

日本消化器癌発生学会特別研究推進
理事長直轄プロジェクト
「腫瘍微小環境に着目した癌進展メカニズム研究の新展開」

日時：2021年3月19日（金） 13:00~15:00

場所：WEB カンファレンス 徳島大学医歯薬学研究部 消化器・移植外科学医局

～プログラム～

<開会の辞> 13:00~13:05

日本消化器癌発生学会

理事長（徳島大学 消化器・移植外科学 教授） 島田 光生

<理事長直轄プロジェクト発表> 13:05~15:05（各発表 12分・質疑応答 8分）

司会 徳島大学 消化器・移植外科学

准教授 森根 裕二

演者：千葉大学大学院 医学研究院 先端応用外科学

龍崎 貴寛 先生

「胃癌患者由来癌関連線維芽細胞は癌-間質相互作用を介して
胃癌細胞株の浸潤能を高める」

演者：国立がんセンター 先端医療開発センター 臨床腫瘍病理分野

坂本 直也 先生

「5-FU 耐性胃がんオルガノイドを用いたメタボローム解析」

演者：熊本大学大学院 消化器外科学

秋山 貴彦 先生

「癌微小環境における胃癌浸潤に関わる分子メカニズムの解明」

演者：九州大学大学院 消化器・総合外科

宮下 優 先生

「胃癌 HER2 増幅症例における腫瘍局所免疫環境の検討」

演者：神戸大学大学院医学研究科病理学分野病理学講座

藤川 正隆 先生

「CCL1 derived from tumor-associated macrophages contributes to
esophageal squamous cell carcinoma progression
via CCR8-mediated Akt/PRAS40/mTOR pathway」

演者：徳島大学消化器・移植外科

山田 眞一郎 先生

「肝細胞癌におけるソラフェニブ耐性獲得機序に関する検討」

<閉会の辞> 15:05~15:10

日本消化器癌発生学会

理事長（徳島大学 消化器・移植外科学 教授） 島田 光生

理事長プロジェクト 1

胃癌患者由来癌関連線維芽細胞は癌-間質相互作用を介して胃癌細胞株の浸能を高める

Patient derived Cancer Associated Fibroblasts strengthen invasiveness of the gastric cancer cell through cancer-stroma interaction

千葉大学大学院 医学研究院 先端応用外科学
龍崎 貴寛 先生



【背景】

近年、消化器癌の進展に微小環境の関与が多数報告され、スキルス胃癌に代表される豊富な間質を持つ胃癌の生物学的悪性度の高さは、間質細胞との相互作用に求められる。間質において癌関連線維芽細胞(以下 CAF)は主要な役割を果たし、当科で行った臨床病理学的検討では癌巣近傍にCAFを認めた症例は予後不良な傾向にあった。しかしCAFが胃癌細胞に影響を与える経路に関して定まった見解は得られていない。

【目的】

患者由来のCAFを分離培養し、解析を加えて胃癌細胞との相互作用を明らかにする。

【方法】

①2019年10月から2020年6月に当科で胃切除術を施行した切除検体からCAFの分離培養を行った。②これらのCAFと共培養した胃癌細胞株(NUGC-4)の浸潤アッセイを行い、CAFがもたらす胃癌細胞株の浸潤能の変化をCAFごとに評価した。③さらに浸潤能の強い亢進を認めたCAFを用いて、共培養前後の胃癌細胞株、CAFおよびCAF細胞上清液から蛋白を抽出、Orbitrap Exploris480 (Thermo Fisher Scientific社)を用いたプロテオーム解析(nano LC-MS/MS (DIA)解析)を行った。

【結果】

①17症例のCAFを分離培養することが可能であった。②17症例中5症例(29%)のCAFが、胃癌細胞株の浸潤能を亢進させた。症例ごとにCAFの能力は異なり、CAF間で不均一性があることが示された。③上記の5症例の中から2症例のCAFを選択し、共培養前後の胃癌細胞株に発現する蛋白を比較したところ、共通して発現が亢進した403種類の蛋白と、低下した506種類の蛋白を認めた。現在、これらに関してさらなる解析を行っている。なお胃癌細胞株の浸潤能の亢進に関してはCAFの総数と比例関係にあることが示された。

【まとめ】

本研究では17症例のCAFを獲得できたが、胃癌細胞株の浸潤能を亢進させたCAFは29%のみであり、癌細胞と同様に性質が均一でないことが示された。今後、胃癌細胞への働きかけが強く悪性度が高いCAFを認識するマーカーと、介在するシグナル伝達経路が明らかになれば、治療標的となる可能性がある。

