

機関番号：17102

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791298

研究課題名 (和文) 遺伝子導入メカニズムの解明とその臨床応用への新展開

研究課題名 (英文) Breakthrough in the mechanism of adenoviral gene delivery and new developments to apply the achievement in a clinical setting

研究代表者

江上 拓哉 (EGAMI TAKUYA)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：40507787

研究成果の概要 (和文)：

アデノウイルスを用いたウイルス治療が種々の化学療法と併用することで導入効率が增强することを示した。感受性膵癌細胞に比べ放射線耐性膵癌細胞でアデノウイルス遺伝子治療の効果が低く逆に抗癌剤耐性細胞で治療効果が高いことがわかった。また間質を構成する線維芽細胞がアデノウイルス遺伝子治療の効果を減弱させることも示した。さらにそのメカニズムを解明するとともにその際に働く分子の同定を行った。今後ウイルス感染とその取り込みに関わる責任分子の発現を症例ごとに評価し、適切な治療を行う個別化ウイルス遺伝子治療への進展の可能性を示した。

研究成果の概要 (英文)：

We revealed that the efficacy of adenoviral therapy was enhanced with combination chemotherapy or radiation. We found that the efficiency of adenoviral therapy in radiation resistant cancer cells was lower than that in radiation sensitive cells, while the efficiency of adenoviral therapy in chemoresistant cancer cells was lower than that in chemosensitive cells. We also revealed that fibroblasts which constitute stroma weaken the efficacy of adenoviral therapy. Furthermore we figured out these mechanisms and identified the molecules responsible for the mechanisms. These data suggest that there are possibilities in adenoviral therapy for individual by evaluating the molecules responsible for adenoviral infection and uptake with respect to each case.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：消化器外科

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：膵臓外科学、膵癌、ウイルス治療

1. 研究開始当初の背景

膵臓癌は手術療法が長期予後を得る唯一の方法とされるが局所進展や遠隔転移のため

手術可能な症例は少ない。従来の治療法である化学・放射線療法の効果は依然として低く、膵臓癌は極めて予後不良である。従って新た

な膀胱癌治療戦略が必要とされておりウイルス治療が期待されている。しかし現在のところアデノウイルス治療の効果は十分ではなく、治療効果の増強や症例ごとの適正な治療法の確立が求められている。

2. 研究の目的

アデノウイルス治療の効果の増強を目指し、様々な条件がウイルス治療に及ぼす影響を検討しその詳細なメカニズムを解析することを研究の目的とする。

3. 研究の方法

①感染前あるいは後だけに抗癌剤を暴露するモデルを用いて比較検討する。次に感染が成立した以降の過程に及ぼす影響、特にエンドサイトーシスや promoter 活性に着目して検討する。

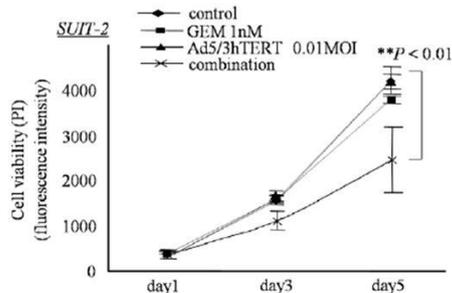
②放射線感受性細胞と耐性細胞におけるアデノウイルスの遺伝子導入効率や治療効果を比較しさらにウイルスの取り込みに関わる分子の発現を RT-PCR で測定する。

③抗癌剤感受性細胞と耐性細胞におけるアデノウイルスの遺伝子導入効率や治療効果を比較しさらにウイルスの取り込みに関わる分子の発現を RT-PCR で測定する。

④間質を構成する線維芽細胞の培養上清を添加して培養した膀胱癌細胞と添加せず培養した膀胱癌細胞でのアデノウイルスの遺伝子導入効率や治療効果を比較しそのメカニズムを検討する。

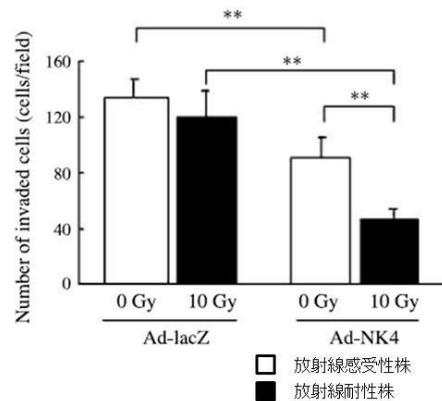
4. 研究成果

①CMV プロモーターをもち治療用蛋白を発現するアデノウイルス (AdNK4) を用い、5FU、CDDP、Etoposide といった抗癌剤を投与することで AdNK4 の感染効率が増強した (Egami, Can Sci, 2009)。さらに、膀胱癌の第1選択薬であるゲムシタピンと併用すると CMV プロモーターが活性化し導入効率が増強した (Onimaru, Can Gene Ther, in press)。また制限増殖型アデノウイルス Ad5/3hTERTE1 を使用した実験でもゲムシタピンとの併用で治療効果が増強した (Onimaru, Can Let, 2010)。

