

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 23 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592001

研究課題名(和文)大腸癌肝転移に対する新規分子標的治療法の開発

研究課題名(英文)Molecular targeting therapy for colorectal liver metastasis

研究代表者

小林 剛(Kobayashi, Tsuyoshi)

広島大学・大学病院・病院助教

研究者番号：50528007

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)：h-pruneを標的分子とした大腸癌肝転移治療の可能性について分子生物学的に検討した。大腸癌肝転移52例において、h-prune陽性例は有意に予後不良であった。大腸癌細胞株SW480にsh-RNAを遺伝子導入し、免疫不全マウスの門脈内に注入すると有意に肝転移形成が損なわれた。またh-prune高発現株では上皮性マーカーであるE-cadherinやZO-1の発現低下がみられ、間葉系マーカーであるN-cadherinやVimentinの発現増加がみられた。すなわちh-pruneの発現は上皮間葉転換EMTを促進し、肝転移を促進していると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We examined the function of h-prune, and the role of h-prune in colorectal liver metastasis.

h-prune knocked-down cells revealed lower motility, invasiveness and less frequent expression of epithelial-mesenchymal transition markers. In liver metastasis mouse model, mice injected with h-prune knocked-down cells have significantly more frequent liver metastasis than control mice. The overall survival rate was significantly lower in h-prune-positive cases than in h-prune-negative cases. Multivariate analysis showed that h-prune positivity was the only independent factor related to poor overall survival of patients after curative hepatectomy. These results indicate that h-prune has a critical role in the progression of colorectal liver metastases, and it may be considered a newly defined prognostic factor.

研究分野：消化器外科

キーワード：消化器外科 腫瘍外科 転移

1. 研究開始当初の背景

肝転移を伴う大腸癌はIV期であり、極めて予後不良である。

2. 研究の目的

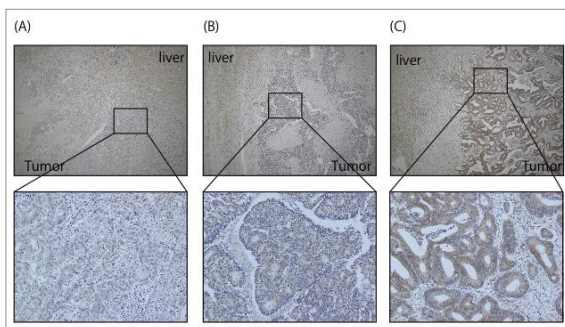
本研究の目的は、大腸癌の浸潤能・運動能を制御する新たな分子を標的として、大腸癌肝転移の浸潤や転移を阻止する方法を確立することである。

3. 研究の方法

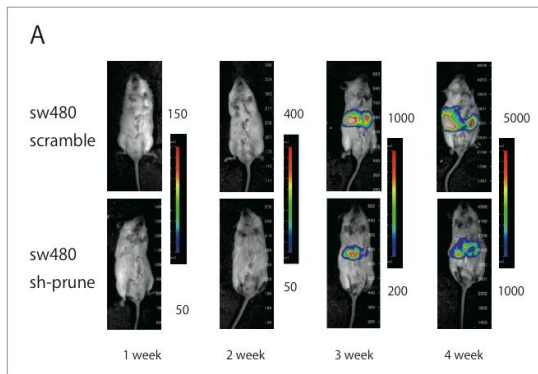
GSK-3 結合蛋白として同定した h-prune は、これまでに複数の癌種で浸潤・転移能に深く関わっていることが報告されており、h-prune を標的分子とした大腸癌肝転移治療の可能性について分子生物学的に検討した。

4. 研究成果

(1) 大腸癌肝転移症例の切除検体 52 例における免疫染色において、h-prune の発現を 21 例に認め、h-prune 陽性例は有意に切除後の生存率が不良であり (p=0.0019)、h-prune の発現は独立した予後不良因子であった。h-prune が既知の予後因子から独立した新規バイオマーカーである可能性を示唆した。

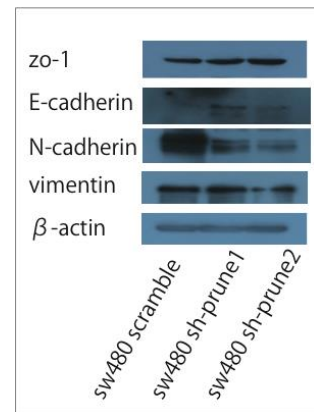


(2) 大腸癌細胞株 SW480 に sh-RNA を遺伝子導入して、恒常的 h-prune ノックダウン細胞株を作成した。この細胞株を免疫不全マウスの門脈内に注入すると、有意に肝転移形成が損なわれていることが判明した。この事実は、大腸癌肝転移モデルにおいて h-prune が重要な役割を果たしていることを示している。



