

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590740

研究課題名(和文)

消化管悪性腫瘍に対する治療標的としてのインスリン様増殖因子の有用性

研究課題名(英文)

Usefulness of insulin-like growth factor as a therapeutic target for the gastrointestinal malignancies.

研究代表者

宮本 心一 (MIYAMOTO SHINICHI)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：90378761

研究成果の概要(和文)：インスリン様増殖因子(IGF)は腫瘍の発生、増殖、生存に関わる多機能な増殖因子である。若年で腸管に多数のポリープが発生し高率に癌化する家族性大腸腺腫症(FAP)のモデルマウスに抗IGF-IおよびIGF-II中和抗体を投与したところ、いずれもポリープの発生が抑制された。また両抗体を同時に投与することにより相加的な効果が確認された。以上より腫瘍周囲の微小環境におけるIGF-IおよびIGF-IIはFAPのポリープの発生において重要な役割を果たしており、治療標的となりうることを示された。

研究成果の概要(英文)：The insulin-like growth factors (IGFs) were multifunctional growth factor involved in the development, growth and survival of tumor cells. Familial adenomatous polyposis (FAP) develops a large number of pre-malignant adenomatous polyps during adolescence which become colon cancers at high rates. IGF-I or IGF-II neutralizing antibody was administered to FAP model mouse and each antibody significantly reduced the number of small intestinal polyp, respectively. Combination administration in the effective dose of each antibody had the synergistic effect. Our findings demonstrate that IGFs in the tumor microenvironment play a crucial role for the colon tumorigenesis and may be the promising therapeutic target.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：消化器内科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：分子標的療法、インスリン様増殖因子、中和抗体、家族性大腸腺腫症

1. 研究開始当初の背景

我々は、これまでにインスリン様増殖因子(IGF)に対する中和抗体を用いて、前立腺癌、多発性骨髄腫の骨転移および大腸癌肝転移の系においてIGFの治療標的としての有用性を証明してきた。我々の開発したIGF中和抗

体(KM1468)はマウスIGF-IIに対する中和活性は持つがマウスIGF-Iに対しては中和活性がない。我々はよりシンプルな系で動物実験を行うためマウスIGF-I中和抗体(KM3168)を作製した。次にわれわれが着目したのは、若年で腸管に多数のポリープが発生し高率

に癌化する家族性大腸腺腫症 (FAP) である。FAP のモデルマウスとマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP)-7 のノックアウトマウスの交配でポリープの発生が抑えられること、また IGF-II の腸管におけるコンディショナルノックアウトマウスとの交配でもポリープの発生が抑えられるという報告は、MMP-7 がすべての IGF 結合タンパクを分解する酵素活性をもつ事実と合わせ、局所で活性化された IGF が腫瘍の発生にも重要な役割を果たすことを強く示唆するものであった。

2. 研究の目的

- (1) 新たに開発したマウス IGF-I 中和抗体 (KM1368) を *in vitro* において評価すること。
- (2) FAP における IGF の治療標的としての有用性を証明すること。
- (3) IGF 中和抗体の作用機序を解明すること。

3. 研究の方法

- (1) KM1368 の中和活性を細胞増殖抑制効果、IGF 受容体過剰発現細胞を用いたリン酸化抑制実験で評価し、抗ラット IgG ELISA キットを用いて、血中半減期を測定した。
- (2) KM1368 と KM1468 を 2 系統の FAP モデルマウス (APC Min mouse および APC1309 mouse) にそれぞれ投与し、ポリープの発生および増殖抑制実験を試みた。
- (3) ポリープ周囲の IGF-I および IGF-II の由来を RT-PCR を用いて検討した。
- (4) 抗体投与群、未投与群のポリープ組織を免疫組織化学的に比較検討し IGF 中和抗体の作用機序を解明した。

4. 研究成果

- (1) KM1368 はいずれの系においてもマウスおよびヒト IGF-I に対する中和活性のみを示した。マウスおよびヒト IGF-II に対しては中和活性をもたず、インスリンとも交差反応はなかった (図 1 A-C)。また最高血中濃度、最高血中濃度到達時間、半減期はそれぞれ $90 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、22 時間、168 時間であった (図 1 D)。

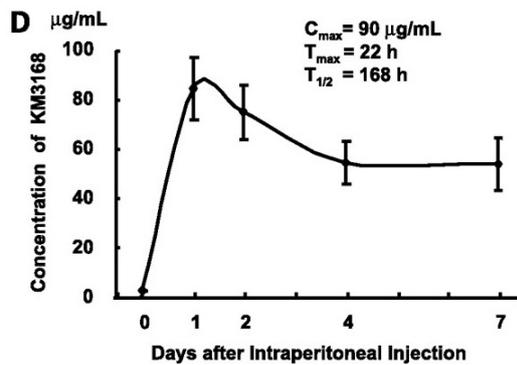
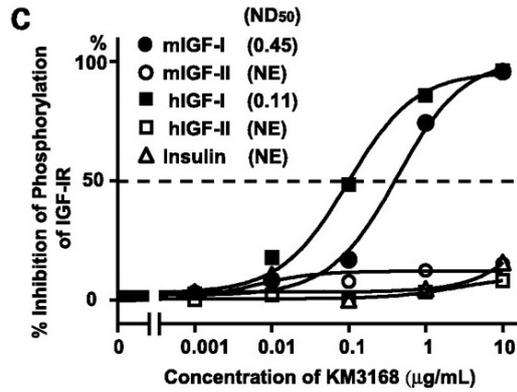
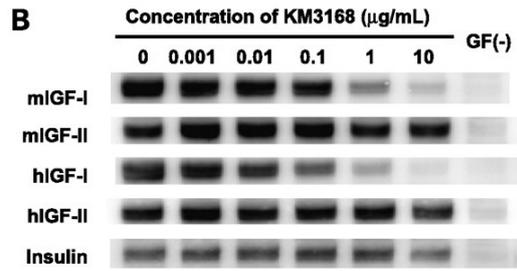
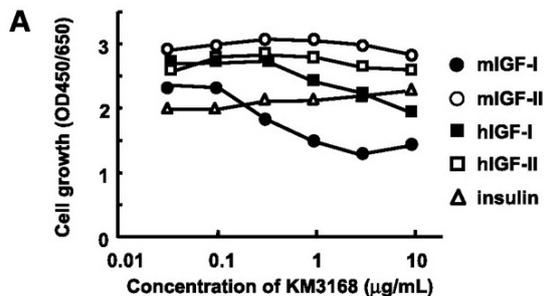


図 1

- (2) ① 血中半減期が示す通り、KM1368 は週 1 回の投与 (半減期 168 時間 = 7 日)、KM1468 は週 2 回の投与 (半減期 85 時間 = 3.5 日) が必要であった。いずれの抗体とも低濃度の方が効果的にポリープの発生を抑制する傾向にあった (図 2)。

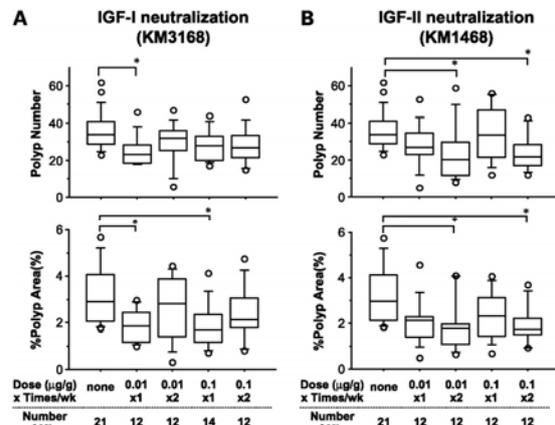


図 2

② また 2 系統の FAP モデルマウスにおいて両抗体を同時投与することにより相加的な効果が確認された。また 6 週からの早期投与のみならず(図 3 A)、10 週からの後期投与にてもポリープの抑制効果が見られた(図 3 B)。

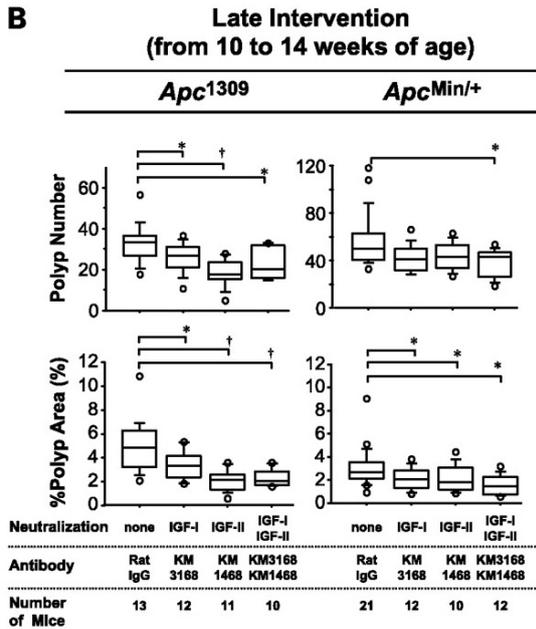
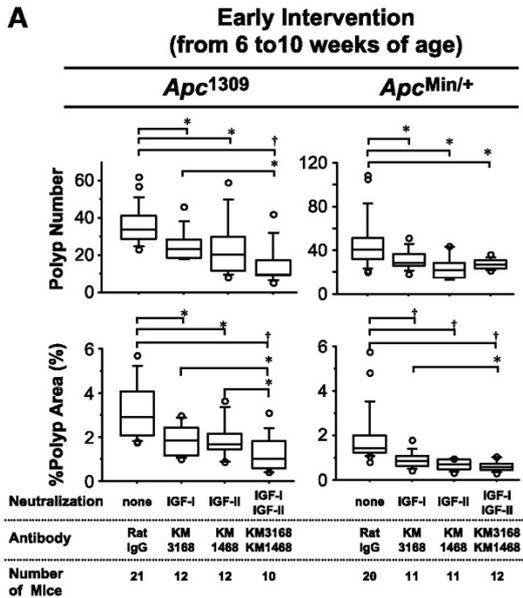


図 3

(3) また、IGF-I の由来は主として肝臓であること (endocrine action) (図 4 A)、IGF-II の由来は主としてポリープの間質 (paracrine action) およびポリープ自身 (autocrine action) であることが明らかとなった(図 4 B)。

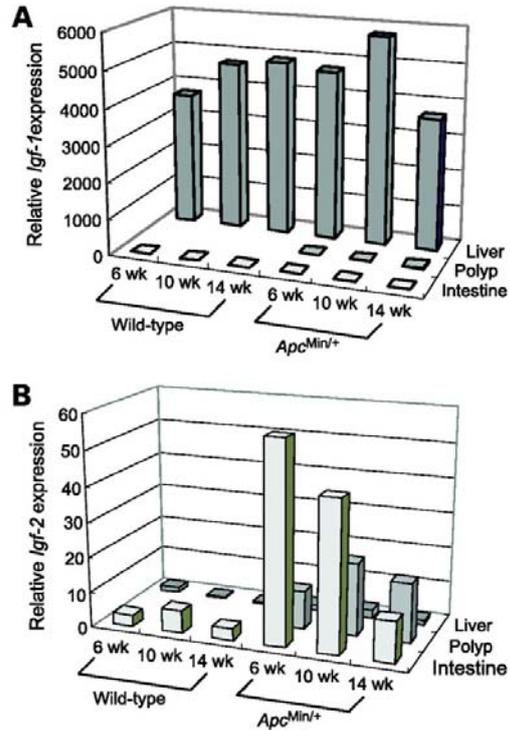


図 4

(4) 免疫組織化学的な検討により、IGF 中和抗体は抗アポトーシスの主要なシグナル伝達経路である PI-3/Akt 経路を阻害することによりアポトーシスを促進し、ポリープの発生を抑制しているものと考えられた(図 5)。

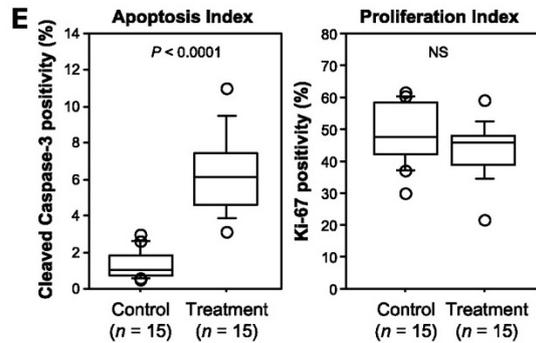
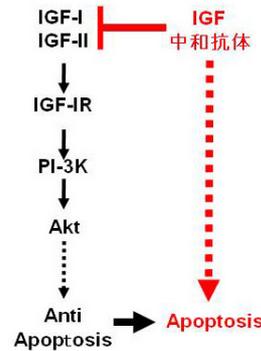


図 5



以上より、腫瘍周囲の微小環境における IGF-I および IGF-II は FAP のポリープの発生において 抗アポトーシス因子として重要な役割を果たしており、治療標的となりうることを示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計6件)

- ① Matsunaka T, Miyamoto S, Shitara K, Ochiai A, Chiba T. Ligand-specific antibodies to insulin-like growth factors suppress intestinal polyp formation in *apc*^{+/-} mice. *Mol Cancer Ther.* (査読有) 2010;9(2):419-28.
- ② Kitagori K, Miyamoto S, Sakurai T. Adenocarcinoma derived from Brunner's gland. *Clin Gastroenterol Hepatol* (査読有) 2010;8(4):A26
- ③ Morita S, Miyamoto S, Matsumoto S, Muto M, Chiba T. Multiple early-stage malignant melanoma of the esophagus with long follow-up period after endoscopic treatment: report of a case. *Esophagus* (査読有) 2009;6(4):249-252.
- ④ Fujiwara M, Miyamoto S, Iguchi K, Matsunaka T, Sakashita H, Tsuruyama T, Kanegane H, Marusawa H, Nakase H, Chiba T. Acute Epstein-Barr Virus infection presenting as severe gastroenteritis without infectious mononucleosis-like manifestations. *Clin J Gastroenterol* (査読有) 2009;2:398-403.
- ⑤ Akitake R, Nakase H, Ueno S, Miyamoto S, Iehara N, Chiba T. Involvement of Lupus Enteritis in a Patient with Lupus Cystitis and Nephritis. *Digestion* (査読有) 2009;80:160-164.
- ⑥ Sangai T, Fujimoto H, Miyamoto S, Maeda H, Nakamura M, Ishii G, Nagai K, Nagashima T, Miyazaki M, Ochiai A. Roles of osteoclasts and bone-derived IGFs in the survival and growth of human breast cancer cells in human adult bone implanted into nonobese diabetic/severe combined immunodeficient mice. *Clin Exp Metastasis.* (査読有) 2008;25(4):401-10.

[学会発表] (計2件)

- ① Miyamoto S, et al. Poster Session Tumor Biology 6: Targets in the Microenvironment Ligand-specific

antibody to insulin-like growth factors suppresses the intestinal polyp formation in *APC*^{+/-} mouse. 100th American Association for Cancer Research (AACR), April 19, 2009 Denver, Colorado, USA.

- ② 松中寿浩、宮本心一 他.
Ligand-specific antibody to insulin-like growth factors suppresses the intestinal polyp formation in *APC*^{+/-} mouse. IGF中和抗体は、*APC*^{+/-}マウスにおけるポリープ形成を抑制する。第67回日本癌学会総会・ワークショップ、2008.10.30、名古屋

[その他]

ホームページ等

<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~gastro/muto/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮本 心一 (MIYAMOTO SHINICHI)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：90378761

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし