

肝内胆管癌における癌関連線維芽細胞と癌細胞の増殖・浸潤の関連性に関する多施設共同研究

1. 研究の対象

2012年1月から2017年12月までの間に当院で肝内胆管癌に対して肝切除を受けられた方

2. 研究目的・方法

肝内胆管癌は患者予後の悪い難治癌であり(1)、有効性の確立された化学療法も2レジメと限られている(2,3)。その発癌・浸潤・転移の分子生物学的機序に関しては、まだ不明な点が多く(4)、ICC患者の予後向上のために、新しい治療に結びつく分子生物学的機序の解明は喫緊の課題である。昨今、癌細胞の増殖・進展とCAFの関連性が報告されており、ICCは癌間質に富む癌であることから、ICCにおいてもCAFと癌細胞との関連性の研究は、新たな治療法の開発につながる可能性がある。ICCのCAFの老化をCaveolin-1蛋白の免疫組織化学染色で評価をし、Caveolin-1蛋白の高発現は予後不良となる可能性が得られたことを踏まえ、多施設共同研究として、ICC初回切除巣において老化をはじめとしたCAFにおける遺伝子および蛋白の発現と癌細胞の増殖・浸潤との関連性を検討する。

1) 研究のデザイン：観察研究

後ろ向き研究：2000年1月1日から本研究が承認されるまでの間に初発ICCに対して切除を施行した症例を対象とし、癌部および非癌部の未染プレパラート（またはホルマリン固定パラフィン包埋ブロック）（既存試料）を取り扱う。ICCは切除症例自体が少数であり、多施設共同研究として症例を集積する。また、同時期に熊本大学大学院生命科学研究部消化器外科学分野で初発切除を施行した症例は70例であり、最終的に250-300例を目標として症例を集積する。

前向き研究：ICCに対して肝切除を施行予定の症例を対象とし、癌部よりCAFの、非癌部より正常肝線維芽細胞(normal fibroblast: NF)の樹立を目的に肝組織を採取する(新規試料)。熊本大学および共同研究施設で10例を目標症例数とする。

2) 研究方法

2-1. 該当する症例に関して下記の臨床情報と試料を取得する。

A) 症例基本情報：

手術時年齢、性別、生年月日、症例識別番号、身長、体重など。

B) 原発巣手術情報：

術前・術後補助療法の有無、WBC、Neut、Lymph、Alb、T-bil、PT、ICG、AST、ALT、CRP、CEA、CA19-9、最大腫瘍径、腫瘍個数、リンパ節転移の有無、手術日、手術術式、手術時間、出血量、輸血の有無、合併症の有無、病理学的診断結果など。

C) 治療経過：

無再発生存期間、再発形式、全生存期間など。

D) 試料：

癌部および非癌部の未染プレパラート（またはホルマリン固定パラフィン包埋ブロック）
手術標本（癌部および非癌部から採取した肝組織切片）

2-2. 試料・情報の匿名化：

対象となる試料・情報は、各施設内において匿名化したのち、熊本大学大学院消化器外科に収集される。

2-3. 免疫組織化学染色：

収集した未染プレパラートを用いて老化のマーカー（Caveolin-1、p16、p21、老化関連βガラクトシダーゼ等）と、浸潤・転移に関与するマーカー（Vimentin、CD36、S100、MMP7、N-CAM、N-cadherin等）の免疫組織化学染色を行い、発現の程度及び各マーカーの相関を評価する。

2-4. CAF および NF の培養：

肝組織切片については、癌部より CAF を、非癌部より NF をそれぞれ初代培養し、継代を繰り返すことそれぞれの *in-vitro* 細胞株を樹立する。細胞は3回の継代毎にストックし、6回目の継代を終了した時点で CAF および NF の遺伝子・蛋白の発現を cDNA マイクロアレイやプロテインチップアレイで包括的に解析する。

2-5. *in vitro* および *in vivo* における検討：

ヒト ICC 細胞株（RBE、SSP-25、TKKK など）を樹立した CAF 株と共培養し、siRNA や薬剤投与により 2-4. で同定された遺伝子・蛋白を制御することで、細胞増殖（FACS scan）や浸潤（invasion assay）が制御可能かを検討する。また、ヌードマウスを用いて ICC と共に CAF 株を接種する *in vivo* 担癌モデルにおいて、CAF の遺伝子および蛋白の制御により癌増殖・浸潤の抑制が可能か否かを検討する。

3. 研究に用いる試料・情報の種類

A) 症例基本情報：

手術時年齢、性別、生年月日、症例識別番号、身長、体重など。

B) 原発巣手術情報：

術前・術後補助療法の有無、WBC、Neut、Lymph、Alb、T-bil、PT、ICG、AST、ALT、CRP、CEA、CA19-9、最大腫瘍径、腫瘍個数、リンパ節転移の有無、手術日、手術術式、手術時間、出血量、輸血の有無、合併症の有無、病理学的診断結果など。

C) 治療経過：

無再発生存期間、再発形式、全生存期間など。

D) 試料：

癌部および非癌部の未染プレパラート（またはホルマリン固定パラフィン包埋ブロック）手術標本（癌部および非癌部から採取した肝組織切片）など。

4. 外部への試料・情報の提供

データセンターへのデータの提供は、特定の関係者以外がアクセスできない状態で行います。対応表は、当センターの研究責任者が保管・管理します。

5. 研究組織

<研究責任者>

熊本大学大学院生命科学研究部消化器外科学分野 教授 馬場 秀夫

<研究担当者>

熊本大学医学部附属病院消化器癌集学的治療学寄附講座 特任准教授 山下 洋市
熊本大学医学部附属病院消化器外科 助教 今井 克憲
熊本大学医学部附属病院専門医療実践学寄附講座 特任助教 中川 茂樹
熊本大学大学院 生命科学研究部消化器外科学分野 大学院生 宮田 辰徳
熊本大学大学院 生命科学研究部消化器外科学分野 大学院生 山尾 宣暢

<共同研究者>

熊本地域医療センター 外科 院長 廣田 昌彦
済生会熊本病院 外科 外科部長 高森 啓史
国立病院機構 熊本医療センター 外科 外科部長 宮成 信友
九州大学 消化器・総合外科 准教授 吉住 朋晴
大分赤十字病院 外科 副院長 福澤 謙吾
福岡市民病院 外科 部長 池田 泰治
飯塚病院 外科 外科部長 梶山 潔
九州がんセンター 肝胆膵外科 医長 杉町 圭史
佐賀大学医学部 診断病理学 教授 相島 慎一

6. お問い合わせ先

本研究に関するご質問等がありましたら下記の連絡先までお問い合わせ下さい。

ご希望があれば、他の研究対象者の個人情報及び知的財産の保護に支障がない範囲内で、研究計画書及び関連資料を閲覧することが出来ますのでお申出下さい。

また、試料・情報が当該研究に用いられることについて患者さんもしくは患者さんの代理人の方にご了承いただけない場合には研究対象としませんので、下記の連絡先までお申出ください。その場合でも患者さんに不利益が生じることはありません。

照会先および研究への利用を拒否する場合の連絡先：

〒861-4193 熊本県熊本市南区近見5丁目3番1号

096-351-8000 fax 096-326-3045

済生会熊本病院 外科 林 洋光

もしくは相談窓口：熊本大学医学部附属病院 消化器外科

平日 9:00~17:00：096-373-5540 / 096-373-5544（消化器外科外来）

研究担当者：山下 洋市、今井 克憲、中川 茂樹宮田 辰徳、山尾 宣暢

研究責任者：済生会熊本病院 外科 部長 高森 啓史

研究代表者：熊本大学大学院生命科学研究部消化器外科学分野 教授 馬場 秀夫

以上