

演題名「肝細胞癌における APC 結合蛋白 EB1 の予後、再発予測因子としての有用性」

相山 健<sup>1)</sup>、横尾 英樹<sup>1)</sup>、折茂 達也<sup>1)</sup>、大畑 多嘉宣<sup>1)</sup>、畑中 佳奈子<sup>2)</sup>、畑中 豊<sup>2)</sup>、  
松野 吉宏<sup>2)</sup>、若山 顕治<sup>1)</sup>、柿坂 達彦<sup>1)</sup>、敦賀 陽介<sup>1)</sup>、蒲池 浩文<sup>1)</sup>、神山 俊哉<sup>1)</sup>、  
武富 紹信<sup>1)</sup>

1) 北海道大学大学院医学研究科 消化器外科学分野 I

2) 北海道大学病院 病理部

【背景】我々は以前にプロテオミクス解析を用いて APC 結合蛋白 EB1 (以下 EB1) が肝細胞癌の細胞株および癌組織切片に高発現していることを報告した。しかし、そのメカニズムは十分明らかとなっていない。

【目的】EB1 と肝細胞癌の臨床病理学的特徴との関連を解析し、EB1 の新規バイオマーカーとしての有用性、ならびにその分子機構を明らかにする。

【対象・方法】(1) 当科で行った 235 例の初発肝細胞癌根治切除症例を対象に免疫組織化学染色を行い、臨床病理学的因子や予後、再発との相関関係を解析した。(2) EB1 高発現肝癌細胞株 (HLF・HLE) に対し siRNA を用いて増殖・遊走・浸潤能の変化を解析した。また、EMT との関連も Western blot・Real time PCR にて解析した。

【結果】(1) 細胆管上皮より強く染まる腫瘍細胞が 30%以上を占める場合を EB1 高発現群とすると、高発現群は 24 例、低発現群は 211 例であった。高発現群は分化度、AFP、門脈浸潤と有意な相関関係を示した ( $P < 0.05$ )。また、全生存率は高発現群で有意に不良 ( $P < 0.0001$ ) であり、再発率も高発現群で有意に高かった ( $P < 0.0001$ )。(2) EB1 の発現を抑制すると、有意に増殖・遊走・浸潤能が低下した。しかし、EMT との関連性はみられなかった。

【まとめ】肝細胞癌において EB1 の発現は予後および再発予測因子として有用であった。また、EMT 以外のメカニズムで浸潤に関わる可能性が示唆された。

演題名 「鉄制御を用いた新しいがん治療法の開発」

大原 利章<sup>1,2</sup>、藤原 俊義<sup>1</sup>

1) 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 消化器外科学

2) 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 免疫病理学

#### 【抄録】

鉄は生体にとって必須の微量元素であり、それは正常細胞でも癌細胞でも同様である。動物モデルに鉄化合物を投与し続けると発癌が認められる事は以前から知られているが、鉄を減らす(除鉄)する事は癌治療としては確立されていない。我々はこの原因を除鉄によって誘導される代償的血管新生にある事を明らかにし、除鉄に血管新生阻害薬を併用する新規治療法を開発した。今回は除鉄のもたらす様々な抗腫瘍効果と最新の知見について紹介したい。

我々は食餌を用いた除鉄マウスモデルの作成から始め、肺癌細胞株(A549)で皮下腫瘍を作成した。除鉄食餌群では腫瘍の増殖が抑制されたが、代わりに低酸素領域が増え、血管新生が増強されている事が判明した。そこで除鉄食に血管新生阻害薬の Bevacizumab を併用すると強い抗腫瘍効果が認められた。

次に同様に血管新生阻害作用のある分子標的薬に除鉄を併用する事で抗腫瘍効果が増強される可能性があるかを、肝臓癌の Sorafenib について臨床症例を解析した。すると血清フェリチン低値、TIBC 高値の体内鉄低値群で全生存期間の延長が認められた。肝臓癌細胞株(HepG2, HLE)を用いた実験でも Sorafenib に除鉄剤の Deferasirox を併用すると抗腫瘍効果の増強が認められた。

演題名「Therapeutic targeting of Cancer-Induced MDSCs for metastatic lung cancer」

山下 公大、掛地 吉弘

(神戸大学 食道胃腸外科)

### 【目的】

骨髄由来抑制細胞 (Myeloid derived suppressor cells:MDSC) は腫瘍由来サイトカインにより増殖・維持され、主に細胞性免疫に対し抑制的に機能する未熟な細胞群で、腫瘍の増殖、転移に関与する。また、5-FU では MDSC を減少させ、腫瘍の進展を抑制することが示唆されている。我々は B16F10 メラノーマ腫瘍株を用いてマウス肺転移モデルを作成し、転移への影響についての検討を行った。

### 【方法】

腫瘍細胞を皮下投与し、脾臓・肺・末梢血及び腫瘍組織内における MDSC の変化を追跡した。また、5-FU 投与による MDSC への影響を評価した。次に腫瘍皮下投与 10 日目に、腫瘍細胞を静注し、肺転移を引き起こすモデルを作成した。5-FU 治療群と未治療群の比較を行い、MDSC の動態と生存期間について検討した。同モデルで抗 Gr-1 抗体の投与で、5-FU 治療の効果が MDSC に関与するか否かを検証した。また、同肺転移モデルを用いて、皮下樹立腫瘍を原発巣として、原発巣切除を行った上で、MDSC の変化及び治療効果の意義を検討した。

### 【結果】

5-FU 治療群は、未治療群と比較し MDSC 数と割合の減少を認め、肺転移は抑制され、生存期間の延長を認めた。抗 Gr-1 抗体の投与により 5-FU 治療群の未治療群に対する治療効果の優位性は消失した。5-FU 治療は治療後早期より MDSC の分化・増殖に関与し、絶対数が制御されることにより、肺転移に抑制的に働くことが示唆された。次に同モデルで原発巣 (皮下腫瘍) 切除を行った。切除は時期によるものの、MDSC 数が減少し、肺転移数も変化する傾向にあった。

### 【結論】

5-FU 治療は MDSC を減少させることにより、肺転移を抑制し、生存期間を延長させる。さらに肺転移モデルでの原発巣切除は、切除時期によっては転移が抑制的に作用しうることが示された。担癌状態での MDSC の制御はその病態の進行を抑制的に機能することが示唆された。

演題名「胃癌腹膜播種の機序解明と新しい治療法の開発」

藏重 淳二<sup>1,2</sup>、美馬 浩介<sup>1,2</sup>、江藤 弘二郎<sup>1</sup>、岩槻 政晃<sup>1</sup>、岩上 志朗<sup>1</sup>、馬場 祥史<sup>1</sup>、  
吉田 直矢<sup>1</sup>、三森 功士<sup>2</sup>、馬場 秀夫<sup>1</sup>

1) 熊本大学大学院 消化器外科

2) 九州大学病院別府病院 外科

【背景】われわれは、腹膜播種モデルマウスを用いて、腹膜播種性転移に有意に働き、胃癌患者の予後を大きく規定する遺伝子を治療標的と考えその探索を行った。

【方法】腹膜播種モデルマウスに用いる腹膜播種性転移細胞株4種類およびそれぞれの親株3種類のgene arrayによる遺伝子発現比較と胃癌大規模臨床サンプル200例の遺伝子発現情報との統合解析を行い、腹膜播種陽性症例に高発現し、予後を規定する遺伝子群の同定を行った。

【結果】それぞれの腹膜播種性転移細胞株と親株との比較のなかで、HSC-58に比較して58As9において高発現する遺伝子で構成した遺伝子群が、胃癌臨床検体において腹膜播種陽性症例に高発現しており、予後不良因子であることが分かった。その遺伝子群にはケモカインレセプターであるCXCR7とそのリガンドであるCXCL12やTGF- $\beta$ 1, HDGFRP3、細胞接着に関係するDDR2、ITGB3などが含まれていた。その中でも、DDR2はコラーゲンのレセプターであり、DDR2の発現をknockdownさせると、胃癌腹膜播種モデルマウスにて有意に腹膜播種の数が増加した。またDDR2シグナルを抑制するといわれているDasatinib投与により胃癌腹膜播種モデルマウスの予後が有意に改善した。

【まとめ】腹膜播種性転移細胞の遺伝子発現は、胃癌臨床検体における遺伝子発現ならびに臨床情報を表現しており、胃癌腹膜播種のみならず、胃癌腹膜播種以外のメカニズムを解く非常に有用なツールであると思われる。その中でもDDR2は、腹膜播種症例で高発現しており、胃癌腹膜播種の有望な治療ターゲットであることが示唆された。

演題名「胃癌腹膜播種形成における exosome の関与の検討」

市川 大輔、大辻 英吾

京都府立医科大学 消化器外科

【背景・目的】胃癌における腹膜播種はその予後を左右する重要な予後規定因子であるが、その転移形成メカニズムの詳細は未だ解明されていない。今回、細胞外遊離エクソソームの胃癌における腹膜播種形成への関与について検討した。

【方法】 1) 術中に腹腔内に出た血液成分中や漿膜浸潤胃癌の漿膜面から放出される exosome の存在を想定し、細胞培養液中から抽出した exosome を用いて胃癌細胞株と中皮細胞株を用いた adhesion assay ならびに invasion assay への同添加の影響について検討した。2) 血球成分に含まれる exosome の癌細胞に対する影響も解析するため、同添加による癌細胞内への取り込みについて検討した。

【結果】 1) 癌細胞由来遊離エクソソームの胃癌細胞株ならびに中皮細胞株への取り込みが確認された。癌細胞由来エクソソームの添加により胃癌細胞株の接着能ならびに浸潤能の亢進を認めた。実際の胃癌患者腹水中の多量の microRNA の存在も確認した。また、その分子機構についても現在解析中である。2) 血球由来の exosome (microvesicles) が存在し、それらが癌細胞に取り込まれることも確認された。【結語】 術中出血や癌細胞遊離 exosome なども腹膜播種形成に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。また、血球成分由来の exosome も癌病態に何らかの影響を及ぼす可能性があると思われる。

演題名「大腸癌の分子診断・オーダーメイド治療における microRNA の可能性」

札幌医科大学消化器・免疫・リウマチ内科

能正 勝彦、篠村 恭久

microRNA の発現異常は様々な消化器癌で報告され、大腸癌においても診断や治療のバイオマーカーになる可能性が示唆されている。我々は最近、大腸癌症例を対象に microRNA アレイを用いて BRAF 変異と有意な相関を示す microRNA-31(miR-31)-5p の同定に成功。さらに miR-31 は不良な予後とも相関し、EGFR 下流シグナルを制御する可能性も合わせて報告している (Nosho K, et al, Carcinogenesis 2014)。また本来であれば抗 EGFR 抗体薬の効果が期待される KRAS、BRAF、NRAS 遺伝子がいずれも野生型の群においても癌組織での miR-31 高発現群はその PFS が有意に短縮されることも明らかにしている (Igarashi H, Nosho K, Ann Surg Oncol, in press)。このように抗 EGFR 抗体薬治療のコンパニオン診断として大腸癌組織の miR-31 発現の有用性が明らかになりつつあるが、我々の検討した症例数は 100 例程度であり、多症例での検証が必要と考えられる。またその有用性が証明できれば、次のステップとして血中の miR-31 がその効果予測因子として臨床応用可能かどうか検討を進めたい。

さらに我々は大腸癌細胞株の実験で、抗 EGFR 下流シグナルが亢進し、抗 EGFR 抗体薬による治療が期待できない細胞株においても、ある特定の遺伝子異常を有するものでは抗 EGFR 抗体薬に miR-31 阻害薬を上乗せすることで抗腫瘍効果が得られる可能性を明らかにしつつある。このように microRNA は診断だけでなく、治療のターゲットにもなりうるが、そのメカニズム解明や動物実験等での検証はまだ行われていないため、大腸癌の新たなオーダーメイド治療の可能性についての研究も予定している。

演題名「Non-coding RNA の消化器癌進展への関わり」

西田 尚弘<sup>1</sup>、森 正樹<sup>2</sup>

大阪大学大学院

<sup>1</sup>消化器癌先進化学療法開発学

<sup>2</sup>消化器外科学

近年、多種多様な非翻訳 RNA（以下 non-coding RNA）の癌の発生・進展への関わりが明らかになりつつあるが、それらの系統的な分類はもとより、機能に関してはいまだ不明な点が多い。最近の研究で、ゲノム上で Ultra-conserved region と呼ばれる進化的に高度に保存された領域から、膨大な量の non-coding RNA が転写されていることがわかってきた。この研究では、これらの転写産物（transcribed ultra-conserved region, T-UCR と呼ぶ）がその近傍遺伝子の発現を制御し、癌進展に関わっていることを示す。低酸素により誘導されることが明らかとなった T-UCR のうち、uc.475 と呼ばれる non-coding RNA は、タンパクの糖鎖付加に関わる遺伝子である O-linked N-acetyl-glucosamine (GlcNAc) transferase (OGT) のイントロンに位置し、そのホストである OGT の発現を制御することで、大腸癌細胞株の増殖に関わっていることが明らかとなった。OGT は近年癌遺伝子としての機能が注目されており、この転写を正に制御する uc.475 は新たな癌治療標的としての意義を有する。

演題名「食道癌の腫瘍免疫および浸潤形態における PD-L1 の発現意義」

中島 雄一郎、岡野 慎士、堤 智崇、伊藤 修平、安藤 幸滋、今村 裕、大垣 吉平、

佐伯 浩司、沖 英次、前原 喜彦

九州大学大学院 消化器・総合外科

【背景】 癌細胞に発現する PD-L1 (programmed cell death 1 ligand 1) は T 細胞の機能を抑制することにより、宿主免疫機構を回避するとされている。また、HLA (Human leukocyte antigen) class I は癌細胞においてしばしば発現量が低下しており、宿主免疫からの認識を免れていると考えられている。また、PD-L1 のプロモーター領域に EMT (Epithelial mesenchymal transition) を誘導する ZEB-1 の結合領域が存在するが、PD-L1 と EMT との関連については不明である。

【目的】 食道癌における PD-L1 と HLA-class I 蛋白発現を検討する。さらに EMT と PD-L1 発現の関連についても検討する。

【対象・方法】 食道切除術を施行された食道扁平上皮癌症例を対象に、PD-L1 と HLA-class I 蛋白発現を免疫組織化学染色にて評価し、臨床病理学的因子および予後との関連を検討する。食道癌細胞株において ZEB-1 と PD-L1 発現調節について検討する。

【結果】 (1) PD-L1 と HLA-class I 発現： HLA-class I 高発現群においては、PD-L1 高発現群は低発現群に比較して有意に予後不良であった。(2) 腫瘍先進部での PD-L1 発現は癌細胞の budding に関与し、細胞株において ZEB-1 の抑制により PD-L1 発現が抑制された。

【結語】 HLA class I を発現する食道癌では、PD-L1 発現の有無が宿主の免疫回避機構に大きく影響すると考えられた。また、腫瘍先進部においては EMT を介して免疫回避機構が誘導されている可能性が示唆された。