

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月29日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22501044

研究課題名（和文） Src を標的分子とした小細胞肺癌の治療を開発するための実験的研究

研究課題名（英文） Experimental study to develop Src-targeted molecular therapy in small cell lung cancer

研究代表者

井岸 正（IGISHI TADASHI）

鳥取大学・医学部・准教授

研究者番号：80273895

研究成果の概要（和文）：小細胞肺癌の切除組織で幹細胞因子/c-kit ならびにインスリン様増殖因子 I（IGF-I）/ IGF-I レセプターが認められた。H209 小細胞肺癌細胞において、幹細胞因子ならびに IGF-I の存在下でアムルビシン感受性が低下した。Src 阻害剤であるダサチニブは幹細胞因子誘導性のアムルビシン耐性を低下させたが、IGF-I 誘導性アムルビシン耐性には影響を与えなかった。

研究成果の概要（英文）：Stem cell factor/c-kit and insulin-like growth factor-I(IGF-I)/IGF-I receptor were detected in small cell lung cancer specimens. In small cell lung cancer cell line, H209 cells, both stem cell factor and IGF-I induced amrubicin resistance. A Src inhibitor, dasatinib, restored the sensitivity to amrubicin in stem cell factor-treated H209 cells. However, dasatinib did not affected IGF-I-induced amrubicin resistance.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,700,00	810,000	3,510,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：腫瘍学・分子標的治療

キーワード：小細胞肺癌・分子標的治療・Src

1. 研究開始当初の背景

肺癌は癌死亡の第1位で、難治性癌のひとつである。小細胞肺癌は肺癌の15-20%を占める。その生存期間中央値は限局型で24ヶ月、進展型では12ヶ月程度で非常に予後が悪く、新しい発想に基づく治療法が強く望まれる癌種である。

癌の分子標的治療の有効性は確立されつつあり、非小細胞肺癌におけるゲフィチニブ、エルロチニブ、乳癌におけるトラスツズマブ、慢性骨髄性白血病や消化管間質腫瘍におけるイマチニブの治療への導入は成功例で、予後の改善に貢献している。また、最近では血管新生を標的とした分子標的治療薬が導入

され、各種の癌種のさらなる治療法の進展が期待される。しかしながら、小細胞肺癌における分子標的治療の導入は遅れており、臨床的に有効性が確認されているものは皆無である。

2. 研究の目的

小細胞肺癌において、細胞質内チロシンキナーゼである Src が異常な発現をしているのが確認されている。

小細胞肺癌の特徴として、種々の autocrine growth loop (増殖因子とそのレセプター) による細胞増殖が挙げられる。仮に、これらの autocrine growth loop が同時に小細胞肺癌で機能しているとすると、単一の因子を標的とした治療は効果が期待できない。

そこで、これらの autocrine growth loop の下流で活性化される共通の因子に着目し、現時点で臨床的に抑制可能な標的分子を検討した結果、細胞質内のチロシンキナーゼである Src が有望な候補であると考えた。種々の増殖因子あるいはそのレセプターを標的とするのではなく、臨床的に使用することのできるチロシンキナーゼ阻害剤で Src を抑制することで、実臨床で用いられる抗癌剤の感受性を高められる可能性を実験的に検討することを目的とした。

3. 研究の方法

小細胞肺癌手術検体において代表的な autocrine growth loop であるインスリン様増殖因子 I/インスリン様増殖因子 I レセプターと幹細胞因子/c-kit の存在を免疫組織染色により評価した。

小細胞肺癌細胞で増殖因子のレセプターの発現をウエスタンブロットでスクリーニングし、複数の増殖因子のレセプターを発現する細胞を選択した。その細胞を用いて、確認された増殖因子による細胞増殖、臨床的に

小細胞肺癌の治療に用いられる抗癌剤感受性を MTT アッセイによって評価した。抗癌剤感受性の低下が増殖因子で認められた場合、Src を含むマルチチロシンキナーゼ阻害薬であるダサチニブで増殖因子誘導性抗癌剤耐性が解除できるかを検討した。

4. 研究成果

小細胞肺癌細胞株 H209 細胞において幹細胞因子に対するレセプターである c-kit の発現とインスリン様増殖因子 I レセプターの存在を確認した。この細胞を用いて、抗癌剤の感受性を MTT アッセイで検討した。H209 細胞において幹細胞因子の存在下において、シスプラチン、イリノテカン、エトポシドに対する感受性は変化しなかったが、アムルビシンに対する抵抗性が増強した。Src 阻害剤でもあるダサチニブは、幹細胞因子によるアムルビシン抵抗性を減弱し、その細胞増殖抑制作用を増強した。

