maemura K, Ishigami S, Natsugoe S: The expression of LC-3 is related to tumor suppression through angiogenesis in esophageal cancer. Med Oncol. 30, 701, 2013 (査読有り)

11. Sakurai T, Okumura H, Matsumoto M, Uchikado Y, Setoyama T, Omoto I, Owaki

T, Maemura K, Ishigami S, Natsugoe S: The expression of LC-3 is related to tumor suppression through angiogenesis in esophageal cancer. Med Oncol. 30, 701, 2013 (査読有り)

12 . Sakurai T, Okumura H, Matsumoto M, Uchikado Y, Setoyama T, Omoto I, Owaki T, Maemura K, Ishigami S, Natsugoe S: The expression of LC-3 is related to tumor suppression through angiogenesis in esophageal cancer. Med Oncol. 30, 701, 2013 (査読有り)

13. Owaki T, Okumura H, Uchikado Y, Sasaki K, Matsumoto M, Omoto I, Setoyama T, Kita Y, Sakurai T, Matsushita D, Ishigami S, Ueno S, Natsugoe S: Serum concentrations of antibiotics during severe invasive surgery such as esophagectomy for esophageal cancer. Int Surg 98:1-5, 2013(査読有り)

14. Kita Y, Okumura H, Uchikado Y, Sasaki K, Omoto I, Matsumoto M, Setoyama T, Tanoue K, Mori S, Owaki T, Ishigami S, Ueno S, Kajiya Y, Natsugoe S: Clinical significance of ¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in superficial esophageal squamous cell carcinoma. Ann Surg Oncol 20: 1646-1652, 2013 (査読有り)

15. Owaki T, Matsumoto M, Okumura H, Uchikado Y, Kita Y, Setoyama T, Sasaki K, Sakurai T, Omoto I, Shimada M, Sakamoto F, Yoshinaka H, Ishigami S, Ueno S, Natsugoe S: Endoscopic ultrasonography is useful for monitoring the tumor response of neoadjuvant chemoradiation therapy in esophageal squamous cell carcinoma. Am J Surg 203: 191-197, 2012 (査読有り)

16. Megumi K, Ishigami S, Uchikado Y, Kita Y, Okumura H, Matsumoto M, Uenosono Y, Arigami T, Kijima Y, Kitazono M, Shinchi H, Ueno S, Natsugoe S: Clinicopathological significance of BMP7 expression in esophageal squamous cell carcinoma. Ann Surg Oncol 19: 2066-2071, 2012 (査読有り)

〔学会発表〕(計 26件)

1 奥村浩, 内門泰斗, 尾本至, 喜多芳昭, 佐々木健, 上之園芳一, 有上貴明, 大脇哲洋, 盛真一郎, 石神純也, 夏越祥次: 多発リンパ節転移を伴う食道癌に対する術前化学放射線療法. 第76回日本臨床外科学会総会シンポジウム, 福島, 11月21日, 2014.

2 . 肥後直倫, 奥村浩, 内門泰斗, 尾本至, 佐々木健, 喜多芳昭, 出先亮介, 野田昌宏, 大脇哲洋, 石神純也, 夏越祥次: 食道扁平上皮癌におけるSOX9発現の意義, 第25回日本消化器癌発生学会総会, 福岡, 11月14日, 2014.

3 .奥村浩, 内門泰斗, 尾本至, 肥後直倫, 出先亮介, 野田昌宏, 喜多芳昭, 佐々木

健, 瀬戸山徹郎, 恵浩一, 有上貴明, 上之園芳一, 盛真一郎, 馬場研二, 大脇哲洋, 石神純也, 夏越祥次: Ferredoxin Reductase (Fdxr) 発現と化学(放射線)療法感受性, 第25回日本消化器癌発生学会総会, 福岡, 11月14日, 2014.

4. 奥村浩, 内門泰斗, 尾本至, 喜多芳昭, 佐々木健, 上之園芳一, 有上貴明, 大脇哲洋, 石神純也, 上野真一, 夏越祥次: 多発リンパ節転移を伴う食道癌に対する術前化学放射線療法の意義. 第22回日本消化器関連学会週間(JDDW), 神戸, 10月24日, 2014.

5. 奥村浩, 内門泰斗, 尾本至, 喜多芳昭, 佐々木健, 上之園芳一, 有上貴明, 大脇哲洋, 上野真一, 石神純也, 夏越祥次: 第52回日本癌治療学会, 多発リンパ節転移を伴う食道癌に対する術前化学放射線療法の意義. 横浜, 8月28日, 2014.

