

京都大学教育研究振興財団助成事業
成 果 報 告 書

平成29年9月13日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会 長 辻 井 昭 雄 様

所属部局・研究科 医学研究科 肝胆膵・移植外科学

職 名・学 年 客員研究員

氏 名 河 合 隆 之

助 成 の 種 類	平成28年度 ・ 在外研究助成		
研 究 課 題 名	肝細胞癌における癌幹細胞を標的とした新規治療戦略の構築		
受 入 機 関	パリ第6大学 ピティエ・サルペトリエール病院		
渡 航 期 間	平成28年9月1日～平成29年9月10日(助成期間は平成29年8月31日まで)		
成 果 の 概 要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有()		
会 計 報 告	交付を受けた助成金額	3,000,000円	
	使用した助成金額	3,000,000円	
	返納すべき助成金額	0円	
	助成金の使途内訳	旅費(航空券、燃料サーチャージ等):20万円	
		滞在費(家賃、光熱費、食費):280万円	
当財団の助成について	私はこの度、貴財団の助成を受けられましたおかげで、生活面の不安を感じることなく、受入機関での研究活動に取り組むことができました。今後、私と同様に海外で研究活動を行うことを希望している日本人研究者が一人でも多く貴財団の援助を受け、世界で活躍されることを心より祈っております。		

成果の概要：河合 隆之

肝細胞癌における癌幹細胞を標的とした新規治療戦略の構築

1. 研究目的

肝細胞癌は高頻度に転移・再発を来す予後不良の疾患であるため、肝細胞癌に対する有効な治療法、特にその転移・再発を制御するような新規治療法の開発は重要な課題である。近年、種々の性質を示す癌細胞が混在する癌組織においても、自己複製能や多分化能、旺盛な腫瘍形成能を備えた幹細胞（癌幹細胞）の存在が様々な癌において明らかになってきている。この癌幹細胞は高い浸潤能を有し、腫瘍の転移・再発に強く関与するため、画期的な治療標的として注目を集めている。特に肝細胞癌においては、その転移・再発を抑制することが癌治療効果を改善させることになると考えられるため、癌幹細胞の同定・単離と特性解析は肝細胞癌に対する新規治療戦略の構築において重要である。

これまでにわれわれは、keratin 19 (K19) を肝細胞癌における性質の異なる新規癌幹細胞マーカーとして同定し、K19 陽性癌幹細胞は TGFb/Smad pathway の活性化を介した上皮間葉転換 (EMT) に関与しており TGFb 受容体 1 阻害薬による新規治療標的となり得ることを報告してきた。本研究は、こうした研究成果を発展させ「肝細胞癌における K19 陽性癌幹細胞を標的とした新規治療戦略を構築すること」を目指し、受入研究機関であるパリ第 6 大学ピティエ・サルペトリエール病院外科学講座と連携して K19 陽性癌幹細胞の新規追跡マーカーを同定し臨床応用を図ることを目的としている。

2. 研究手法・結果

【¹⁸F-FDGPET を用いた K19 陽性癌幹細胞の追跡】

肝細胞癌の手術標本を用いて、K19 発現と術前 ¹⁸F-FDGPET の SUV 値ならびに tumor:nontumor SUV ratio (TNR) との関係を経験的に解析したところ、K19 発現は ¹⁸F-FDG 集積の中心的役割を担う GLUT 発現と有意に相関しており、K19 陽性症例は陰性症例に比べ有意に高い TNR 値を示した。さらに ROC 解析により、術前因子の中で TNR が K19 発現予測に有用 (AUC=0.88) であることが判明した。また、遺伝子導入により K19 陽性細胞を可視化した肝細胞癌細胞株を用いて K19 と ¹⁸F-FDG 集積能の関係を調べたところ、単離した K19 陽性細胞は陰性細胞と比べ有意に高い ¹⁸F-FDG 集積能を示した。さらに gain/loss of function による機能解析の結果、K19 が癌幹細胞の特性維持機構の 1 つである TGFb/Smad pathway とその下流の転写因子 Sp1 を介して GLUT1 発現を制御していることが判明した。以上より、肝細胞癌において、¹⁸F-FDGPET は K19 陽性癌幹細胞を追跡する低侵襲な手法として有用であると考えられる。

【血清 CYFRA 21-1 を用いた K19 陽性癌幹細胞の追跡】

上記と同様に肝細胞癌の手術標本を用いて、K19 発現と術前血清の CYFRA 21-1 値の関係を統計的に解析したところ、K19 陽性症例は陰性症例に比べ有意に高い血清 CYFRA 21-1 値を示し、ROC 解析によって血清 CYFRA 21-1 値が K19 発現予測に有用な因子 (AUC=0.81) であることが判明した。また肝細胞癌細胞株において、単離した K19 陽性細胞は陰性細胞と

比べ有意に高い培養上清 CYFRA 21-1 値を示し、gain/loss of function による機能解析の結果、K19 発現強度に従って培養上清 CYFRA 21-1 値も変化することが判明した。以上より、肝細胞癌において、血清 CYFRA 21-1 は K19 陽性癌幹細胞を追跡するバイオマーカーとして有用であると考えられる。

3. 研究成果

【¹⁸F-FDGPET を用いた K19 陽性癌幹細胞の追跡】

以下のように論文として発表した。

Identification of Keratin 19-Positive Cancer Stem Cells Associating Human Hepatocellular Carcinoma Using ¹⁸F-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography.
Kawai T, et al. *Clinical Cancer Research* 2017;23(6) 1450-1460.

【血清 CYFRA 21-1 を用いた K19 陽性癌幹細胞の追跡】

以下のように論文として発表した。

Identification of keratin 19-positive cancer stem cells associating human hepatocellular carcinoma using CYFRA 21-1
Kawai T, et al. *Cancer Medicine* [accepted on August 30th, 2017]