

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462046

研究課題名(和文)潰瘍性大腸炎合併Dysplasiaの悪性度診断における癌幹細胞同定の有用性の検討

研究課題名(英文) Expression of stem cell marker CD133 in ulcerative colitis-associated colorectal cancer and dysplasia

研究代表者

風間 伸介 (KAZAMA, SHINSUKE)

東京大学・医学部附属病院・登録研究員

研究者番号：60401098

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：CD133発現の検討

1)大腸ポリープにおける検討：腫瘍径の増大、高異型度に伴う可能性が示唆された。2)大腸癌リンパ節転移症例における検討：陽性症例は予後不良な傾向を示し、原発巣よりも転移リンパ節の発現の方がより予後を反映する可能性が示唆された。3)大腸癌肝転移症例における検討：肝転移における陽性症例は有意に予後良好であり、予後予測因子としても有用であると考えられた。その理由として、肝以外の臓器への転移再発率が低いことが示唆された。4)潰瘍性大腸炎合併癌、Dysplasiaにおける検討：発現は炎症性発癌でも認められ、異型が高くなるに伴い発現頻度の高くなる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Immunohistochemical expression of stem cell marker CD133

1) CD133 might play an important role in both tumor development and progression in colorectal polyps. 2) CD133-positive cancer might be more aggressive than CD133-negative cancer during the process of lymph node metastasis. 3) CD133 expression in liver metastases had significant correlation with CD133 expression in primary lesion. Patients without CD133 expression in liver metastasis had significantly shorter survival, perhaps because mCD133- patients had a significantly higher rate of extrahepatic recurrence. 4) CD133 might play an important role in ulcerative colitis-associated colorectal cancer and dysplasia.

研究分野：癌幹細胞

キーワード：癌幹細胞 CD133 大腸癌 大腸ポリープ 潰瘍性大腸炎 炎症性発癌

1. 研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎は炎症性腸疾患の代表的な疾患であり、欧米での罹患患者が多い疾患であるが、近年日本においても患者数は年々増加し、平成21年度で約11万人の患者がいると推定されている。また当疾患は、長期経過すると癌化することが知られており、その累積癌化率は罹患後10年で0-5%、20年で8-23%、30年で30-40%(Gut 2003;48:526-535)といわれ極めて高率である。よって潰瘍性大腸炎合併大腸癌を早期発見、早期治療することが本邦の潰瘍性大腸炎患者の死亡率を減少させるために必須である。

現在潰瘍性大腸炎合併大腸癌を早期発見するために、発症後7-10年経過した潰瘍性大腸炎患者には、年に一回の大腸内視鏡検査がサーベイランスとして推奨されている。サーベイランス法として10cmおきにいわば盲目的に生検を合計10-20箇所採取するstep biopsy法に加え、色素散布を併用して肉眼的に病変を発見し同部位を生検するtarget biopsy法が行われ、いわゆるDALM(dysplasia associated lesion of mass)と呼ばれる隆起性の前癌病変だけでなく、平坦型の病変も高率に同定されるようになってきた。

生検の病理組織検査では、IND(indefinite dysplasia)、LGD(low grade dysplasia)(図2)、HGD(high grade dysplasia)、sm浸潤癌と診断される。HGDとsm浸潤癌の診断の場合には外科切除が考慮されるが、LGDの場合には治療方針が決まっていないのが現状である。理由としてLGDがHGDやsm浸潤癌に進展する比率が3-53%と報告のばらつきが大きく(Gut 2010;59:666-689)、必ずしも全てのLGDが前癌病変ではないことが示唆されること、その一方LGDで外科切除を施行した患者の25%にsm浸潤癌、11%にHGDを認め、LGDのなかには同一大腸内の前癌病変のマーカースなりうる病変がある(Aliment Pharmacol Ther 2007;25:657-668)ということである。

つまり悪性度の高いLGDを何らかの方法ですらに区分できれば治療方針に非常に参考になる。

2. 研究の目的

潰瘍性大腸炎長期経過症例の材料を用いて、癌幹細胞マーカーCD133-mRNAの同定と免疫染色を施行することでLGDの悪性度を亜分類し、治療方針決定の一助とすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 原発性大腸癌患者の材料でCD133免疫染色を施行し陽性群、陰性群のcut-off値の決定方法、免疫染色の判定方法の固定を行う。

(2) 潰瘍性大腸炎合併癌、合併dysplasiaで外科切除が施行された標本を用いて、浸潤癌、HGD、LGDと診断された部位のCD133免疫染色を施行し、結果を参考にしてLGDの悪性度分類を行う。

