

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

癌幹細胞、癌間質幹細胞を標的とした新しい分子標的診断法の開発

研究分担者 小田 竜也 筑波大学医学医療系消化器外科 教授

研究要旨

膵癌等の難治性固形癌において、がん細胞、腫瘍関連線維芽細胞(Cancer Associated Fibroblast: CAF)両者共にその元となる幹細胞が活動の Key であり、その癌幹細胞／癌間質幹細胞を標的とするがん診断法、治療法の開発を目的にした。今回、骨髓由来 及び 脂肪細胞由来の間葉系幹細胞 (BM-MSC, Ad-MSC)という、マウスへの移植がんモデルで、臨床癌に類似した線維組織の増生像を再現する“癌間質の幹細胞候補”を手に入れた。癌幹細胞／癌間質幹細胞を標的する上で不可欠なそれぞれのマーカー (signature)を同定する重要なきっかけを得る事が出来た。

A. 研究目的

膵癌等の難治性固形癌において、がん細胞、腫瘍関連線維芽細胞(Cancer Associated Fibroblast: CAF)両者共にその元となる幹細胞が活動のKeyであり、その癌幹細胞／癌間質幹細胞を標的とするがん診断法、治療法の開発を目的にした。今回、骨髓由来 及び 脂肪細胞由来の間葉系幹細胞 (BM-MSC, Ad-MSC)という、マウスへの移植がんモデルで、臨床癌に類似した線維組織の増生像を再現する“癌間質の幹細胞候補”を手に入れた。癌幹細胞／癌間質幹細胞を標的する上で不可欠なそれぞれのマーカー (signature)を同定する重要なきっかけを得る事が出来た。

B. 研究方法

1.癌から採取したCAFはすでに不活性であり、がん細胞と混合してもcross talkしない。今回、過去のCAF研究と異なり、

活性を保っていると思われる骨髓由来 及び 脂肪細胞由来の間葉系幹細胞 (BM-MSC, Ad-MSC)をがん細胞と混合培養し、癌間質幹細胞として働くかを検証した。

2.癌幹細胞の候補マーカーとしてCD44v9陽性細胞を選択し、膵がん患者におけるCD44v9の陽性率が予後と相関するか否かを検証する。

(倫理面への配慮)

動物実験においては、文部科学省研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針(文部科学省告示第七十一号)にのっとり、筑波大学動物実験取扱規程に従い施行した。

平行して行っているヒト患者から採取した腫瘍組織をマウスに移植するtumorgraftを作製する研究、においては、患者個人の同意を得る。個人情報管理者の元で匿

名化を行った。また、筑波大学倫理審査委員会に申請し承認を得た。

C. 研究結果

1. 臨床膵がんの特徴である “がん細胞胞巣を線維組織が取り囲む” という組織像の再現を癌—間質cross talkの再現と定義した。癌から採取したCAFはこの像を再現出来なかったが、今回、BM-MSc, Ad-MScはがん細胞と共培養する事によって極めて臨床癌に類似した組織像を再現した。

2. ヒト膵癌組織においてCD44等の幹細胞マーカーが高率に発現し、がんの悪性化に関与していることを明らかにした。

D. 考察

1. マウスへの移植がんモデルで、臨床癌に類似した線維組織の増生像を人工的に再現出来た事は世界で初めてに近い画期的な成果と言える。この事は、BM-MSc, Ad-MScという癌細胞とクロストークする能力を保った “癌間質の幹細胞候補” を手に入れた事を強く示唆する。

2. CD44v9等の膵癌幹細胞マーカーを標的とする新しい分子標的診断法に繋がる可能性が示唆できた。

E. 結論

マウスへの移植がんモデルで、臨床癌に類似した線維組織の増生像を再現出来た。がん細胞、CAF両者共にその元となる幹細胞が活動のKeyであり、その癌幹細胞／癌間質幹細胞の候補細胞を絞り込んだモデルの構築に成功した。今後、このモデルを使って膵癌に特徴的な癌細胞—

間質細胞 cross talkの分子メカニズムを解明していく。その過程で、癌幹細胞、BM-MSc, Ad-MSc及びCAFに特徴的な分子マーカー(signature)を同定する事によって、癌幹細胞／癌間質幹細胞を標的とするがん診断法、治療法の開発につなげる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① Akashi Y, Oda T, Ohara Y, Miyamoto R, Kurokawa T, Hashimoto S, Enomoto T, Yamada K, Satake M, Ohkohchi N. Anticancer effects of gemcitabine are enhanced by co-administered iRGD peptide in murine pancreatic cancer models that overexpressed neuropilin-1. *Br J Cancer*. 2014
- ② Ohara Y, Oda T, Sugano M, Hashimoto S, Enomoto T, Yamada K, Akashi Y, Miyamoto R, Kobayashi A, Fukunaga K, Morishita Y, Ohkohchi N. Histological and prognostic importance of CD44(+)/CD24(+)/EpCAM(+) expression in clinical pancreatic cancer. *Cancer Sci*. 104(8):1127-34. 2013
- ③ Akashi Y, Oda T, Ohara Y, Miyamoto R, Hashimoto S, Enomoto T, Yamada K, Kobayashi A, Fukunaga K, Ohkochi N.

Histological advantages of the tumor graft: a murine model involving transplantation of human pancreatic cancer tissue fragments. *Pancreas*. 42(8):1275-82. 2013

2.学会発表

- ① Inagaki Y, Oda T, Kurokawa T, Miyamoto R, Kida Y, Ohkohchi N. Adipose-derived mesenchymal stem cell (ADSC) has the differentiation capacity towards cancer associated fibroblast (CAF) and reproduce the morphology of the clinical tumor stroma. AACR (米国がん学会) 2014, April 5-9, 2014・San Diego, CA, p228
- ② Kurokawa T, Oda T, Inagaki Y, Miyamoto R, Akashi Y, Ohkohchi N. CD44v9 expression in clinical pancreatic cancer and the gemcitabine plus sulfasalazine therapy against chemoresistant pancreatic cancer murine model. AACR (米国がん学会) 2014, April 5-9, 2014・San Diego, CA, p229

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

膵癌に対するFDG-PET検査の最適化に関する研究

研究分担者 町田 幹 日本医科大学付属病院放射線科助教

研究要旨

日本医科大学健診医療センターにおける FDG-PET 検査を行った膵癌患者について、2年間で追跡できた 40 症例を対照群として膵炎 8 例と血糖値と SUVmax と膵臓癌診断能の関連を検討した。さらに、血糖値(126mg/dl)で 2 群にわけ、高血糖群と正常血糖群における血糖値や腫瘍径、腫瘍の SUVmax の比較など、検討を行った。

SUVmax の血糖値による補正により、膵癌と膵炎の鑑別能が上昇することが分かり、高血糖患者での膵癌の発見率の向上に貢献すると考えられた。腫瘍径の検討では、サイズが大きい時は高血糖患者の方が SUVmax が増大し、診断能には問題ないと考えられる一方で、腫瘍径が小さい時には診断困難になると考えられた。さらに、血糖値にかかわらず、FDG の取り込みのない膵癌も存在しており、症例数が少ないので解析困難であるが、血糖の影響よりも組織学的影響が大きいと考えられた。

膵癌では耐糖能異常をきたす特殊性があるため、CT や MRI、超音波検査などで膵癌が疑われても、FDG-PET 検査にいたる症例が少ないと思われる。ただし、高血糖群でも TS1 の症例があり、健診 FDG-PET 検査でも病変検出として一定の役割を担うと考えられるが、症例数を増やし、さらに検討を進めていきたい。

A. 研究目的

膵癌は難治性の癌として知られており、早期発見することが重要である。しかしながら、早期も困難であるほか、CT や MRI、超音波検査などで膵癌が疑われても、膵癌では耐糖能異常をきたす特殊性があり、高血糖状態の膵癌患者では FDG-PET で疑陽性が生じうるので、FDG-PET 検査に至る症例が少ない。そこで、高血糖状態における膵癌検出能の検討を行った。

B. 研究方法

日本医科大学健診医療センターにおける FDG-PET 検査を行った膵癌患者について、2年間で追跡できた 40 症例を対照群として膵炎 8 例と血糖値と SUVmax と膵臓癌診断能の関連を検討した。さらに、血糖値(126mg/dl)で 2 群にわけ、高血糖群と正常血糖群における血糖値や腫瘍径、腫瘍の SUVmax の比較など、検討を行った。

(倫理面への配慮)

医の倫理に関するヘルシンキ宣言、臨床研究に関する倫理指針、日本医科大学付属病院の指針に基づき、被検者の人権・尊厳と安全性の確保、並びに個人情報の保護に関し、十分に配慮し行った。

C. 研究結果

$SUV_{glu} = SUV_{max} \times \text{血糖値} / 100$ と補正し、危険率 1%未満で膵癌と炎症を診断出来た。また、SUV 値 cut off value 3.00 で膵癌の診断の正診率の有意な向上が得られた。高血糖群と正常血糖群では、SUVmax、SUVglu 共に 2 群に差はなかった。腫瘍径は、径が大きくなる程 SUVmax、SUVglu が増大し、正常血糖群よりも高血糖群において有意差があった。1年間で検討出来た 27 症例の FDG-PET が行われた膵癌患者のうち、正常血糖群では 2/17 で、高血糖群では 3/10 で集積が見られなかった。

D. 考察

SUVmax の血糖値による補正により、膵癌と膵炎の鑑別能が上昇することが分かり、高血糖患者での膵癌の発見率の向上に貢献すると考えられた。腫瘍径の検討では、サイズが大きい時は高血糖患者の法が SUVmax が増大し、診断能には問題ないと考えられる一方で、腫瘍径が小さい時には診断困難になると考えられた。さらに、血糖値にかかわらず、FDG の取り込みのない膵癌も存在しており、症例数が少ないので解析困難であるが、血糖の影響よりも組織学的影響が大きいと考えられた。

E. 結論

膵癌では耐糖能異常をきたす特殊性があるため、CT や MRI、超音波検査などで膵癌が疑われても、FDG-PET 検査にいたる症例が少ないと思われる。ただし、高血糖群でも TS1 の症例があり、健診 FDG-PET 検査でも病変検出として一定の役割を担うと考えられるが、症例数を増やし、さらに検討を進めていきたい。CA19-9 は糖鎖であるフコースの修飾により合成される。このフコースを表面に結合したリポソームに抗癌剤を搭載し、CA19-9 産生細胞に薬剤を送達する、動物実験が報告されており、これを PET 検査に応用できないか、検討中である。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

研究成果の刊行に関する一覧表

H25年度 (2013年)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
黒木嘉典	乳腺：2つのb値の使用	高原太郎 (監修) 高橋光幸、 他(編集)	MRI応用自 在 第3版	MEDICAL VIEW	東京	2013	436-437
黒木嘉典	乳腺の拡散強調画像・ Multiple b factor D WI	青木茂樹、 他	これでわか る拡散MRI 第3版	秀潤社	東京	2013	317-318
角川康夫、 松本美野 里、斎藤豊	GVHDの内視鏡診断	豊嶋崇徳	みんなに役立 つGVHD(移 植方対宿主 病)の基礎と 臨床	医療ジャーナ ル社	大阪市	2013	185-194

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ahmed S. Maklad, M.Matsuihiro, H.S uzuki, Y.Kawata, N.Niki, M.Satake, et. N.Moriyama, T.Uts unomiya, M.Shima da.	Blood vessel-based liver segm entation using the portal pha se of an abdominal CT datas	Medical Physics	40(11)	113501-1 17	2013
M.Ikeda, T.Okusak a, J.Furuse, S.Mits unaga, H.Ueno, H. Yamaura, Y.Inaba, Y.Takeuchi, M.Sa take, Y.Arai.	A multi-institutional phase II trial of hepatic arterial infus ion chemotherapy with cisplat in for advanced hepatocellular carcinoma with portal vein t umor thrombosis.	Cancer Chemot her Pharmacol	72	463-470	2013
M.Ikeda, S.Mitsun aga, S.Shimizu, I. Ohno, H.Takahash i, H.Okuyama, A.K uwahara, S.Kondo, C.Morizane, H.Ue no, M.Satake, Y.Ar ai, T.Okusaka.	Efficacy of sorafenib in patien ts with hepatocellular carcino ma refractory to transcatheter arterial chemoembolization.	J Gastroenterol	DOI 10.1 007/s005 35-013-08 53-7	11-7	2013
H.Kuno, H.Onaya, S.Fujii, H.Ojiri, K. Otanie, M.Satake.	Primary staging of laryngeal and hypopharyngeal cancer: C T, MR imaging and dual-ener gy CT.	European Journ al of Radiology	83	e23-e35	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Y Akashi, T Oda, Y Ohara, R Miyamoto, T Kurokawa, S Hashimoto, T Enomoto, K Yamada, M Satake and N Ohkohchi.	Anticancer effects of gemcitabine are enhanced by co-administered iRGD peptide in murine pancreatic cancer models that overexpressed neuropilin-1.	BRITISH JOURNAL OF CANCER	doi: 10.1038/bjc.2014.49	1-7	2014
Furuta T, Yamaguchi M, Nakagami R, Akahane M, Minami M, Ohtomo K, Moriyama N, Fujii H	Delayed hepatic signal recovery on ferucarbotran-enhanced magnetic resonance images: an experimental study in rat livers with gadolinium chloride-induced Kupffer cell damage.	MAGMA	26 (3)	313-324	2013
Mitsuda M, Yamaguchi M, Nakagami R, Furuta T, Sekine N, Niitsu M, Moriyama N, Fujii H	Intensity Correction Method Customized for Multi-animal Abdominal MR Imaging with 3T Clinical Scanner and Multi-Array Coil.	Magn Reson Med Sci	12 (2)	95-103	2013
Yoshimoto M, Kurihara H, Honda N, Kawai K, Ohe K, Fujii H, Itami J, Arai Y	Predominant contribution of L-type amino acid transporter to 4-borono-2- ¹⁸ F-fluorophenylalanine uptake in human glioblastoma cells	Nucl Med Biol	40 (5)	625-629	2013
Yamaguchi M, Mitsuda M, Ezawa K, Nakagami R, Furuta T, Sekine N, Niitsu M, Fujii H	Artifact-reduced simultaneous MRI of multiple rats with liver cancer using PROPELLER	J Magn Reson Imaging	38 (1)	225-230	2013
Hayakawa T, Mutoh M, Imai T, Tsuta K, Yanaka A, Fujii H, Yoshimoto M	SPECT/CT of lung nodules using ¹¹¹ In-DOTA-c(RGDfK) in a mouse lung carcinogenesis model	Ann Nucl Med	27 (7)	640-647	2013
Takeda A, Sanuki N, Fujii H, Yokosuka N, Nishimura S, Aoki Y, Oku Y, Ozawa Y, Kunieda E	Maximum Standardized Uptake Value on FDG-PET Is a Strong Predictor of Overall and Disease-Free Survival for Non-Small-Cell Lung Cancer Patients after Stereotactic Body Radiotherapy	J Thorac Oncol	9 (1)	65-73	2014
梅田泉, 藤井博史	臨床応用を目指した分子イメージング研究の現状と今後の展望.	日本耳鼻咽喉科学会会報	116(8):	933-940	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kakinuma R, Ashizawa K, Kusunoki Y, Kobayashi T, Kondo T, Nakagawa T, Hatakeyama M, Maruyama Y	Management of subsolid nodules.	Chest	144(5)	1741-174 2	2013