(3) 大腸癌細胞株 HCT116 に GFP/h-prune を遺伝子導入して、恒常的 h-prune 高発現株を作成した。この細胞株はオキサリプラチンに抵抗性で、h-prune がオキサリプラチン耐性に機能していることが示唆された。さらに、恒常的 h-prune 高発現株を免疫不全マウスの門脈内に注入すると、肝転移形成には有意な差が見られなかったが、肺転移を有意に促進することが明らかとなった。これらの結果から、大腸癌肝転移モデルにおいて h-prune の発現が肺転移を促進していることが示唆された。

(4) h-prune 高発現株は形態上の変化をきたしていることから、上皮間葉転換 (EMT) に関して検討した。h-prune 高発現株では上皮性マーカーである E-cadherin や ZO-1 の発現低下がみられ、間葉系マーカーである N-cadherin や Vimentin の発現増加がみられた。一方で h-prune ノックダウン株では逆の現象がみられ、h-prune が EMT に強く関与していることが明らかとなった。



(5) これらの研究結果から、h-prune の発現は上皮間葉転換 EMT を促進し、肝転移マウスモデルの転移能と相関していることが明らかとなった。臨床的に h-prune 高発現は大腸癌肝転移切除後の独立した予後因子であり、h-prune を標的とした分子標的治療が有効である可能性がある。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 9 件)

- (1) Tanimine, N., Tanaka, Y., Kobayashi, T., and Ohdan, H., et al. 2014. Quantitative effect of natural killer cell licensing on hepatocellular carcinoma recurrence after curative hepatectomy. *Cancer Immunol Res.* 2:1142-1147. (査読あり)
- (2) Okimoto, S., Kobayashi, T., Kuroda, S., Tahara, H., Ohira, M., Ide, K., Ishiyama, K., Tashiro, H., and Ohdan, H. 2014. Pancreaticoduodenectomy with preservation of gastric tube blood flow after esophagectomy: Report of a case. *Int J Surg Case Rep* 5:746-749. (査読あり)