4. 研究成果

(1) 大腸ポリープにおけるCD133発現の検討

【対象】1993年1月から1995年12月に当科で内視鏡的切除を行った大腸ポリープ115例を検討対象とした。男性:女性=98:17であり、年齢中央値は57歳。腫瘍の局在は、右側結腸31例、左側結腸57例、直腸23例。組織型は過形成性ポリープ6例、腺腫88例(mild atypia 13例、moderate 71例、severe 4例)、腺癌21例(m癌19例、sm癌2例)。ポリープ径の平均値は9.3mmで10mm未満が64例、10mm以上が50例。

【方法】抗CD133抗体(Miltenyi AC133 anti-cd133 mouse mAb:100倍希釈)を用いて免疫染色を施行。5%以上の発現を認めたものを陽性とし、臨床病理学的因子との相関について検討を行った。

【結果】115例中14例(12.2%)でCD133陽性であった。過形成性ポリープとmild atypiaの腺腫には陽性症例は認められず、高異型度腺腫、癌の症例(P=0.01)およびポリープ径が10mm以上

の症例(P=0.03)で有意に多く CD133 陽性症例が認められた。【結語】CD133 の発現は腫瘍径の増大、高異型度に伴う可能性が示唆された。

(2) 大腸癌リンパ節転移症例(Stage III)における、免疫染色を用いた CD133 発現の検討

【対象】2000 年 2 月から 2007 年 12 月に当科で外科的根治手術が施行された Stage III 大腸癌 138 例。男性 85 例、女性 41 例、年齢中央値は 67 歳、腫瘍の局在は、結腸 97 例、直腸 23 例。組織型は Pap/Well 67 例、Mod 63 例、Por/Muc 8 例。

【方法】抗 CD133 抗体 (Miltenyi AC133 anti-cd133 mouse mAb:100 倍希釈) を用いて免疫染色を施行。5%以上の発現を認めたものを陽性とし、臨床病理学的因子との相関について検討を行った。

【結果】CD133 陽性症例は、原発巣 96 例 (69.6%)、リンパ節転移巣 86 例 (62.3%) であり、ともに陽性の症例は 73 例 (52.9%) であった。原発巣、リンパ節転移巣別に、陽性群と陰性群に分けて臨床病理学的因子との相関を検討したが、いずれの因子とも有意な差を認めなかった。また生存率について検討したところ、Overall survival で、原発巣 CD133 陽性群が陰性群よりも予後不良な傾向を示したが(p=0.0913)、転移リンパ節 CD133 陽性群のほうがさらに予後不良な傾向を示した(p=0.0511)。

【まとめ】CD133 の発現は予後不良な傾向を示し、原発巣よりも転移リンパ節の発現の方がより予後を反映する可能性が示唆された。

(3) 大腸癌肝転移症例(Stage IV)における、免疫染色を用いた CD133 発現の検討

【対象と方法】1998 年 1 月から 2008 年 12 月までに当院で根治手術を施行した大腸癌同時性肝転移症例 88 例。原発巣および肝転移巣における CD133 発現を免疫組織学的に検討し、臨床病理学的因子 (年齢、性別、原発巣部位、深達度、リンパ節転移の有無、組織型、脈管浸潤の有無、肝以外への転移の有無、肝転移数、肝転移最大径、術後補助化学療法の有無) および

無再発生存率・全生存率との関連を解析した。

【結果】CD133 陽性症例は原発巣で 88 例中 44 例 (50.0%)、肝転移巣で 88 例中 50 例 (56.8%) であった。原発巣・肝転移における CD133 発現はいずれの臨床病理学的因子とも相関を認めなかった。肝転移における CD133 陽性症例は陰性症例と比較して有意に良好な 5 年無再発生存率 (24.0%vs11.0%、p=0.043) および 5 年生存率 (63.0%vs37.1%、p=0.014) を示した。再発臓器についての検討では、肝転移再発率は CD133 陽性・陰性症例間で有意差を認めなかったが、肝以外の臓器における転移再発は CD133 陽性症例で有意に少なかった (P<0.01)。

【考察】肝転移における CD133 陽性症例は有意に予後良好であり、予後予測因子としても有用であると考えられた。予後良好である理由として、肝転移における CD133 陽性症例は肝以外の臓器への転移再発率が低いことが示唆された。

(4) 潰瘍性大腸炎合併癌、Dysplasia における、免疫染色を用いた CD133 発現の検討

【対象】1990 年 2 月から 2014 年 2 月に当科で外科的切除が施行された、潰瘍性大腸炎合併癌 30 例、Dysplasia 6 例 (Low grade dysplasia (LGD):5 例、High grade dysplasia (HGD):1 例)、合計 36 例。対象の内訳は、男性 22 例、女性 14 例、手術時年齢中央値は 50 歳、平均罹患年数は 17 年。潰瘍性大腸炎では、癌の多発病変、Dysplasia の併存を認めることから、癌部 34 病変、LGD 45 病変、HGD 33 病変、合計 112 病変を検討対象病変とした。

【方法】抗 CD133 抗体 (Miltenyi AC133 anti-cd133 mouse mAb:100 倍希釈) を用いて免疫染色を施行。5%以上の発現を認めたものを陽性とし、病理組織学的因子との相関について検討を行った。

【結果】CD133 陽性病変は、LGD 45 病変中 4 病変 (8.9%)、HGD 33 病変中 11 病変 (33.3%)、癌部 34 病変中 16 病変 (47.1%) であり、HGD で発現率が増加し、早期癌に比して進行癌で有意に多く発現が認められた (7 病変/21 病変 vs. 9 病変

/13 病変 p=0.041)。

【結語】CD133 の発現は炎症性発癌でも認められ、異型 が高くなるに伴い発現頻度の高くなる可能性が示唆された。

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)

Kishikawa J, Kazama S, Oba K, Hasegawa K, Anzai H, Harada Y, Abe H, Matsusaka K, Hongo K, Oba M, Yasuda K, Otani K, Nishikawa T, Tanaka T, Tanaka J, Kiyomatsu T, Hata K, Kawai K, Nozawa H, Yamaguchi H, Ishihara S, Sunami E, Ushiku T, Kitayama J, Fukayama M, Kokudo N, Watanabe T. CD133 Expression at the Metastatic Site Predicts Patients' Outcome in Colorectal Cancer with Synchronous Liver Metastasis. Ann Surg Oncol. 査読あり 2016 Jun;23(6):1916-23.
doi:10.1245/s10434-016-5099-1.

Kazama S, Kishikawa J, Yasuda K, Otani K, Nishikawa T, Tanaka T, Tanaka J, Kiyomatsu T, Kawai K, Hata K, Nozawa H, Yamaguchi H, Ishihara S, Sunami E, Watanabe T. CD133 Expression in Lymph Node Metastases Is Associated with Tumor Aggressiveness During Lymph Node Metastasis in Colorectal Cancer. Anticancer Res. 査読あり 2015 Dec;35(12):6599-605.

〔学会発表〕(計 3 件)

第 115 回日本外科学会定期学術集会 大腸癌肝転移症例における CD133 発現の免疫組織学的検討 岸川純子 風間伸介 長谷川潔 本郷久美子 山口博紀 石原聡一郎 須並英二 牛久哲男 北山丈二 深山正久 國土典宏 渡邊聡明 2015 年 4 月 18 日 名古屋国際会議場 (愛知県、名古屋市)

第 115 回日本外科学会定期学術集会 Stage III 大腸癌における CD133 免疫組織学

的発現と臨床病理学的因子の検討 風間伸介、岸川純子、西川武司、田中敏明、田中潤一郎、清松知充、畑啓介、川合一茂、野澤宏彰、山口博紀、石原総一郎、須並英二、渡邊聡明 2015 年 4 月 18 日 名古屋国際会議場 (愛知県、名古屋市)

第 71 回日本消化器外科学会 潰瘍性大腸炎の炎症性発癌経路における CD133 発現の免疫組織学的検討 風間伸介、山口博紀、石原総一郎、西村洋治、川島吉之、坂本裕彦、渡邊聡明 2016 年 7 月 14 日 あわぎんホール (徳島県、徳島市)

〔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
風間伸介 (KAZAMA Shinsuke)
東京大学医学部附属病院 登録研究員
研究者番号：60401098

(2) 研究分担者
山口博紀 (YAMAGUCHI Hironori)
東京大学医学部附属病院 講師
研究者番号：20376445

須並英二 (SUNAMI Eiji)
東京大学医学部附属病院 登録研究員
研究者番号：70345205

渡邊 聡明 (WATANABE Toshiaki)
東京大学医学部附属病院 教授
研究者番号： 80210920

(3) 連携研究者
()

研究者番号：