T.Ishihara, T.Koba- yashi, N.Ikeno, T. Hayashi, M.Sakaki bara, N.Niki, M.Sa- take, N.Moriyama	Evaluation of a near-infrared- type contrast medium extrava- sation detection system using a swine model	J Comput Assist Tomogr	Vol.38, N o.2	(in press)	2014
A.S.Maklad, M.Matsuhiro, H.Suzuki, Y.Kawata, N.Niki, M.Satake, N.Moriyama,	Blood vessel-based liver segmentation using the portal phase of an abdominal CT dataset	Medical Physics	Vol.40, No.11	113501 (17pp)	2013
豊田修一, 片貝智恵, 仁木登	保健医療分野における情報視覚 化	情報処理学会デジ タルプラクティス	Vol.4, No.3	251-259	2013
高橋英治, 鈴木秀宣, 河田佳樹, 仁木登, 中野恭幸, 上野淳二, 原田雅史, 森山紀之	胸部マルチスライスCT 画像を用 いた骨粗鬆症診断支援システム	電子情報通信学会 論文誌	Vol.J.96- D, No.4	892-900	2013
松廣幹雄, 鈴木秀宣, 河田佳樹, 仁木登, 上野淳二, 中野恭幸, 小川恵美子, 室繁郎, 大松広伸, 森山紀之	胸部マルチスライスCT画像にお ける葉間裂抽出法	電子情報通信学会 論文誌	Vol.J.96- D, No.4	834-843	2013
Y.Kawata, N.Niki, H.Ohmatsu, K.Aokage, M.Satake, M.Kusumoto, T.Tsuchida, K.Eguchi, M.Kaneko, N.Moriyama	Potential usefulness of a topic model-based categorization of lung cancers as quantitative CT biomarkers for predicting the recurrence risk after curative resection	Proc. SPIE Medical Imaging	to appear		2014
H.Suzuki, Y.Kawata, N.Niki, Y.Nakano, H.Ohmatsu, M.Kusumoto, T.Tsuchida, K.Eguchi, M.Kaneko, N.Moriyama	Longitudinal follow-up study of smoking-induced emphysema progression in low-dose CT screening of lung cancer	Proc. SPIE Medical Imaging	to appear		2014
Y.Fukuoka, Y.Kawata, N.Niki, K.Umetani, Y.Nakano, H.Ohmatsu, N.Moriyama, H.Itoh	Microstructure analysis of the pulmonary lung of the secondary lobules by a synchrotron radiation CT	Proc. SPIE Medical Imaging	to appear		2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yasuo kakugawa, Yutaka Saito, Takahisa Matsuda, Takeshi Nakajima, Mototaka Miyake, Gen Iinuma	Colorectal Laterally Spreading Tumors by Computed Tomographic Colonography.	International Journal of Molecular Sciences	14	23629-23638	2013
角川康夫、松本美野里、角田千尋、斎藤豊	カプセル内視鏡	臨床画像	Vol.29	224-240	2013
角川康夫、松本美野里、斎藤豊、田尻久雄	大腸カプセル内視鏡の側方発育型腫瘍 (LST) に対する描出能の検討	消化器内科	Vol.56	274-280	2013
角川康夫、松本美野里、斎藤豊	原発性小腸癌	消化器内視鏡	Vol.25	986-987	2013
角川康夫、松本美野里、斎藤豊	小腸以外へのカプセル内視鏡の応用	INTESTINE	Vol.17	566-572	2013
角川康夫、松本美野里、斎藤豊	カプセル内視鏡の診断への応用	日本臨牀	第72巻	168-174	2014
角川康夫、松本美野里、斎藤豊	大腸カプセル内視鏡の現状と展望	日本消化器病学会雑誌	第111巻	464-469	2014
Izumo T, et al	Endobronchial Ultrasonography with a Guide Sheath (EBUS-GS) for the Diagnosis of Interstitial Lung Disease.	ScienceMED		15-19	2013
Izumo T, et al	The value of chest tomosynthesis in locating a ground glass nodule (GGN) during endobronchial ultrasonography with a guide sheath: a case report.	J Thorac Dis	5	E75-E77	2013
Izumo T, et al	The Procedure of Endobronchial Ultrasonography for Peripheral and Mediastinal Lesions.	European Journal of Clinical and Medical Oncology			2013
Ohara Y, Oda T, Sugano M, Hashimoto S, Enomoto T, Yamada K, Akashi Y, Miyamoto R, Kobayashi A, Fukunaga K, Morishita Y, Ohkohchi N.	Histological and prognostic importance of CD44(+) /CD24(+) /EpCAM(+) expression in clinical pancreatic cancer.	Cancer Sci.	104(8)	1127-1134	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Akashi Y, Oda T, Ohara Y, Miyamoto R, Hashimoto S, Enomoto T, Yamada K, Kobayashi A, Fukunaga K, Ohkochi N.	Histological advantages of the tumor graft: a murine model involving transplantation of human pancreatic cancer tissue fragments.	Pancreas	42(8)	1275-1182	2013