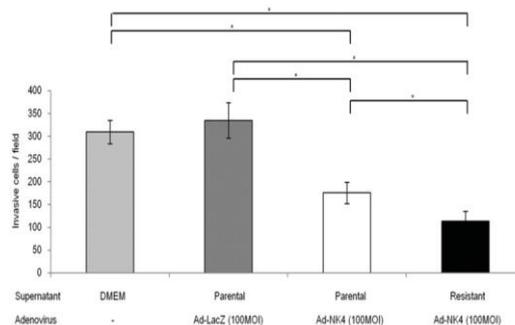


②放射線耐性膀胱癌細胞は放射線感受性細胞よりウイルス治療効果が低いことを示した。

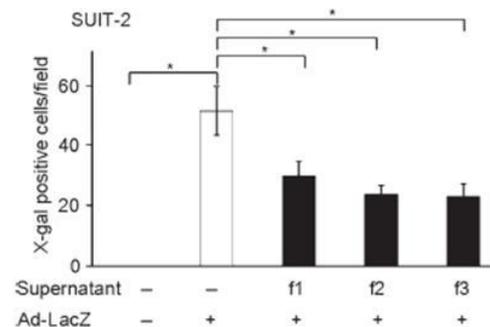
ウイルスの取り込みに関わるインテグリン $\beta 3$ の mRNA は放射線感受性細胞よりも放射線耐性膀胱癌細胞で 66-120 倍発現しておりこれを抑制するとアデノウイルス感染が増強した (Egami, Can Sci, 2009)。



③抗癌剤耐性膀胱癌細胞は抗癌剤感受性細胞よりウイルスの感染効率及びウイルス治療効果が高いことを示した。 (Yasui, Anticancer Research, in press)



④間質を構成する線維芽細胞の培養上清を添加して培養した膀胱癌細胞は添加せずに培養した膀胱癌細胞に比べてウイルスの導入効率が低下したが、癌間質相互作用を担う HGF/MET 経路を HGF 中和抗体と MET 阻害剤を用いて阻害するとアデノウイルスの導入効率は改善した (Yasui, Can Sci 2011)。



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 7件)

1. Takuya Egami, Kenoki Ohuchida, Kazuhiro Mizumoto, Manabu Onimaru, Hiroki Toma, Shoko Nishio, Eishi Nagai, Kunio Matsumoto, Toshikazu Nakamura and Masao Tanaka, Chemotherapeutic agents potentiate adenoviral gene therapy for pancreatic cancer. *Cancer Sci.* 100, 722-9. 2009
2. Takuya Egami, Kenoki Ohuchida, Takaharu Yasui, Kazuhiro Mizumoto, Manabu Onimaru, Hiroki Toma, Norihiro Sato, Kunio Matsumoto and Masao Tanaka, Up-regulation of integrin beta3 in radioresistant pancreatic cancer impairs adenovirus-mediated gene therapy. *Cancer Sci.* 100, 1902-7, 2009
3. Onimaru Manabu, Ohuchida Kenoki, Mizumoto Kazuhiro, Nagai Eishi, Cui Lin, Toma Hiroki, Takayama Koichi, Matsumoto Kunio, Hashizume Makoto, Tanaka Masao, hTERT-promoter-dependent oncolytic adenovirus enhances the transduction and therapeutic efficacy of replication-defective adenovirus vectors in pancreatic cancer cells. *Cancer Sci.* 101, 735-42. 2009
4. Manabu Onimaru, Kenoki Ohuchida, Eishi Nagai, Kazuhiro Mizumoto, Takuya Egami, Lin Cui, Norihiro Sato, Junji Uchino, Koichi Takayama, Makoto Hashizume, Masao Tanaka, Combination with low-dose gemcitabine and hTERT-promoter-dependent conditionally replicative adenovirus enhances cytotoxicity through their crosstalk mechanisms in pancreatic cancer. *Cancer Lett.* 294, 178-86. 2010
5. Onimaru M, Ohuchida K, Egami T, Mizumoto K, Nagai E, Cui L, Toma H, Matsumoto K, Hashizume M, Tanaka M, Gemcitabine synergistically enhances the effect of adenovirus gene therapy through activation of the CMV promoter in pancreatic cancer cells. *Cancer Gene Ther.* 17, 541-9, 2010
6. Yasui T, Ohuchida K, Zhao M, Onimaru M, Egami T, Fujita H, Ohtsuka T, Mizumoto K, Tanaka M, Tumor-stroma interactions reduce the efficacy of adenoviral therapy through the HGF-MET pathway. *Cancer Sci.* 2011 102, 484-91, 2011
7. Takaharu Yasui, Kenoki Ohuchida, Ming Zhao, Lin Cui, Manabu Onimaru, Takuya Egami, Hayato Fujita, Takao Ohtsuka,

Kazuhiro Mizumoto, Kunio Matsumoto, Masao Tanaka., Adenoviral Therapy Is More Effective in Gemcitabine-resistant Pancreatic Cancer than in Gemcitabine-sensitive Cells. *Anticancer research.* in press

[学会発表] (計 5件)

1. 鬼丸学 他、制限増殖型アデノウイルスによるアデノウイルスベクター導入効率の増強効果作用. 日本外科学会総会 2009年4月、福岡
2. 江上拓哉 他、抗癌剤併用によるアデノウイルスベクターの遺伝子発現促進作用. 日本外科学会総会 2009年4月、福岡
3. 江上拓哉 他、放射線耐性膵癌細胞株におけるアデノウイルス遺伝子導入効率の検討. 日本膵臓学会総会、2009年7月、東京
4. 安井隆晴、他、膵癌の線維芽細胞によるアデノウイルス導入効率の阻害効果. 2010年4月、日本外科学会総会、名古屋
5. Yasui T, et al., Adenoviral therapy is more effective for gemcitabine resistant pancreatic cancer cells than in gemcitabine sensitive cells. *International Association of Pancreatology*, 12, July, 2010, FUKUOKA

[図書] (計 0件)

なし

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

なし

○取得状況 (計0件)

なし

[その他]

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

江上 拓哉 (EGAMI TAKUYA)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：40507787

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし