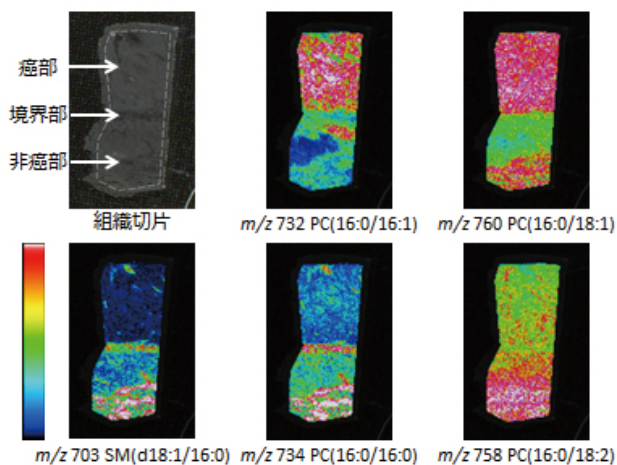




早坂 孝宏 (2003年卒)

ヒト肝がん組織及び血液特異的変動分子の探索

概要:平成29年から消化器外科学教室 I にて研究を進めさせていただいております。私の専門は分析化学であり、その中でも質量分析技術を用いたイメージング解析を行ってきました。この手法を用いて進めている研究テーマは、ヒト肝がん組織及び血液特異的変動分子の探索です。肝がんは世界5位の発症率の統計結果が示されており、本邦においても発症率の高い疾患です。近年、抗ウイルス薬の効果によりHCVの割合が減少していますが、一方で生活習慣の変化からNBNC-HCCの発症率が上昇しています。よってチロシンキナーゼ阻害に限らない奏効率の高い分子標的薬の新規開発が期待されています。これまでにNBNC-HCC組織を対象とした脂質のイメージング解析を実施してきました。その結果、16:1や18:1のような単価不飽和脂肪酸を有するホスファチジルコリン (PC) は癌部、多価不飽和脂肪酸や飽和脂肪酸で構成されるPCやスフィンゴミエリン (SM) は非癌部や境界部に多く存在する傾向が見えてきました。現在は解析検体数を増加させるとともに、液体クロマトグラフィー質量分析 (LC-MS) を用いて組織から抽出した脂質を測定することによって量的な変動を解析しています。今後については癌細胞悪性度との関係から癌進展に影響を及ぼす脂質を明らかにし、さらには血液を対象とした解析により予後予測に利用可能なバイオマーカーの探索に取り組みたいと考えています。

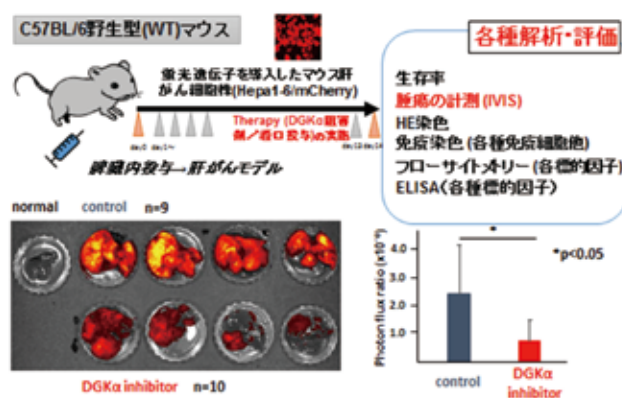


岡田 尚樹 (2009年卒)

Diacylglycerol kinase (DGK) α 阻害剤を用いた消化器がん分子標的治療の基礎的研究

概要: DGKは膜リン脂質であるDiacylglycerolをリン酸化し Phosphatidic acidへと変換する脂質変換酵素で、これらの脂質メディエーター分子のバランスを制御し、様々な細胞内情報伝経路を調整しています。今回注目しておりますDGK α はこれまで、HCCの増殖制御や臨床的予後との相関、ならびにT細胞の免疫不応答状態への関与が報告されており、DGK α 阻害はがん細胞増殖抑制だけではなくT細胞の活性化という2方向性の抗腫瘍効果を発揮することが期待されています。本研究では、DGK α 阻害剤を用いて、肝がん細胞への増殖抑制効果および腫瘍免疫賦活効果をin vitroおよびin vivoで検討してきました。in vivoのモデルとして、mCherry蛍光タンパクを導入したマウスの肝がん細胞株を肝臓へ担がんさせるマウスモデルを作成し、生体内におけるDGK α 阻害剤の抗腫瘍効果の検討を行いました (Fig.1)。in vitro, in vivoにおいて、DGK α 阻害剤の肝がん細胞増殖抑制効果および免疫賦活効果が確認され、そのキラーT細胞を介したメカニズムが明らかとなってきました。現在は結果をまとめて論文を作成中です。

Fig.1: マウス肝がん細胞株(Hepa1-6/mCherry)を用いた肝がん治療モデルにおけるDGK α 阻害剤の抗腫瘍効果の検討





脇坂 和貴 (2010年卒)

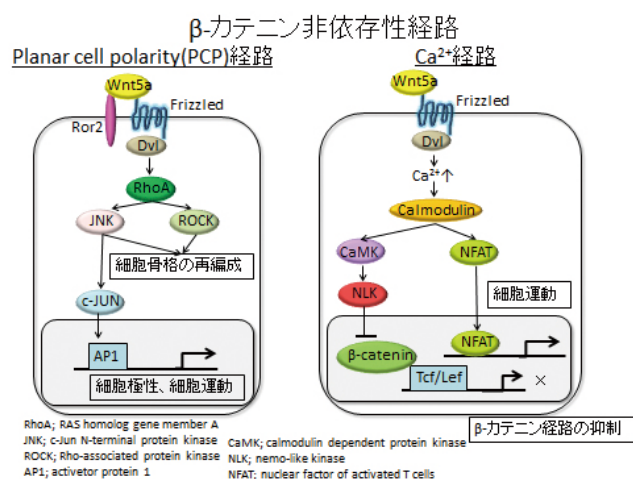
Wnt5aの発現と肝細胞癌の生物学的悪性度および切除例における予後の検討

概要: Wntシグナル伝達経路において、 β -カテニン依存性経路を構成する分子 (β -カテニン、APC、Axin) の遺伝子異常と発癌の関連が明らかとなってきた一方、Wnt5aが関わる β -カテニン非依存性経路と発癌の関連については未だ不明である。近年、悪性黒色腫や胃癌において β -カテニン非依存性経路と発癌の関連が示唆されており、肝細胞癌における Wnt5aの発現と生物学的悪性度、予後について検討する。

結果: 肝細胞癌切除症例において、切除検体の Wnt5a免疫染色を行い、Wnt5a陽性が予後良好に関する独立した因子である事が明らかとなった。

進捗状況: Wnt5a陽性が予後良好に関連する理由を明らかにするため、細胞株を用いた研究を行っている。肝細胞癌細胞株において、Wnt5a強制発現株、発現抑制株を作成し、細胞機能の変化、 β カテニン非依存性経路関連分子の変化について検討を行っている。

今後の見通し: β カテニン非依存性経路の腫瘍抑制作用に着目した肝細胞癌治療の開発が目標である。



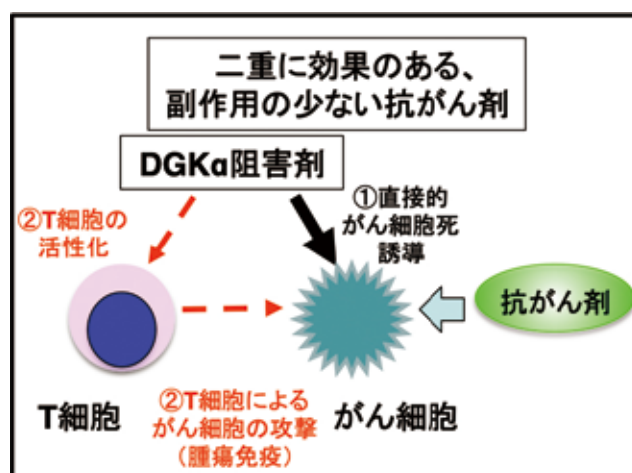
杉山 昂 (2010年卒)

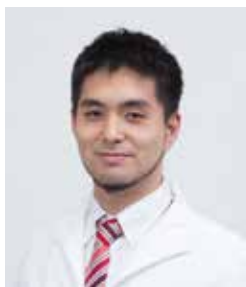
抗がん剤曝露によるDiacylglycerol kinase (DGK) α 発現変化の分子メカニズムの解明

概要: DGKはジアシルグリセロールをリン酸化してホスファチジン酸を産生する酵素で、それらをセカンドメッセンジャーとして多彩な生理機能に参与しています。ヒトDGKには10種類のアイズイムが存在し、その中でもDGK α の生理作用は、MEK/ERK系の活性化を介してがんの増殖やアポトーシスに関わるとともに、T細胞においてRasGRPの負の活性調節を通じて免疫抑制状態 (anergy) の誘導にも寄与しています。当科ではDGK α 阻害剤の直接的な抗腫瘍効果および腫瘍免疫賦活効果について検討してきました。その中で、抗がん剤曝露により腫瘍細胞内のDGK α 遺伝子発現が上昇する事を確認しました。そこで抗がん剤曝露による腫瘍細胞株およびT細胞でのDGK α 発現上昇を実証し、その分子機序を解明することを研究目的としました。

結果・進捗状況: 抗がん剤曝露により、腫瘍細胞における遺伝子・蛋白レベルでのDGK α 発現が上昇する条件を見出し、その条件においてin vitroで抗がん剤とDGK α 阻害剤との併用による抗腫瘍効果の増強を確認しています。

今後の見通し: レポーター assayなどを用いて抗がん剤曝露時のDGK α 発現上昇メカニズムを解明し、さらにマウスモデルを用いてin vivoでの効果の実証を行っていく予定です。





藤居 勇貴 (2010年卒)

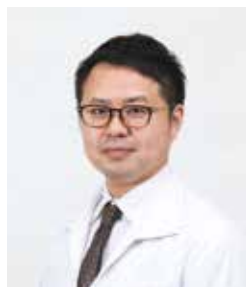
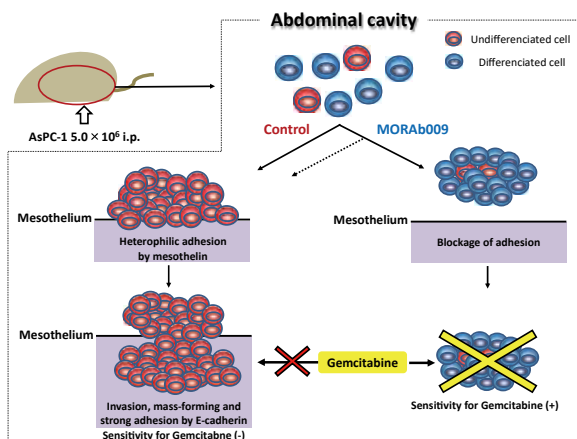
癌幹細胞特性の可塑性をコントロールした抗腫瘍療法の開発—膵癌肝転移モデルにおける抗メソテリン抗体を用いた抗腫瘍療法の検討—

概要：メソテリン (MSLN) は中皮に分布する細胞膜糖蛋白である。一部悪性腫瘍 (悪性中皮腫、膵癌など) に高発現し、腫瘍増生、転移・浸潤、化学放射線抵抗性に関与すると考えられている。当科では抗MSLN抗体 (MORAb-009) がMSLN高発現膵癌細胞株 (AsPC-1) に与える影響を研究してきた。AsPC-1腹膜播種モデルにおいて、MORAb-009により癌幹細胞への脱分化が抑制され、腹膜播種の形成阻害、Gemcitabineとの相乗的治療効果が示された (図)。私は前任の結果を踏まえ、膵癌肝転移モデルにおいても同様の結果 (MORAb-009による肝転移形成阻害、化学療法との相乗効果、癌幹細胞マーカーの発現低下) を示すか検討している。

結果・進捗状況：ヌードマウスに膵癌細胞株を注入し、肝転移モデルの作成を行った。注入経路は門脈注射、脾臓注射を試し、手技的に安定し、より生理的な肝転移が形成される脾臓注射を選択した。また、細胞株にGluc (分泌型Luciferase) を遺伝子導入し、マウス採血により肝転移重量をモニタリングできるかを検討した (Glucシステム)。AsPC-1/Gluc株において、肝転移重量と血漿Gluc値は良好な相関を認めた ($R^2 = 0.94$)。

今後の見通し：MSLN低発現株の肝転移形成量が少ない、細胞注入部に播種病変ができGlucシステムが機能しないなど、肝転移モデルにいくつかの問題がある。今年度は肝転移モデルの完成を目標とする。

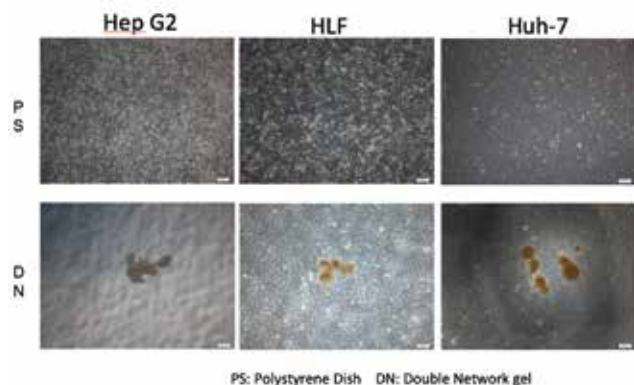
図1：MORAb-009によるMSLN高発現膵癌細胞株の腹膜播種形成抑制効果。癌幹細胞側への脱分化抑制が重要な役割を果たしていると考えている。また、Gemcitabineの上乗せ治療効果を認めた。

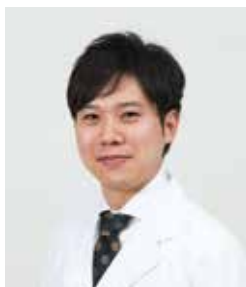


谷 道夫 (2011年卒)

Double Network gelを用いた肝癌幹細胞の誘導による新規治療薬の開発

概要：癌の転移・再発や治療抵抗性の主要な原因は、癌幹細胞 (Cancer Stem Cells: CSCs) の存在であると考えられている。CSCsは自己複製能と多分化能、および生体内での腫瘍形成能を有し、化学療法や放射線療法に抵抗性を示すことが明らかとなっているが、CSCsは癌組織内に少数しか存在しないため解析に必要な量を確保するのは通常困難である。そこで、PAMPS/PDMAAsの2種類のゲルから成り、90%以上の水分を含みながら強い剛性を有する高機能ゲル (Double Network gel: DN gel) を用いて、CSCsを効率的に誘導する技術を開発している。HCCの細胞株をgel上で培養することでstemness marker geneの発現亢進が認められ、また、薬剤耐性の原因として考えられるATP binding cassetteの発現亢進が認められた。今後は薬剤耐性能や生体内での腫瘍形成能などの評価、検証を行う予定である。





大平 将史 (2011年卒)

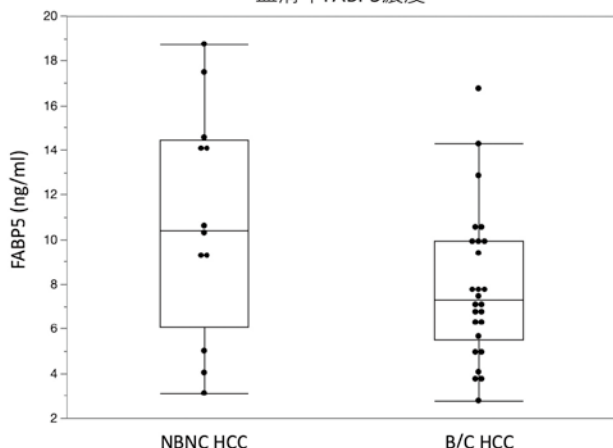
肝細胞癌の進行における表皮型脂肪酸結合タンパク質の機能解析

概要：当教室では、プロテオミクスにより肝細胞癌(HCC)組織において表皮型脂肪酸結合タンパク質(fatty acid-binding protein 5, FABP5)が高発現していることを発見し、それが上皮間葉転換や腫瘍増殖能の亢進と相関していることを報告してきました。しかし、その細胞内での詳細なパスウェイは未だ不明な点が多く、今後の検討課題となっております。FABP familyには1-9のアイソフォームが存在し、脂質代謝において重要な役割を担っています。脂肪組織を中心に発現しているFABP4は糖尿病や脂質異常症、肥満などの生活習慣病との関連が数多く報告されております。FABP5はFABP familyの中で最も幅広い組織で発現しており、生活習慣病との関連のみならず各種の癌との関連性も報告されております。

進捗状況：現在までに、当科Tissue Bank保管血清を用いた解析により、生活習慣病を有しない症例において、B/C型HCC群と比較して非B非C型(NBNC)HCC群における血清中FABP5濃度が高値であるという結果を得ております。

今後の方針：上記結果から、今後はNBNC-HCCを中心としてHCCのシグナル伝達におけるFABP5の詳細な機能を解析していく予定です。

生活習慣病を有しない症例における血清中FABP5濃度



加藤 紘一 (2011年卒)

肝細胞癌の悪性度を制御するがん微小環境の役割の解明

概要：近年、がんは微小環境と呼ばれるがん周囲組織（線維芽細胞・免疫細胞・血管内皮細胞など）との相互作用において、増殖能・浸潤能・転移能・薬剤抵抗性などを獲得していると言われています。癌部の線維芽細胞は癌関連線維芽細胞 (Cancer associated fibroblasts : CAFs) とよばれ、様々なシグナル伝達経路の活性化を介してがん悪性化に寄与することが明らかになっています。肝細胞癌におけるCAFsに注目し、癌進展を抑制する新規治療法の開発を研究しています。

進捗状況：肝細胞癌手術検体より癌部・非癌部を採取し、癌部よりCAFs・非癌部より正常肝線維芽細胞 (Normal fibroblasts : NFs) の初代培養をおこなっています。当初は培養成功率が少なかったものの、細胞分散法・組織片接着法などを検討し、徐々に成功率は上昇しています。初代培養したCAFs・NFsの細胞免疫染色をおこない、CAFsのマーカーであるαSMA・FAPを確認しました。同一患者から初代培養したCAFs・NFsの4pairからタンパクを抽出し、液体クロマトグラフィー質量分析法 (LC-MS/MS) を用いて測定しました。現在結果の解析途中です。

今後の見通し：培養したCAFs・NFsのpurityをflow cytometryを用いて測定、CAFs・NFs・肝癌細胞株のConditioned Medium(CM)を用いて細胞間相互作用の検討などを予定しております。

蛍光免疫染色