- (3) Shimizu, S., Onoe, T., Ishiyama, K., Ide, K., Ohira, M., Tahara, H., Saeki, Y., Kobayashi, T., Kuroda, S., Tashiro, H., et al. 2014. Multiple hepatic vein reconstruction using an all-in-one sleeve patch graft technique in living donor liver transplantation: a case report. *Transplant Proc* 46:982-985. (査読あり)
- (4) Kobayashi, T., Ishiyama, K., and Ohdan, H. 2013. Prevention of recurrence after curative treatment for hepatocellular carcinoma. *Surg Today* 43:1347-1354. (査読あり)
- (5) Tashiro, H., Ide, K., Amano, H., Kobayashi, T., Onoe, T., Ishiyama, K., Kuroda, S., Tazawa, H., Kono, H., Aikata, H., et al. 2013. Surgical treatment for portosystemic encephalopathy in patients with liver cirrhosis: Occlusion of portosystemic shunt in combination with splenectomy. *Hepatol Res* 43:249-254. (査読あり)
- (6) Onoe, T., Tanaka, Y., Ide, K., Ishiyama, K., Oshita, A., Kobayashi, T., Amano, H., Tashiro, H., and Ohdan, H. 2013. Attenuation of portal hypertension by continuous portal infusion of PGE1 and immunologic impact in adult-to-adult living-donor liver transplantation. *Transplantation* 95:1521-1527. (査読あり)
- (7) Hashimoto, M., Kobayashi, T., Tashiro, H., Amano, H., Oshita, A., Tanimoto, Y., Kuroda, S., Tazawa, H., Aikata, H., Chayama, K., et al. 2012. A huge metastatic liver tumor from leiomyosarcoma of the inferior vena cava: report of a case. *Surg Today* 42:505-508. (査読あり)
- (8) Kuroda, S., Tashiro, H., Igarashi, Y., Tanimoto, Y., Nambu, J., Oshita, A., Kobayashi, T., Amano, H., Tanaka, Y., and Ohdan, H. 2012. Rho inhibitor prevents ischemia-reperfusion injury in rat steatotic liver. *J Hepatol* 56:146-152. (査読あり)
- (9) Kuroda, S., Tashiro, H., Kobayashi, T., Oshita, A., Amano, H., and Ohdan, H. 2012. No impact of perioperative blood transfusion on recurrence of hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *World J Surg* 36:651-658. (査読あり)
- 対する再肝切除. 第76回日本臨床外科学会総会, 2014年11月20-22日, 郡山.
- (2) 田代裕尊, 再発肝細胞癌再肝切除における術中胆管損傷の修復と術後胆汁漏の予防. 第76回日本臨床外科学会総会, 2014年11月20-22日, 郡山.
- (3) 竹原寛樹, 症候性肝嚢胞に対する腹腔鏡下肝嚢胞開窓術症例の検討. 第76回日本臨床外科学会総会, 2014年11月20-22日, 郡山.
- (4) 安部智之, 腫瘍形成型肝内胆管癌におけるムチン蛋白発現と臨床病理学的予後因子との関連. 第76回日本臨床外科学会総会, 2014年11月20-22日, 郡山.
- (5) 吉満正義, 切除不能な進行・再発大腸癌に対する SOX+bev 療法の臨床第二相試験(HiSCO-02 試験). 第52回日本癌治療学会学術集会, 2014年8月28-30日, 横浜.
- (6) Mikuriya, Y. et al. Fatty liver microenvironment favors HCC progression by activating hepatic stellate cells. 第73回日本癌学会総会, 2014年9月25-27日, 横浜.
- (7) Hashimoto, M. et al. Role of h-prune in colorectal liver metastases. 第73回日本癌学会総会, 2014年9月25-27日, 横浜.
- (8) 橋本昌和, 大腸癌肝転移に対する h-prune の役割. 第26回日本肝胆膵外科学会・学術集会, 2014年6月11-13日, 和歌山.
- (9) 小林 剛, 生体肝移植ドナー肝切除手術における工夫 生体肝移植ドナー手術における HALS を用いた腹腔鏡補助下肝右葉グラフト採取術. 第26回日本肝胆膵外科学会・学術集会, 2014年6月11-13日, 和歌山.
- (10) 安部智之, 肝内胆管癌における臨床病理学的予後因子との関連. 第26回日本肝胆膵外科学会・学術集会, 2014年6月11-13日, 和歌山.
- (11) 佐田春樹, 肝細胞癌破裂の手術症例の検討. 第26回日本肝胆膵外科学会・学術集会, 2014年6月11-13日, 和歌山.
- (12) 竹原寛樹, 発熱と腹痛を呈した肝粘性嚢胞腫瘍の1切除例. 第26回日本肝胆膵外科学会・学術集会, 2014年6月11-13日, 和歌山.
- (13) 沖本将, 食道癌根治術後の胃管血流温存膵頭十二指腸切除術. 第26回日本肝胆膵外科学会・学術集会, 2014年6月11-13日, 和歌山.
- (14) 楠部潤子, 甲状腺未分化癌の浸潤・転移における h-prune の機能解析. 第114回日本外科学会定期学術集会, 20

[学会発表] (計22件)

- (1) 橋本昌和, 大腸癌肝転移切除後再発に

- 14年4月3-5日, 京都.
- (15) 谷峰直樹, 当院での肝細胞癌に対する生体肝移植後再発の検討. 第114回日本外科学会定期学術集会, 2014年4月3-5日, 京都.
  - (16) 橋本昌和, 大腸癌肝転移の予後因子としての h-prune. 第114回日本外科学会定期学術集会, 2014年4月3-5日, 京都.
  - (17) 小林 剛, 生体肝移植における胆管-胆管吻合法の改良. 第114回日本外科学会定期学術集会, 2014年4月3-5日, 京都.
  - (18) Hashimoto, M. et al. h-prune as a prognostic factor of colorectal liver metastases. 第72回日本癌学会総会, 2013年10月3-5日, 横浜.
  - (19) Mikuriya, Y. et al. 2013. Hepatic stellate cells promote HCC progression in fatty liver. 第72回日本癌学会総会, 2013年10月3-5日, 横浜.
  - (20) 小林 剛, 肝細胞癌の系統的切除または部分切除 5cm以下単発肝細胞癌に対する肝予備能に応じた術式選択. 第25回日本肝胆膵外科学会・学術集会. 2013年6月12日-14日, 宇都宮.
  - (21) 楠部潤子, The role of h-prune in anaplastic thyroid cancer cell migration and invasion. 第71回日本癌学会総会, 2012年9月19-21日, 札幌.
  - (22) 楠部潤子, 甲状腺未分化癌の浸潤・転移における h-prune の機能解析. 第85回日本内分泌学会学術総会, 2012年4月19-21日, 名古屋.

[その他]

ホームページ

<http://home.hiroshima-u.ac.jp/home2ge/research/liver/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小林 剛 (KOBAYASHI TSUYOSHI)

広島大学・大学病院・病院助教

研究者番号: 50528007