【略歴】

2014年3月 佐賀大学医学部医学科 卒業
2014年4月 千葉大学医学部附属病院 初期研修医
2016年4月 誠馨会千葉メディカルセンター 外科医員
2017年4月 聖隷佐倉市民病院 外科医員
2021年3月 千葉大学大学院 医学研究院 先端応用外科学 医学博士

【賞罰・資格】

2018年3月 マンモグラフィ読影認定医
2019年6月 第41回日本癌局所療法研究会 若手奨励賞
2019年12月 7th International Conference of Federation of Asian Clinical Oncology (FACO) Travel Grant
2020年1月 日本外科学会 外科専門医
2020年1月 日本腹部救急医学会 腹部救急認定医
2020年4月 科研費 若手研究採択
2020年11月 第31回日本消化器癌発生学会 優秀演題賞

理事長プロジェクト 2

5-FU 耐性胃がんオルガノイドを用いたメタボローム解析 Metabolome analysis using 5-FU resistant gastric cancer organoids

国立がん研究センター 先端医療開発センター 臨床腫瘍病理
坂本 直也



[背景]

近年のメタボローム解析により、幹細胞の制御に関わる代謝経路の理解が進んでいる。癌幹細胞は薬剤耐性の獲得に重要な役割を果たしていると考えられている。オルガノイドは iPS/ES 細胞、組織幹細胞を中心に組織の最小構成単位を in vitro で再現する実験手法であり、幹細胞を豊富に含んでいると考えられている。

[方法]

胃がん組織から樹立したオルガノイドに 5-FU を持続的に添加して、5-FU 耐性胃がんオルガノイドを樹立した。10 株の正常胃粘膜由来オルガノイド、3 株の胃がんオルガノイド及び 5-FU 耐性胃がんオルガノイドを材料にメタボローム解析を行った。

[結果]

メタボローム解析から、5-FU 耐性胃がんオルガノイドに特異的な変化として、TCA サイクル関連分子が著明に発現亢進していることが明らかになった。TCA サイクル特異的阻害剤の添加により、親株と比較して、5-FU 耐性胃がんオルガノイドは著明な増殖抑制効果が見られた一方で、5-FU 耐性胃がん胃癌細胞株では増殖抑制効果に変化は見られなかった。

[結論]

5-FU 耐性胃がんオルガノイドはエネルギー源を TCA サイクルに依存しており、5-FU 耐性胃がんへの新しい治療に繋がる可能性が示唆された。

【略歴】

平成 17 年 3 月 広島大学医学部医学科 卒業
平成 17 年 4 月 国立病院機構 呉医療センター 入職
平成 19 年 4 月 広島大学大学院 医歯薬学総合研究科 博士課程入学
平成 21 年 10 月 広島大学大学院 医歯薬学総合研究科 情報医工学プログラム 特任助教
平成 22 年 3 月 広島大学大学院 医歯薬学総合研究科 博士課程修了
平成 24 年 4 月 広島大学大学院 医歯薬学総合研究科 分子病理学 特任助教
平成 25 年 4 月 University of Michigan, Comprehensive Cancer Center 留学
平成 28 年 3 月 広島大学大学院 医歯薬保健学研究院 分子病理学 助教
令和 2 年 7 月 国立がん研究センター 先端医療開発センター 臨床腫瘍病理 ユニット長
令和 3 年現在在職中

理事長プロジェクト 3

癌微小環境における胃癌浸潤に関わる分子メカニズムの解明
Identification of molecular mechanism underlying gastric cancer
invasive growth depending the tumor microenvironment

熊本大学 大学院消化器外科学
秋山貴彦



【背景】

腫瘍微小環境において、腫瘍周囲の線維芽細胞やマクロファージは腫瘍増殖を促進することが知られている。胃癌線維芽細胞の特性について包括的遺伝子検索を用いて示したが、腫微小環境における増殖浸潤に関わる分子メカニズムについてはまだ知られていない。

【方法】

胃癌患者 100 人以上の胃癌切除検体における正常線維芽細胞/癌関連線維芽細胞と、末梢血中の単球由来の分化型マクロファージを分離した。さらに胃癌浸潤・増殖を評価するために 3D 共培養システムを確立した。

【結果】

予後不良の胃癌患者と有意に関連するサイトカインを同定した。これらのサイトカインは NF- κ B シグナルを介して線維芽細胞を分泌型の phenotype に誘導した。胃癌細胞、線維芽細胞、マクロファージを用いた 3D 共培養システムでは間質細胞との相互作用が胃癌細胞の浸潤を促進することが明らかになった。さらに活性化マクロファージから分泌されたサイトカインによって刺激を受けた線維芽細胞は分泌型の phenotype を示し、この線維芽細胞が胃癌細胞の増殖を促進していることがわかった。

【結論】

胃癌細胞が腫瘍間質を利用して炎症性環境での浸潤・増殖を促進するメカニズムであることを解明した。

【略歴】

平成 25 年 3 月	熊本大学医学部医学科卒業
平成 25 年 4 月	熊本大学病院卒後臨床研究プログラム 人吉総合病院（現：人吉医療センター）入職
平成 26 年 4 月	熊本大学病院 入職
平成 27 年 3 月	熊本大学病院卒後臨床研究プログラム 修了
平成 27 年 4 月	熊本大学大学院 消化器外科学 入局 熊本大学病院勤務
平成 28 年 4 月	熊本地域医療センター 入職
平成 29 年 4 月	水俣市立水俣総合医療センター 入職 熊本大学大学院 医学教育部博士課程 入学
平成 30 年 4 月	熊本大学病院消化器外科 医員
令和 3 年	現在に至る

理事長プロジェクト 4

胃癌 HER2 増幅症例における腫瘍局所免疫環境の検討

The impact of HER2 amplification on immune microenvironment in gastric cancer

九州大学大学院消化器・総合外科
宮下優



【背景】

胃癌の約 20 %に HER2 増幅が見られる。本研究では、胃癌大規模ゲノムデータセット TOGA(The cancer Genome Atlas)と局所浸潤免疫細胞の解析ツール CIBERSORT を用いて、胃癌 HER2 増幅の腫瘍局所免疫環境に対する影響について検討した。

【方法】

①TCGA データセットを用いて、RNA-seq data(415 例)、Copy number data(441 例)、Mutation data (395 例) を抽出した。さらに CIBERSORT を用いて胃癌浸潤免疫細胞の種類と割合を計算し、HER2 増幅との関連を評価した。②癌局所免疫の程度を反映する細胞融解活性スコア (Cytolytic activity score : CYT)を計算し、HER2 増幅との関連を評価した。③症例毎の全遺伝子変異数を計算し、HER2 増幅との関連を評価した。

【結果】

Copy number 2.5 以上を HER2 増幅と定義し、TCGA データセットにおける胃癌 HER2 増幅症例は 79/441 例 (17.9 %)であった。胃癌 HER2 増幅症例では、①腫瘍内に浸潤した CD8 + T 細胞、活性型 CD4 +メモリーT細胞、メモリーB細胞、マクロファージ M2、休止型 Mast 細胞が有意に少なく (t 検定, $p < 0.05$)、マクロファージ M0 が有意に多かった (t 検定, $p < 0.05$) ; ② CYT スコアが有意に低かった (t 検定, $p < 0.0001$) ; ③全遺伝子変異数が有意に少なかった (t 検定, $P < 0.0001$)。

【考察】

HER2 増幅胃癌症例は遺伝子変異数が少なく、癌抗原ペプチドの産生も少ない可能性が考えられる。本研究の結果から、胃癌 HER2 増幅症例は抗腫瘍免疫に関連する免疫細胞の浸潤割合が少なく、抗腫瘍免疫が低い可能性が示唆された。

【略歴】

2014 年 3 月	九州大学医学部医学科	卒業
2014 年 4 月	済生会福岡総合病院	初期臨床研修医
2016 年 4 月	済生会福岡総合病院	外科 後期研修医
2017 年 4 月	九州大学医学系学府	医科学専攻博士課程 消化器・総合外科学 入学
	現在に至る	

理事長プロジェクト 5

腫瘍関連マクロファージ由来の CCL1 は CCR8 を介して食道扁平上皮癌の運動能・浸潤能を亢進させる

CCL1 derived from tumor-associated macrophages induces cell migration/invasion of esophageal cancer via CCR8

神戸大学大学院医学研究科病理学講座病理学分野
藤川正隆



腫瘍関連マクロファージ(tumor-associated macrophage; TAM)は腫瘍微小環境において癌進展に促進的に働くことが知られている。これまでにヒト食道扁平上皮癌(ESCC)組織において TAM の浸潤数が多い症例ほど予後不良であることを報告している。当研究室では ESCC の進展における TAM の役割を検討するために、ヒト末梢血由来マクロファージ(MΦ)に ESCC 細胞株の培養上清を添加することで in vitro においてヒト末梢血由来 TAM (TAM) を作製する系を確立した。先行研究では MΦ と TAM との間で cDNA マイクロアレイ解析を行い、今回 TAM において高発現する遺伝子として CCCL1 を見出した。CCL1 は C-C ケモカインファミリーに属する炎症性サイトカインの一種で、主に単球及び好塩基球の遊走・走化を活性化するが、種々の癌で CCL1 が癌進展にも関与することが報告されている。

まず、MΦ に対して TAM において CCL1 の発現が増加していることを確認した。ESCC 細胞株は CCL1 の受容体である CCR8 を発現しており、CCL1 を添加すると Akt/PRAS40/mTOR のリン酸化が亢進した。間接共培養によって TAM は ESCC 細胞株の運動能と浸潤能を亢進させるが、CCL1 あるいは CCR8 に対する中和抗体によってその効果は抑制された。さらに CCL1 添加によって ESCC 細胞株の運動能と浸潤能が亢進したが、P13K/Akt 阻害剤や CCR8 に対する siRNA あるいは中和抗体によってその効果は抑制された。ESCC 組織において CCL1 あるいは CCR8 の免疫染色を行い、臨床病理学的検討を行うと、CCL1 の発現は深達度や脈管侵襲と相関し、高発現群では全生存期間と無病生存期間が有意に低下していることを見出した。また、多変量解析にて CCL1 は ESCC の OS において独立した予後不良因子であることを確認した。以上より、ESCC 微小環境における CCL1/CCR8 経路の活性化が癌進展に関与する可能性が示唆された。

【略歴】

平成 20 年 3 月 広島大学医学部医学科 卒業
平成 20 年 4 月 大阪府済生会中津病院 入職
平成 29 年 9 月 神戸大学医学部附属病院 食道胃腸外科学分野 入職
平成 30 年 1 月 神戸大学大学院医学研究科 病理学講座 病理学分野 にて研究開始し、現在に至る。

理事長プロジェクト 6

ソラフェニブ耐性肝癌において、Nrf2 は幹細胞性・遊走能・ABC トランスポーター発現を促進する。

Nrf2 signaling promotes cancer stemness, migration ability and expression of ABC transporters in sorafenib-resistant hepatocellular carcinoma cell

徳島大学 消化器・移植外科
山田真一郎



[Background and aim]

As a multiple tyrosine kinase inhibitor, sorafenib is widely used in hepatocellular carcinoma (HCC), but also faces serious and frequent resistance problems. As the mechanism of sorafenib-resistance is not clear yet, in this study we focused on the connection between tumor characteristics and the Nrf2 signaling pathway in a sorafenib-resistant cell line.

[Methods]

The sorafenib-resistant HCC cell line (Huh7) was developed by increasing the dose of sorafenib treatment and maintain stable growth until the target concentration. Then we determined the morphology, migration, invasion stemness related mRNA expression, and expression of ABC transporters in sorafenib-resistant Huh7 compared with normal ones. Then, siRNA was used to knock down the expression of Nrf2 in resistant Huh7 cells, cell viability, stemness, migration, and ABC transporters were detected again.

[Results]

The proliferation, migration and invasion ability of resistant Huh7 were upregulated comparing with normal cells with or without sorafenib in the medium. The expression of stemness markers, and ABC transporter markers were up-regulated in sorafenib-resistant cells. While Nrf2 was knocked down in sorafenib-resistant cells, cell migration and invasion were enhanced, and expression and stemness markers was reversed. In addition, ABC transporters were also decreased in sorafenib-resistant cells.

[Conclusion]

Nrf2 signaling promotes cancer stemness, migration ability and expression of ABC transporters in sorafenib-resistant HCC cell.

【略歴】

平成 20 年 4 月 徳島大学医学部・歯学部附属病院 初期臨床研修医
平成 22 年 4 月 徳島大学病院 消化器・移植外科 医員
平成 25 年 5 月 ハノーファー医科大学総合・移植外科 visiting fellow
平成 26 年 5 月 徳島大学病院 消化器・移植外科 医員
平成 27 年 4 月 徳島大学病院 消化器・移植外科 特任助教
平成 28 年 4 月 愛媛県立中央病院 消化器外科 医長
平成 30 年 4 月 徳島大学病院 消化器・移植外科 特任助教

【資格】

平成 29 年 1 月 1 日 日本外科学会専門医
平成 30 年 1 月 1 日 日本消化器外科専門医