

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461953

研究課題名(和文) 癌幹細胞と抗癌剤による癌細胞根絶を目標とした新規治療開発

研究課題名(英文) Novel therapeutic development with the target of cancer cell eradication against cancer stem cells

研究代表者

江口 英利 (Eguchi, Hidetoshi)

九州大学・大学病院・講師

研究者番号：90527756

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：1. 大腸癌症例の検体を用いた網羅的遺伝子解析にて転移陽性症例においてのみ検出可能なPlastin3(PLS3)を同定した。また、その機能解析により、PLS3が上皮間葉移行(EMT)や癌幹細胞化を促進することを確認した。

2. 細胞障害性T細胞のがんに対する殺細胞効果は、T細胞上のPD-1受容体と腫瘍が有するPD-L1が結合することによりT細胞の機能低下を来す。そのため免疫担当細胞と腫瘍の負のフィードバックの確認のため、腫瘍におけるHLA class IとPD-L1の発現の臨床的意義を検討したところ、HLA class IおよびPD-L1がともに高発現の症例は再発率が高く、予後不良であった。

研究成果の概要(英文)：We identified a Plastin3 (PLS3) that was only detectable in the metastasis by comprehensive genetic analysis using a sample of colon cancer cases. It was confirmed that cancer cells introduced PLS3 were promoting the epithelial-mesenchymal transition (EMT) and the cancer stem cells. Cancer cell-killing effect of cytotoxic T cell was reduced. Because the binding of PD-L1 on cancer cell to PD-1 on lymphocyte transmits an inhibitory signal which reduces the proliferation of cytotoxic T cells. High expression of both HLA class I and PD-L1 had a high recurrence rate and poor prognosis.

研究分野：消化器外科

キーワード：癌幹細胞 癌免疫治療 樹状細胞療法 癌抗原 PD-1 HLA class I

1. 研究開始当初の背景

われわれは、消化器癌において自己複製能と多分化能を有する癌細胞、すなわち癌幹細胞様細胞が存在することを初めて明らかにした。癌は癌幹細胞と分化した癌細胞によって構成され、治療による感受性(抗癌剤の効きやすさ、放射線治療の効きやすさ)が同一患者の癌細胞内でも異なる。癌の治療が困難である最大の理由は、腫瘍に含まれる癌幹細胞は抗癌剤・放射線に抵抗性を示すためと想定される。すなわち、癌治療において、通常の化学療法、放射線療法での効果の低い癌幹細胞をいかに治療するかが予後を左右すると思われる。

また、われわれは樹状細胞を用いた癌特異的免疫治療のトランスレショナルリサーチを推進させ、平成 17 年には本邦で初めて樹状細胞と癌抗原ペプチドを用いた進行消化器癌に対するワクチン治療を高度先進医療として認可され実施している。しかしながら、その効果は限局的であり、さらなる工夫が必要である。そこで、癌幹細胞特異的抗原を探索し、幹細胞に対しては特異抗原を標的とした樹状細胞療法を、非癌幹細胞に対しては抗がん剤治療にて殺細胞効果を得ることにより難治癌の根治を目指した。

2. 研究の目的

研究当初は標準治療である抗癌剤治療・放射線治療に抵抗性を示す癌幹細胞を特異的に破壊するため、癌幹細胞特異的な新規癌抗原を同定し、その抗原を標的とした癌免疫治療法の開発と同時に非癌幹細胞に対する化学療法の併用による治療法の開発であったが、免疫チェックポイント機構が徐々に明らかとなり、抗 PD-1 抗体などの免疫チェックポイント阻害剤の治療効果の報告を認めるようになってきたため、癌の難治性を規定すると思われる標準治療不応性の癌幹細胞に対する特異的抗原を標的として細胞障害性 T 細胞の働きを高める新規抗原を用いた樹状細胞治療と、免疫チェックポイント機構との関係を明らかにすることにより抗免疫チェックポイント抗体の併用による治療法の開発を目的とした。

3. 研究の方法

1) 癌幹細胞特異的抗原の同定: 大腸癌および健常人症例血液検体の網羅的遺伝子解析を行うことにより、転移陽性癌細胞のみに発現し、健常人血液中および非転移性症例に全く発現していない遺伝子 "plast in3(PLS3)" を発見した。大腸癌症例における PLS3 の発現を qRT-PCR にて確認。PLS3 強制発現大腸癌細胞株を用いて、機能解析を行った。

2) 免疫チェックポイント機構による免疫担当細胞と腫瘍の負のフィードバックの確認のため、腫瘍における HLA class I と PD-L1 の発現を免疫染色にて確認し臨床病理学的因子との比較検討を行った。

4. 研究成果 (1) 1. 大腸癌における新規治療標的因子 PLS3 の同定 大腸癌症例

の検体を用いた網羅的遺伝子解析にて転移陽性症例においてのみ検出可能な Plastin3(PLS3)を同定した。また、その機能解析により、PLS3 が上皮間葉移行(EMT)や癌幹細胞化を促進することを確認した。PLS3 導入大腸がん細胞株を用いたマウス肝転移モデルではコントロールに比べて肝転移が有意に増加した。(2) 食道扁平上皮癌において、HLA class I および PD-L1 がともに高発現である症例は再発率が高く、予後不良であった。

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 24 件)

1. Downregulation of SIRT4 Expression Is Associated with Poor Prognosis in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. Nakahara Y, Yamasaki M, Sawada G, Miyazaki Y, Makino T, Takahashi T, Kurokawa Y, Nakajima K, Takiguchi S, Mimori K, Mori M, Doki Y. *Oncology*. 2016 Apr 16. [Epub ahead of print]
2. Integrated Molecular Profiling of Human Gastric Cancer Identifies DDR2 as a Potential Regulator of Peritoneal Dissemination. Kurashige J, Hasegawa T, Niida A, Sugimachi K, Deng N, Mima K, Uchi R, Sawada G, Takahashi Y, Eguchi H, Inomata M, Kitano S, Fukagawa T, Sasako M, Sasaki H, Sasaki S, Mori M, Yanagihara K, Baba H, Miyano S, Tan P, Mimori K. *Sci Rep*. 2016 Mar. 3;6:22371.
3. Clinical and biological significance of circulating tumor cells in cancer. Masuda T, Hayashi N, Iguchi T, Ito S, Eguchi H, Mimori K. *Mol Oncol*. 2016 Mar. 10(3):408-17.
4. Integrated Multiregional Analysis Proposing a New Model of Colorectal Cancer Evolution. Uchi R, Takahashi Y, Niida A, Shimamura T, Hirata H, Sugimachi K, Sawada G, Iwaya T, Kurashige J, Shinden Y, Iguchi T, Eguchi H, Chiba K, Shiraishi Y, Nagae G, Yoshida K, Nagata Y, Haeno H, Yamamoto H, Ishii H, Doki Y, Iinuma H, Sasaki S, Nagayama S, Yamada K, Yachida S, Kato M, Shibata T, Oki E, Saeki H, Shirabe K, Oda Y, Maehara Y, Komune S, Mori M, Suzuki Y, Yamamoto K, Aburatani H, Ogawa S, Miyano S, Mimori K. *PLoS Genet*. 2016 Feb. 18;12(2):e1005778.

5. Genomic Landscape of Esophageal Squamous Cell Carcinoma in a Japanese Population. Sawada G, Niida A, Uchi R, Hirata H, Shimamura T, Suzuki Y, Shiraishi Y, Chiba K, Imoto S, Takahashi Y, Iwaya T, Sudo T, Hayashi T, Takai H, Kawasaki Y, Matsukawa T, Eguchi H, Sugimachi K, Tanaka F, Suzuki H, Yamamoto K, Ishii H, Shimizu M, Yamazaki H, Yamazaki M, Tachimori Y, Kajiyama Y, Natsugoe S, Fujita H, Mafune K, Tanaka Y, Kelsell DP, Scott CA, Tsuji S, Yachida S, Shibata T, Sugano S, Doki Y, Akiyama T, Aburatani H, Ogawa S, Miyano S, Mori M, Mimori K. *Gastroenterology*. 2016 Feb. S0016-5085(16)00134-7.
6. Clinical and biological significance of transcription termination factor, RNA polymerase I in human liver hepatocellular carcinoma. Komatsu H, Iguchi T, Ueda M, Nambara S, Saito T, Hirata H, Sakimura S, Takano Y, Uchi R, Shinden Y, Eguchi H, Masuda T, Sugimachi K, Eguchi H, Doki Y, Mori M, Mimori K. 2016 Apr. *Oncol Rep*. 35(4):2073-80.
7. Dysregulated YAP1/TAZ and TGF- β signaling mediate hepatocarcinogenesis in Mob1a/1b-deficient mice. Nishio M, Sugimachi K, Goto H, Wang J, Morikawa T, Miyachi Y, Takano Y, Hikasa H, Itoh T, Suzuki SO, Kurihara H, Aishima S, Leask A, Sasaki T, Nakano T, Nishina H, Nishikawa Y, Sekido Y, Nakao K, Shin-Ya K, Mimori K, Suzuki A. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Jan. 5;113(1):E71-80.
8. As a Novel Prognostic Marker, Cysteine/histidine-rich 1 (CYHR1) is a Therapeutic Target in Patients with Esophageal Squamous Cell Carcinoma. Desaki R, Sawada G, Okumura H, Ikeda R, Tanabe K, Komatsu H, Mimori K, Mori M, Kita Y, Uchikado Y, Arigami T, Uenosono Y, Owaki T, Ishigami S, Natsugoe S. *Ann Surg Oncol*. 2015 Dec 16. [Epub ahead of print]
9. An Integrative Analysis to Identify Driver Genes in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. Sawada G, Niida A, Hirata H, Komatsu H, Uchi R, Shimamura T, Takahashi Y, Kurashige J, Matsumura T, Ueo H, Takano Y, Ueda M, Sakimura S, Shinden Y, Eguchi H, Sudo T, Sugimachi K, Yamasaki M, Tanaka F, Tachimori Y, Kajiyama Y, Natsugoe S, Fujita H, Tanaka Y, Calin G, Miyano S, Doki Y, Mori M, Mimori K. *PLoS One*. 2015 Oct 14;10(10):e0139808. doi: 10.1371/journal.pone.0139808. eCollection 2015.
10. Identification of Recurrence-Related microRNAs from Bone Marrow in Hepatocellular Carcinoma Patients. Sugimachi K, Sakimura S, Tomokuni A, Uchi R, Hirata H, Komatsu H, Shinden Y, Iguchi T, Eguchi H, Masuda T, Morita K, Shirabe K, Eguchi H, Maehara Y, Mori M, Mimori K. *J Clin Med*. 2015 Aug 14;4(8):1600-11. doi: 10.3390/jcm4081600.
11. Embryonic MicroRNA-369 Controls Metabolic Splicing Factors and Urges Cellular Reprograming. Konno M, Koseki J, Kawamoto K, Nishida N, Matsui H, Dewi DL, Ozaki M, Noguchi Y, Mimori K, Gotoh N, Tanuma N, Shima H, Doki Y, Mori M, Ishii H. *PLoS One*. 2015 Jul 15;10(7):e0132789. doi: 10.1371/journal.pone.0132789. eCollection 2015.
12. *miR-615-3p* expression level in bone marrow is associated with tumor recurrence in hepatocellular carcinoma. Mukai R, Tomimaru Y, Nagano H, Eguchi H, Mimori K, Tomokuni A, Asaoka T, Wada H, Kawamoto K, Marubashi S, Doki Y, Mori M. *Mol Clin Oncol*. 2015 May;3(3):487-494. Epub 2015 Feb 25.
13. Exosomal microRNA in serum is a novel biomarker of recurrence in human colorectal cancer. Matsumura T, Sugimachi K, Iinuma H, Takahashi Y, Kurashige J, Sawada G, Ueda M, Uchi R, Ueo H, Takano Y, Shinden Y, Eguchi H, Yamamoto H, Doki Y, Mori M, Ochiya T, Mimori K. *Br J Cancer*. 2015 Jul 14;113(2):275-81. doi: 10.1038/bjc.2015.201. Epub 2015 Jun 9.
14. Overexpression of Transcription Termination Factor 1 is Associated with a Poor Prognosis in Patients with Colorectal Cancer. Ueda M, Iguchi T, Nambara S, Saito T, Komatsu H, Sakimura S, Hirata H, Uchi R, Takano Y, Shinden Y, Eguchi H, Masuda T, Sugimachi K, Yamamoto H, Doki Y, Mori M, Mimori K. *Ann Surg Oncol*. 2015 Jun 3. [Epub ahead of print]

15. A Long Non-coding RNA Activated by Transforming Growth Factor- β is an Independent Prognostic Marker of Gastric Cancer. Saito T, Kurashige J, Nambara S, Komatsu H, Hirata H, Ueda M, Sakimura S, Uchi R, Takano Y, Shinden Y, Iguchi T, Eguchi H, Ehata S, Murakami K, Sugimachi K, Mimori K. *Ann Surg Oncol*. 2015 May 19. [Epub ahead of print]
16. Significance of Polypyrimidine Tract-Binding Protein 1 Expression in Colorectal Cancer. Takahashi H, Nishimura J, Kagawa Y, Kano Y, Takahashi Y, Wu X, Hiraki M, Hamabe A, Konno M, Haraguchi N, Takemasa I, Mizushima T, Ishii M, Mimori K, Ishii H, Doki Y, Mori M, Yamamoto H. *Mol Cancer Ther*. 2015 Jul;14(7):1705-16. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-14-0142. Epub 2015 Apr 22.
17. Circulating tumour cell-derived plastin3 is a novel marker for predicting long-term prognosis in patients with breast cancer. Ueo H, Sugimachi K, Gorges TM, Bartkowiak K, Yokobori T, Müller V, Shinden Y, Ueda M, Ueo H, Mori M, Kuwano H, Maehara Y, Ohno S, Pantel K, Mimori K. *Br J Cancer*. 2015 Apr 28;112(9):1519-26. doi: 10.1038/bjc.2015.132. Epub 2015 Apr 16.
18. Intestinal epithelial culture under an air-liquid interface: a tool for studying human and mouse esophagi. Yokobori T, Suzuki S, Miyazaki T, Sohda M, Sakai M, Tanaka N, Ozawa D, Hara K, Honjo H, Altan B, Fukuchi M, Ishii H, Iwatsuki M, Sugimachi K, Sudo T, Iwaya T, Nishida N, Mimori K, Kuwano H, Mori M. *Dis Esophagus*. 2015 Mar 23. doi: 10.1111/dote.12346. [Epub ahead of print]
19. A Highly Accurate Inclusive Cancer Screening Test Using *Caenorhabditis elegans* Scent Detection. Hirotsu T, Sonoda H, Uozumi T, Shinden Y, Mimori K, Maehara Y, Ueda N, Hamakawa M. *PLoS One*. 2015 Mar 11;10(3):e0118699. doi: 10.1371/journal.pone.0118699. eCollection 2015.
20. A Long Noncoding RNA, lncRNA-ATB, Is Involved in the Progression and Prognosis of Colorectal Cancer. Iguchi T, Uchi R, Nambara S, Saito T, Komatsu H, Hirata H, Ueda M, Sakimura S, Takano Y, Kurashige J, Shinden Y, Eguchi H, Sugimachi K, Maehara Y, Mimori K. *Anticancer Res*. 2015 Mar;35(3):1385-8.
21. The miR-506-Induced Epithelial-Mesenchymal Transition is Involved in Poor Prognosis for Patients with Gastric Cancer. Sakimura S, Sugimachi K, Kurashige J, Ueda M, Hirata H, Nambara S, Komatsu H, Saito T, Takano Y, Uchi R, Sakimura E, Shinden Y, Iguchi T, Eguchi H, Oba Y, Hoka S, Mimori K. *Ann Surg Oncol*. 2015 Feb 24. [Epub ahead of print]
22. F-box protein FBXW7 inhibits cancer metastasis in a non-cell-autonomous manner. Yumimoto K, Akiyoshi S, Ueo H, Sagara Y, Onoyama I, Ueo H, Ohno S, Mori M, Mimori K, Nakayama KI. *J Clin Invest*. 2015 Feb;125(2):621-35. doi: 10.1172/JCI78782. Epub 2015 Jan 2.
23. Diminished expression of MiR-15a is an independent prognostic marker for breast cancer cases. Shinden Y, Akiyoshi S, Ueo H, Nambara S, Saito T, Komatsu H, Ueda M, Hirata H, Sakimura S, Uchi R, Takano Y, Iguchi T, Eguchi H, Sugimachi K, Kijima Y, Ueo H, Natsugoe S, Mimori K. *Anticancer Res*. 2015 Jan;35(1):123-7.
24. Epigenetic modulation and repression of miR-200b by cancer-associated fibroblasts contribute to cancer invasion and peritoneal dissemination in gastric cancer. Kurashige J, Mima K, Sawada G, Takahashi Y, Eguchi H, Sugimachi K, Mori M, Yanagihara K, Yashiro M, Hirakawa K, Baba H, Mimori K. *Carcinogenesis*. 2015 Jan;36(1):133-41. doi: 10.1093/carcin/bgu232. Epub 2014 Nov 19.
- [学会発表](計12件)
1. 大腸癌におけるマイクロRNA17-92の標的遺伝子異常発現の分子機序とその臨床的意義. 杉町圭史、内龍太郎、平田秀成、崎村正太郎、井口友宏、江口英利、増田隆明、森田和豊、竹中賢治、森正樹、前原喜彦、三森功士. 第26回日本消化器癌発生学会総会. 2015 米子
2. 大腸癌のゲノム・エピゲノム解析により明らかとなった腫瘍内多様性クローン進化. 内龍太郎、高橋佑典、新井田厚司、鈴木穰、森正樹、宮野悟、三森功士. 第26回日

本消化器癌発生学会総会.2015 米子

3. 大腸癌における miR-146a 多型の臨床的意義. 井口友宏、小松久晃、増田隆明、南原翔、齋藤衆子、上田正射、平田秀成、崎村正太郎、内龍太郎、新田吉陽、伊藤修平、江口英利、三森功士. 第 74 回日本がん学会学術総会.2015 名古屋

4. 大腸癌の腫瘍内不均一性とゲノム・エピゲノムの進化.内龍太郎、高橋佑典、新井田厚司、平田秀成、森正樹、宮野悟、三森功士. 第 74 回日本がん学会学術総会.2015 名古屋

5. 大腸癌細胞における PLS3 は上皮間葉移行を介して肝転移を形成する. 上田正射、新田吉陽、杉町圭史、三森功士. 第 24 回日本がん転移学会学術集会・総会.2015 大阪

6. 大腸癌肝転移における宿主細胞と癌細胞の microRNA を介した微小環境の解明. 上田正射、高野裕樹、齋藤衆子、南原翔、小松久晃、崎村正太郎、平田秀成、内龍太郎、新田吉陽、井口友宏、江口英利、増田隆明、杉町圭史、山本浩文、土岐祐一郎、森正樹、三森功士. 第 36 回癌免疫外科研究会.2015 奄美大島

7. 遺伝子多型と網羅的 pathway 解析による糖尿病合併症大腸発癌の危険因子の同定.杉町圭史、山口類、上田正射、井口友宏、江口英利、調憲、宮野悟、森正樹、前原喜彦、三森功士. 第 70 回日本消化器外科学会総会.2015 浜松

8. 大腸癌における 8q24 多型と糖尿病の遺伝環境相互解析による発癌関連遺伝子の同定. 杉町圭史、上田正射、南原翔、小松久晃、高野裕樹、新田吉陽、井口友宏、山口類、新井田厚司、宮野悟、森正樹、前原喜彦、三森功士. 第 115 回日本外科学会定期学術集会.2015 名古屋

9. 大腸癌における rRNA 転写因子 TTF-1 の臨床的意義と癌進展における役割について. 上田正射、南原翔、小松久晃、高野裕樹、新田吉陽、井口友宏、江口英利、杉町圭史、土岐祐一郎、森正樹、三森功士. 第 115 回日本外科学会定期学術集会.2015 名古屋

10. 大腸癌において TGF により活性化される Long noncoding RNA の臨床病理学的意義. 井口友宏、内龍太郎、南原翔、齋藤衆子、小松久晃、平田秀成、上田正射、崎村正太郎、高野裕樹、藏重淳二、新田吉陽、江口英利、杉町圭史、三森功士. 第 25 回日本

消化器癌発生学会.2014 福岡

11. 大腸癌肝転移における宿主細胞と癌細胞の microRNA を介した微小環境の解明. 高野裕樹、崎村正太郎、上田正射、平田秀成、藏重淳二、杉町圭史、矢永勝彦、三森功士. 第 73 回日本癌学会学術集会.2014 横浜

12. 大腸癌における Platin3 の過剰発現は、上皮間葉移行を介して肝転移を促進させる因子となる. 上田正射、杉町圭史、崎村正太郎、平田秀成、高野裕樹、内龍太郎、藏重淳二、新田吉陽、江口英利、井口友宏、森正樹、三森功士. 第 73 回日本癌学会学術集会.2014 横浜

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1)研究代表者：江口 英利
(Eguchi Hidetoshi)

九州大学・大学病院・講師
研究者番号：90527756

(2)研究分担者：井口 友宏
(Iguchi Tomohiro)

九州大学・大学病院・助教
研究者番号：30598959

(3)連携研究者：三森 功士
(Mimori Koshi)

九州大学・大学病院・教授
研究者番号：50322748