6. 奥村浩, 川崎洋太, 内門泰斗, 尾本至, 大脇哲洋, 喜多芳昭, 佐々木健, 石神純也, 夏越祥次: 食道癌細胞の活性酸素産生能による食道癌術前化学放射線療法の効果予測. 第68回日本食道学会学術集会, ワークショップ, 東京, 7月3日, 2014.

7. 奥村浩, 松本正隆, 内門泰斗, 大脇哲洋, 喜多芳昭, 尾本至, 佐々木健, 松下大輔, 石神純也, 夏越祥次: 局所進行食道癌における術前化学放射線療法. 第114回日本外科学会学術集会, 京都, 4月5日, 2014.

8. Okumura H, Uchikado Y, Omoto I, Kita Y, Sasaki K, Matsumoto M, Owaki T, Arigami T, Uenosono Y, Ishigami S, Natsugoe S: The usefulness of Neoadjuvant Chemoradiation Therapy for locally advanced esophageal cancer with multiple lymph nodes metastasis. The 67th Society of Surgical Oncology (SSO) Annual Cancer Symposium. Phenix, Arizona, USA, Mar12-15, 2014.

9. 奥村浩, 内門泰斗, 川崎洋太, 喜多芳昭, 尾本至, 佐々木健, 大脇哲洋, 石神純也, 有上貴明, 上之園芳一, 盛真一郎, 上野真一, 夏越祥次: 食道癌術前化学放射線療法の効果予測バイオマーカーの検討. 第51回癌治療学会学術集会, ポスター, 京都, 10月26日, 2013.

10. Okumura H, Uchikado Y, Matsumoto M, Owaki T, Kita Y, Omoto I, Sasaki K, Uenosono Y, Ishigami S, Natsugoe S: The usefulness of estimating pN status and T-effect of ESCC patients treated with neoadjuvant CRT. 1st International Conference of Federation of Asian Clinical Oncology (FACO), Xiamen, China, September 26 2013.

11. 奥村浩, 内門泰斗, 佐々木健, 喜多芳昭, 大脇哲洋, 有上貴明, 上之園芳一, 石神純也, 夏越祥次: 癌抑制遺伝子 Fhit ノックアウトマウスおよび Fhit/Nit1 ダブルノックアウトマウスにおける消化管腫瘍の解析, 第24回日本消化器癌発生学会総会, ワークショップ, 金

沢 9月5日 2013

12. 奥村浩, 石神純也, 大脇哲洋, 内門泰斗, 松本正隆, 喜多芳昭, 佐々木健, 有上貴明, 上之園芳一, 中条哲浩, 帆北修一, 夏越祥次: 食道胃接合部癌に対する外科治療

第66回日本食道学会定期学術集会, ワークショップ, 大阪, 6月13日, 2013年

13. 奥村浩, 内門泰斗, 大脇哲洋, 松本正隆, 喜多芳昭, 瀬戸山徹郎, 尾本至, 佐々木健, 石神純也, 上野真一, 夏越祥次: 進行食道癌に対する術前化学放射線治療法の治療成績と今後の展望, 第66回日本食道学会定期学術集会, 口演大阪, 6月13日, 2013年

14. 奥村浩, 内門泰斗, 佐々木健, 喜多芳昭, 松本正隆, 尾本至, 石神純也, 大脇哲洋, 上野真一, 夏越祥次: 局所進行食道癌に対する治療戦略 リンパ節転移制御を目的とした術前化学放射線治療の意義. 第68回日本消化器外科学会定期総会, シンポジウム, 2013年7月17日, 宮崎

15. Okumura H, Uchikado Y, Owaki T, Matsumoto M, Kita Y, Setoyama T, Omoto I, Sasaki K, Ishigami S, Ueno S, Natsugoe S: Neoadjuvant chemoradiation therapy for advanced esophageal cancer patients, The 113th Annual Congress of Japan Surgical Society, Symposium, Fukuoka, April 11th, 2013

16. 奥村浩, 喜多芳昭, 内門泰斗, 大脇哲洋, 松本正隆, 佐々木健, 石神純也, 上野真一, 夏越祥次: PET 所見から考察した食道表在癌に対する治療戦略, 第74回臨床外科学会総会, 2012年12月1日, 東京

17. 奥村浩, 内門泰斗, 大脇哲洋, 喜多芳昭, 松本正隆, 尾本至, 佐々木健, 川崎洋太, 辺木文平, 松下大輔, 石神純也, 上野真一, 夏越祥次: 食道癌術前化学放射線療法症例における追加補助療法適応症例の検討. 第50回癌治療学会学術集会, ポスターディスカッション, 2012年10月27日 横浜

18. Okumura H, Uchikado H, Kita Y, Omoto I, Matsumoto M, Owaki T, Ishigami S, Huebner K, Natsugoe S: Tumor suppressor proteins as the candidate of early esophageal tumorigenesis markers Venice, ISDE, Oct 17, 2012.

19. Okumura H, Uchikado Y, Owaki T, Matsumoto M, Setoyama T, Kita Y, Omoto I, Sasaki K, Sakurai T, Ishigami S, Natsugoe S: Post-esophagectomy chylothorax successfully treated with the combination of thoracic duct clipping and octreotide administration Venice, ISDE, Oct 17, 2012.

20. Okumura H, Uchikado Y, Matsumoto M, Owaki T, Kita Y, Omoto I, Sasaki K, Sakurai T, Setoyama T, Nabeki B, Matsushita D, Ishigami S, Natsugoe S: Prognostic factors in esophageal squamous cell carcinoma patients treated with neoadjuvant chemoradiation therapy and determination of an

appropriate strategy for their evaluation. Venice , ISDE , Oct 16 , 2012 ,
21 .Okumura H , Uchikado Y , Kita Y , Owaki T , Sasaki K , Arigami T , Uenosono Y , Ishigami S , Ueno S , Natsugoe S : ,Ferredoxin reductase (Fdxr) as a new biomarker of cancer therapy , English oral presentation , .The 71st Annual Meeting of the Japanese Cancer Association , Sapporo , Sep./19/2012
22. 奥村浩 ,内門泰斗 ,喜多芳昭 ,佐々木健 ,大脇哲洋 ,石神純也 ,上野真一 ,夏越祥次 :DNA 損傷シグナルからみた消化器癌発癌のメカニズム ,第 21 回癌病態治療研究会 ,シンポジウム ,前橋市 ,7 月 6 日 ,2012
23 .奥村浩 ,松本正隆 ,内門泰斗 ,大脇哲洋 ,喜多芳昭 ,尾本至 ,佐々木健 ,松下大輔 ,石神純也 ,夏越祥次 :局所進行食道癌における術前化学放射線療法 - 奏効度と臨床経過 - ,第 65 回日本食道学会定期学術集会 ,ポスター ,6 月 20 日 ,軽井沢
24 .奥村浩 ,夏越祥次 ,松本正隆 ,内門泰斗 ,大脇哲洋 ,喜多芳昭 ,尾本至 ,佐々木健 ,石神純也 ,上野真一 ,夏越祥次 :食道癌術前化学放射線療法症例の検討 第 67 回日本消化器外科学会定期総会 ,パネルディスカッション ,富山 ,7 月 18 日 2012
25 .奥村浩 ,内門泰斗 ,大脇哲洋 ,喜多芳昭 ,松本正隆 ,尾本至 ,櫻井俊秀 ,瀬戸山徹郎 ,佐々木健 ,辺木文平 ,松下大輔 ,石神純也 ,上野真一 ,夏越祥次 :食道癌術前化学放射線療法例の組織学的因子に基づいた予後予測法 第 112 回日本外科学会定期学術集会 ,サージカルフォーラム ,千葉市 ,4 月 12 日 2012
26 .Okumura H , Uchikado Y , Matsumoto M , Owaki T , Kita Y , Omoto I , Sasaki K , Sakurai T , Setoyama T , Nabeki B , Matsushita D , Ishigami S , Natsugoe S : The useful histological evaluation method for assessing prognosis of ESCC patients treated with neoadjuvant CRT. Oral presentation , ACOS Jun 13/2012 , Seoul

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

奥村 浩 (OKUMURA HIROSHI)

鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・講師

研究者番号 : 10398282

(2)研究分担者

石神 純也 (ISHIGAMI SUMIYA)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・准教授

研究者番号 : 90325803

夏越 祥次 (NATSUGOE SHOJI)
鹿児島大学・医歯学総合研究科・教授
研究者番号 : 70237577

内門 泰斗 (UCHIKADO YASUTO)
鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・特例准教授
研究者番号 : 30464465