

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：74314

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591965

研究課題名(和文) 固形腫瘍微小環境と細胞内レドックス制御による腫瘍幹細胞の抗癌剤抵抗性の克服

研究課題名(英文) Strategy to overcome chemoresistance of cancer stem cells by regulating cancer microenvironment and intracellular redox state

研究代表者

上田 修吾 (UEDA, Shugo)

公益財団法人田附興風会・医学研究所 第1研究部・主任研究員

研究者番号：80372580

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)： 固形癌幹細胞マーカーCD44に着目し、種々のCD44発現量の異なる胃癌、大腸癌細胞株を実験に用いた。CD44高発現するHCT116, HT-29の過酸化水素による細胞死誘導されやすさ、細胞内活性酸素種量は、常酸素条件、低酸素条件間で有意差を認めなかった。急性前骨髄性白血病の分化誘導剤オールトランスレチノイン酸はHCT116, HT-29に活性酸素種を介し細胞死を誘導したが、細胞分化には影響を認めなかった。食道癌臨床検体では、食道癌において正常食道粘膜よりガレクチン-7発現低下傾向にあった。ガレクチン-7発現のエピジェネティック制御を中心に検討中である。

研究成果の概要(英文)： Gastrointestinal cell lines expressing several amount of CD44, an important marker for cancer stem cell, were investigated. There was no difference in susceptibility of hydrogen peroxide-induced cell death and intracellular reactive oxygen species (ROS) between normoxia and hypoxia in HCT116 and HT-29 that express higher levels of CD44. All-trans retinoic acid, a clinically effective inducer of differentiation in acute promyelocytic leukemia cells, induced cell death by increasing intracellular ROS but had no effect on differentiation in these cell lines. Expression of galectin-7 was lower in cancer cells than non-cancer tissues in clinical esophageal cancer. The epigenetic regulation of galectin-7 expression is under investigation.

研究分野：医歯薬学

キーワード：癌幹細胞 CD44 レドックス 抗癌剤感受性 消化器癌 ガレクチン

1. 研究開始当初の背景

CD44 は消化器癌等の幹細胞マーカーと考えられているが、最近 CD44variant が細胞内抗酸化物質グルタチオン代謝を制御することで薬剤抵抗性を生じる可能性について報告された (Ishimoto et al. Cancer Cell 2011)。細胞内の酸化還元 (レドックス) 環境は、グルタチオン系とチオレドキシン系により制御されている。レドックス制御蛋白が、抗癌剤、放射線治療の抵抗性に関与するため、特に抗癌治療抵抗性を示す幹細胞の特徴を規定する可能性が予想される。ストレスにより誘導されるガレクチン-7 は抗癌剤感受性を増強する。急性前骨髄性白血病の分化誘導療法剤オールトランスレチノイン酸(ビタミン A 誘導体)はグルタチオンを酸化することより抗癌剤耐性を回復する可能性が予想される。

2. 研究の目的

固形腫瘍における抗癌剤治療抵抗性解明のため、腫瘍幹細胞の腫瘍微小環境、特に慢性炎症、低栄養、低酸素環境における、ストレス誘導蛋白、レドックス制御蛋白の関与を明らかにし、レドックス制御による癌治療の可能性を追求することを目的とする。

3. 研究の方法

消化器癌細胞株を用いて、CD44 発現の程度、細胞内レドックス環境と抗癌剤耐性に及ぼす影響について、常酸素条件に加え、固形腫瘍の微小環境である低酸素条件でも検討した。常酸素/低酸素培養系で酸化ストレス状態における細胞内レドックスをフローサイトメータで検討した。

レチノイン酸添加により CD44 発現幹細胞が非幹細胞への分化誘導と抗癌剤感受性回復の可能性を検討した。

食道癌臨床検体より Total RNA を抽出し、ストレス誘導性蛋白であるガレクチン-7 発現を real-time PCR で検討し、その発現制御メカニズムを検討した。

4. 研究成果

幹細胞マーカー CD44 を高発現する HCT116, HT-29 大腸癌細胞株では酸化ストレスモデルとして過酸化水素による細胞死

誘導されやすさ、フローサイトメータで計測した細胞内活性酸素種量は、常酸素条件、低酸素条件間で有意差を認めなかった。

オールトランスレチノイン酸は、HCT-116, HT-29 に活性酸素種を介し細胞死を誘導したが、細胞分化には影響を認めなかった。またその影響は常酸素条件、低酸素条件間で有意差を認めなかった。

食道癌臨床検体より total RNA を抽出した。real-time PCR 法で検討した結果、食道癌において正常食道粘膜よりガレクチン-7 は発現低下傾向にあることを明らかにした (癌学会 2012 発表)。ガレクチン-7 発現調整メカニズムを調べる目的で、食道癌臨床検体よりゲノム DNA を抽出し、エピジェネティック制御、特にプロモーターメチル化の関与を検討中である。

現時点で細胞内グルタチオンが癌幹細胞の CD44 により制御され抗腫瘍剤抵抗を示すことが示唆されているが、他のレドックス制御因子が癌幹細胞の機能制御に関する直接的エビデンスは示せていない。ストレスで誘導され抗腫瘍活性に影響するガレクチン-7 発現制御機構が明らかになれば食道癌の発癌機構や抗腫瘍活性制御につながる可能性がある。

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6件)

1. Adoptive transfer of MAGE-A4 T-cell receptor gene-transduced lymphocytes in patients with recurrent esophageal cancer.

Kageyama S, Ikeda H, Miyahara Y, Imai N, Ishihara M, Saito K, Sugino S, Ueda S, Ishikawa T, Kokura S, Naota H, Ohishi K, Shiraishi T, Inoue N, Tanabe M, Kidokoro T, Yoshioka H, Tomura D, Nukaya I, Mineno J, Takesako K,

- Katayama N, Shiku H.
Clin Cancer Res 21(10); 2268-2277, 2015
査読有
doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-1559.
2. Long-term quality-of-life comparison of total gastrectomy and proximal gastrectomy by postgastrectomy syndrome assessment scale (PGSAS-45): a nationwide multi-institutional study.
Takiguchi N, Takahashi M, Ikeda M, Inagawa S, Ueda S, Nobuoka T, Ota M, Iwasaki Y, Uchida N, Kodera Y, Nakada K.
Gastric Cancer 18(2):407-416, 201 査読有
doi: 10.1007/s10120-014-0377-8.
3. Dose-dependent effects of NY-ESO-1 protein vaccine complexed with cholesteryl pullulan (CHP-NY-ESO-1) on immune responses and survival benefits of esophageal cancer patients.
Kageyama S, Wada H, Muro K, Niwa Y, Ueda S, Miyata H, Takiguchi S, Sugino SH, Miyahara Y, Ikeda H, Imai N, Sato E, Yamada T, Osako M, Ohnishi M, Harada N, Hishida T, Doki Y, Shiku H.
J Transl Med 5;11:246, 2013 査読有
doi: 10.1186/1479-5876-11-246.
4. Overcoming regulatory T-cell suppression by a lyophilized preparation of Streptococcus pyogenes.
Hirayama M, Nishikawa H, Nagata Y, Tsuji T, Kato T, Kageyama S, Ueda S, Sugiyama D, Hori S, Sakaguchi S, Ritter G, Old LJ, Gnjatich S, Shiku H.
Eur J Immunol 43(4):989-1000, 2013 査読有
doi: 10.1002/eji.201242800.
5. Effects of rikkunshito, a kampo medicine, on quality of life after proximal gastrectomy.
Gunji S, Ueda S, Yoshida M, Kanai M, Terajima H, Takabayashi A.
J Surg Res 185(2):575-580, 2013 査読有
doi: 10.1016/j.jss.2013.06.010.
6. Adrenal cavernous hemangioma with subclinical Cushing's syndrome: report of a case.
Oishi M, Ueda S, Honjo S, Koshiyama H, Yuba Y, Takabayashi A.
〔学会発表〕(計 29 件)
1. Stage III 胃癌に対する周術期化学療法の有用性
上田修吾、松原弘侑、後藤 徹、岩村宣亜、井上善景、吉富摩美、内田洋一朗、飯田 拓、金澤旭宣、寺嶋宏明
第 87 回日本胃癌学会学術総会 2015 年 3 月 4-5 日、リーガロイヤルホテル広島他(広島県広島市)
2. A randomized phase II factorial design trial of CPT-11 versus PTX versus each combination with S-1 in patients with advanced gastric cancer refractory to S-1: Final results of OGS0701
Nishikawa K, Imamura H, Kawase T, Gotoh M, Kimura Y, Ueda S, Matsuyama J, Kawada J, Sugimoto N, Fujita J, Tamura T, Fukushima N, Sakai D, Shimokawa T, Kurokawa Y, Satoh T, Tsujinaka T, Furukawa H
American Society of Clinical Oncology (ASCO) 2015 Gastrointestinal Cancers Symposium 2015.01.15-17, San Francisco, USA
3. Stage IV 胃癌に対する S-1+cisplatin+docetaxel 3 剤併用術前導入化学療法の試み
上田修吾、松原弘侑、後藤徹、岩村宣亜、井上善景、吉富摩美、内田洋一朗、飯田拓、金澤旭宣、寺嶋宏明
第 52 回日本癌治療学会学術集会 2014 年 8

月 28-30 日、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

4. Randomized phase II study of CPT-11 vs PTX +/- S1 in advanced gastric cancer refractory to S1 or S1+platinum (OGSG0701)

Sugimoto N, Imamura H, Gotoh M, Kimura Y, Ueda S, Kurokawa Y, Sakai D, Shimokawa T, Tsujinaka T, Furukawa H

第 12 回日本臨床腫瘍学会学術集会 2014 年 7 月 17-19 日、福岡国際会議場他 (福岡県福岡市)

5. S-1 単独または S-1/CDDP 併用治療抵抗性進行・再発胃癌に対する二次治療のランダム化第 相試験(OGSG0701)

上田 修吾、今村 博司、後藤 昌弘、木村 豊、松山 仁、西川 和宏、藤田 淳也、杉本 直俊、黒川 幸典、古河 洋

第 69 回日本消化器外科学会総会 2014 年 7 月 16-18 日、郡山市民文化センター他 (福島県郡山市)

6. 消化管再建に苦勞した下咽頭・胸部食道同時性重複癌症例

上田修吾

第 68 回日本食道学会学術総会 2014 年 7 月 3-4 日、東京ドームホテル (東京都)

7. Randomized phase II study of CPT-11 versus PTX versus each combination chemotherapy with S-1 in patients with advanced gastric cancer refractory to S-1 or S-1 plus platinum (OGSG0701)

Gotoh M, Imamura H, Kawase T, Kimura Y, Ueda S, Matsuyama J, Nishikawa K, Sugimoto N, Fujita J, Tamura T, Kii T, Satoh T, Kurokawa Y, Sakai D, Shimokawa T, Tsujinaka T, Furukawa H

European Society for Medical Oncology (ESMO) 2014 16th World Congress on Gastrointestinal Cancer 2014.6.25-28, Barcelona, Spain

8. Randomized phase II study of CPT-11 versus PTX versus each combination chemotherapy with S-1 in patients with advanced gastric cancer refractory to S-1 or S-1 plus CDDP

Kawase T, Imamura H, Gotoh M, Kimura Y, Ueda S, Matsuyama J, Nishikawa K, Sugimoto N, Fujita J, Tamura T, Fukushima N, Kawabata R, Kurokawa Y, Shimokawa T, Sakai D, Tsujinaka T, Furukawa H

American Society of Clinical Oncology (ASCO) 2014 50th Annual Meeting 2014.5.30-6.3, Chicago, USA

9. Induction chemotherapy followed by surgery for stage IV gastric cancer

Ueda S, Inoue Y, Yoshitomi M, Uchida Y, Iida T, Kanazawa A, Terajima H

49th Congress of the European Society for Surgical Research 2014.5.21-24, Budapest, Hungary