小細胞肺癌手術検体の腫瘍組織において autocrine growth loop の存在を評価する目的で、インスリン様増殖因子 I/インスリン様増殖因子 I レセプターならびに幹細胞因子/c-kit に対する免疫組織染色を行った。19 の小細胞肺癌手術検体において、2 つの autocrine growth loop の共存を示唆する結果が得られた。

H209 ならびに H69 細胞においてインスリン様増殖因子 I レセプターの発現をウエスタンブロットで確認した。H209 細胞において、インスリン様増殖因子 I の存在下ではアムルビシンに対する感受性が低下するのが MTT アッセイで確認された。H69 細胞において通常の 10% ウシ胎児血清を含む培養条件下では、IGF-I はアムルビシンに対する感受性に影響を与えなかった。しかし、1% ウシ胎児血清下の培養条件では、インスリン様増殖因子 I

の添加によりアムルビシンに対する感受性低下が観察された。H209 ならびに低ウシ胎児血清培養下 H69 細胞で、インスリン様増殖因子 I 誘導性のアムルビシン抵抗性に対する Src 阻害剤であるダサチニブの影響を検討したが、明らかな影響は認めなかった。

H209 ならびに H69 細胞において、肝細胞増殖因子のレセプターである c-met の発現を確認後、それぞれの細胞において肝細胞増殖因子によるアムルビシン感受性への影響を検討したが、明らかな影響は認めなかった。さらに、H69 細胞において、肝細胞増殖因子存在下・非存在下で 2 種類の c-met 阻害剤 (PHA66572, SU11274) のアムルビシン感受性への影響を評価したが、明確な効果は認めなかった。

さらに、有力な autocrine growth factor 候補である neuromedin B のアムルビシン感受性への影響を H69 細胞で検討したが、明確な効果を認めなかった。

これらを総合すると、小細胞肺癌において幹細胞因子/c-kit やインスリン様増殖因子 I/インスリン様増殖因子 I レセプターなどの複数の autocrine growth loop が共存し、アムルビシン抵抗性に関与する可能性はある。ただし、他にも複数の autocrine growth factor が同一細胞あるいは同一組織に存在し、それらがアムルビシンを含む抗癌剤抵抗性に関与するかは、さらなる検討を要する。また、インスリン様増殖因子 I によるアムルビシン抵抗性を Src 阻害剤であるダサチニブで解除できる明確な根拠は得られなかった。

本研究の意義として、小細胞肺癌において、複数の増殖因子が同時に機能している可能性を示したことが上げられる。現時点ではそれらが生体内で小細胞肺癌細胞の増殖に関与している直接的な根拠とはならない。しかしながら、複数の増殖因子とそれらのレセプ

ターが同時に機能しているという前提がある場合、単一の増殖因子あるいはレセプターを標的とした分子標的治療では小細胞肺癌においては十分効果的ではない可能性がある。このことは、幹細胞因子/c-kit 系を標的としたイマチニブによる小細胞肺癌治療の試みが失敗した原因を説明しうる。今後、小細胞肺癌の分子標的治療を開発する際には、このことを考慮する必要がある。

また、インスリン様増殖因子 I の存在下では、小細胞肺癌細胞がアムルビシン抵抗性となることは治療的に重要な意味をもつ可能性がある。小細胞肺癌の治療選択肢は少ない。現在、日本においてアムルビシンは化学療法の 2 次治療として頻用されるが、ほとんど場合最終的に無効となり、その後の治療に難渋する。以前より我々は、小細胞肺癌細胞においてチロシンキナーゼ阻害薬とアムルビシンの併用効果を確認している。今回の結果もそれらと整合性があり、今後小細胞肺癌でインスリン様増殖因子 I レセプター阻害薬が臨床応用された場合、アムルビシンとの併用療法も期待できると考えられる。

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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井岸 正 (IGISHI TADASHI)
鳥取大学・医学部・准教授
研究者番号：80273895

(2) 研究分担者

松本慎吾 (MATSUMOT SHINGO)
独立行政法人国立がん研究センター・臨床
開発センター・研究員
研究者番号：10392341

橋本 潔 (HASHIMOTO KIYOSHI)
鳥取大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：50379640

(3) 連携研究者

()

研究者番号：