10. Adoptive transfer of wild-type TCR gene transduced T lymphocytes targeting MAGE-A4 antigen to patients with refractory esophageal cancer

Kageyama S, Ikeda H, Imai N, Ishihara M, Miyahara Y, Ueda S, Ishikawa T, Naota H, Ohishi K, Shiraishi T, Inoue N, Tanabe M, Kidokoro T, Yoshioka T, Tomura D, Nukaya I, Mineno J, Takesako K, Katayama N, Shiku H

105th American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting 2014 2014.4.5-9, San Diego, USA

11. 胃癌手術後体重減少が術後補助化学療法の継続性に及ぼす影響

上田修吾、川本浩史、後藤 徹、岩村宣亜、戸田 怜、井上善景、吉富摩美、内田洋一朗、飯田 拓、金澤旭宣、寺嶋宏明

第 114 回日本外科学会定期学術集会

- 2014.4.3-5、国立京都国際会館（京都府京都市）
12. 微小腹膜播種転移胃癌に対する導入化学療法と胃切除術の有用性
上田修吾、後藤 徹、岩村宣亜、川本浩史、戸田 怜、井上善景、吉富摩美、内田洋一朗、飯田 拓、金澤旭宣、寺嶋宏明
第 86 回日本胃癌学会学術総会 2014.3.20-22、パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）
13. 進行胃癌に対する S-1+シスプラチン療法の抗腫瘍効果予測のためのバイオマーカー探索
上田修吾、後藤 徹、岩村宣亜、戸田 怜、川本浩史、井上善景、吉富摩美、内田洋一朗、飯田 拓、寺嶋宏明
第 51 回日本癌治療学会 2013.10.24-26、国立京都国際会館（京都府京都市）
14. 進行・再発固形癌に対する CHP-MAGE-A4 がんワクチン療法第 I 相臨床試験
上田修吾、影山慎一、宮原慶裕、珠玖 洋
第 72 回日本癌学会学術総会 2013.10.3-5、パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）
15. MAGE-A4 発現食道癌における抗原特異的 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注後の *in vivo* 血中持続
影山慎一、池田裕明、今井奈緒子、上田修吾、石川 剛、直田浩明、宮原慶裕、吉岡広文、戸村大助、糠谷育衛、峰野純一、片山直之、珠玖 洋
第 72 回日本癌学会学術総会 2013.10.3-5、パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）
16. MAGE-A4 特異的 T 細胞発現受容体を用いた遺伝子免疫治療における免疫モニタリング
杉野早穂子、宮原慶裕、上田修吾、石川 剛、古倉 聡、池田裕明、影山慎一、糠谷育衛、戸村大助、吉岡広文、峰野純一、珠玖 洋
第 72 回日本癌学会学術総会 2013.10.3-5、パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）
17. 進行胃癌に対する S-1+シスプラチン療法における抗腫瘍効果予測の試み
上田修吾、岩村 宣亜、戸田 怜、川本 浩史、井上 善景、吉富 摩美、内田 洋一朗、飯田 拓、野村 明成、寺嶋 宏明
第 68 回日本消化器外科学会 2013.7.17-19、シーガイアコンベンションセンター他（宮崎県宮崎市）
18. 進行・再発食道癌に対する CHP-MAGE-A4 がんワクチン療法臨床試験
上田修吾
第 67 回日本食道学会学術集会 2013.6.13-14、大阪国際会議場（大阪府大阪市）
19. Effects of rikkunshito, a kampo medicine, on QOL after proximal gastrectomy
Ueda S, Gunji S, Yoshida M, Kanai M, Terajima H, Takabayashi A
48th Congress of the European Society for Surgical Research 2013.5.29-6.1, Istanbul, Turkey
20. 腹膜播種を有する胃癌に対する導入化学療法と胃切除術の意義
上田修吾、岩村宣亜、戸田 怜、川本浩史、井上善景、門野賢太郎、吉富摩美、内田洋一朗、飯田 拓、野村明成、寺嶋宏明
第 113 回日本外科学会定期学術集会 2013.4.11-13、福岡国際会議場他（福岡県福岡市）
21. 進行胃癌における Staging laparoscopy による微小腹膜播種転移診断の意義
上田修吾、岩村宣亜、戸田怜、川本浩史、井上善景、門野賢太郎、吉富摩美、内田洋一朗、飯田拓、野村明成、寺嶋宏明
第 85 回日本胃癌学会総会 2013.2.27-3.1、大阪国際会議場（大阪府大阪市）
22. Patterns of recurrence after resection of rectal gastrointestinal stromal tumors

and the effect of adjuvant therapy
Yasui M, Mori M, Takahashi T, Nakashima Y, Dousei T, Yamashita Y, Fujita J, Hiramatsu M, Kawabata R, Nakai K, Nakai T, Nishida T, Noguchi M, Orita H, Shono Y, Souma Y, Takagi M, Ueda S, Yamamoto K, Tsujinaka T, Kinki GIST Study Group
American Society of Clinical Oncology (ASCO) 2013 Gastrointestinal Cancers Symposium 2013.1.24-26, San Francisco, USA

23. Stage III 胃癌における術前/術後補助化学療法の予後改善効果
上田修吾、岩村宣亜、戸田怜、川本浩史、井上善景、門野賢太郎、吉富摩美、内田洋一朗、飯田拓、野村明成、寺嶋宏明
第 50 回日本癌治療学会 学術集会 2012.10-25-27、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

24. 食道癌における galectin-7 発現
上田修吾
第 71 回日本癌学会学術総会 2012.9.19-21、ロイトン札幌他(北海道札幌市)

25. CHP-MAGEA4 ワクチンにより誘導される抗体エピトープと抗原拡散の検討
堀早穂子、宮原慶裕、影山慎一、池田裕明、藤田知信、河上裕、上田修吾、宮本正樹、土川貴裕、平野聡、川上和孝、五島直樹、珠玖 洋
第 71 回日本癌学会学術総会 2012.9.19-21、ロイトン札幌他(北海道札幌市)

26. 食道癌を対象とした TCR 遺伝子導入リンパ球輸注療法における輸注細胞の血中動態
影山慎一、池田裕明、宮原慶裕、今井奈緒子、石原幹也、斎藤佳菜子、片山直之、上田修吾、戸村大助、糠谷育衛、峰野純一、竹迫一任、珠玖 洋
第 71 回日本癌学会学術総会 2012.9.19-21、

ロイトン札幌他(北海道札幌市)

27. 噴門側胃切除術施行後の食欲不振に対する六君子湯の有効性に関する探索的検討
上田修吾、郡司周太郎、吉田昌弘、金井陸行、寺嶋宏明、尾崎信弘
第 67 回日本消化器外科学会 2012.7.18-20、富山国際会議場他(富山県富山市)

28. Multicenter phase II study of triplet combination chemotherapy with paclitaxel, cisplatin, and S-1 for advanced gastric cancer (OGSG0703)
Ueda S, Kimura Y, Fujitani K, Imamura H, Gotoh M, Iijima S, Imano M, Oshita M, Kurokawa Y, Shimokawa T, Takiuchi H, Tsujinaka T, Furukawa H
10th International Conference of the Asian Clinical Oncology Society (ACOS) 2012.6.13-15, Seoul, Korea

29. Phase II feasibility study of adjuvant S-1 plus CPT-11 for stage III gastric cancer patients after curative D2 gastrectomy (OGSG0801)
Kawabata R, Imamura H, Kishimoto T, Kimura Y, Fujitani K, Ueda S, Gofuku J, Tamura S, Kurokawa Y, Takiuchi H, Furukawa H
10th International Conference of the Asian Clinical Oncology Society (ACOS) 2012.6.13-15, Seoul, Korea

[図書](計0件)

[産業財産権]
出願状況(計0件)
取得状況(計0件)

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織
(1)研究代表者
上田 修吾(UEDA, Shugo)
公益財団法人田附興風会・医学研究所 第1研究部・主任研究員
研究者番号: 80372580