

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591011

研究課題名(和文)膵発癌マウスを用いたオートファジーの膵癌予防及び治療標的としての重要性の検討

研究課題名(英文)Analysis of roles of autophagy in pancreatic cancer using mouse models

研究代表者

池上 恒雄(Ikenoue, Tsuneo)

東京大学・医科学研究所・准教授

研究者番号：80396712

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌は難治性の腫瘍であり、新規治療法の開発が重要であるが、そのためには膵癌の生物学的特徴のより深い理解が必須である。また、オートファジーは細胞内タンパク質の大規模な分解機構であるが、近年癌との関わりが注目されている。我々は膵癌マウスモデルにおいてオートファジーに必須なAtg5遺伝子を欠失させることにより、膵癌におけるオートファジーの役割を検討した。その結果オートファジーが膵癌の発生には抑制的に、進展には促進的に作用することを見出した。

研究成果の概要(英文)：To develop new therapy for pancreatic cancer, it is essential to understand biological features of this disease. Autophagy is one of major protein degradation systems that were reportedly involved in tumorigenesis. To elucidate roles of autophagy in pancreatic cancer development, we deleted Atg5 gene, which is essential for autophagy, in pancreatic cancer mouse models. Our results demonstrated that autophagy has a suppressive role in initiation but a promotive role in progression of pancreatic cancer.

研究分野：医歯薬学

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：膵癌 オートファジー

1. 研究開始当初の背景

最難治癌の一つである膵癌は手術、抗腫瘍薬、放射線治療等を駆使した集学的治療を行った場合でも依然として予後不良であることが多い。したがって、膵癌に対する有効な治療法あるいは予防法の開発は重要な課題である。また、オートファジーはリソゾームによる細胞内タンパク質の大規模な分解機構であり、最近癌との関わりが注目されている。膵癌は代表的な乏血性腫瘍であり、癌細胞自身が常に低酸素、低栄養状態に曝されていることが考えられる。そうした環境への適応手段として、オートファジーが腫瘍形成及び進展になんらかの関与をしていることが示唆される。

2. 研究の目的

膵癌の発生進展におけるオートファジーの役割を明らかにすることにより、オートファジーを標的とした膵癌の新規治療法の開発に貢献する。

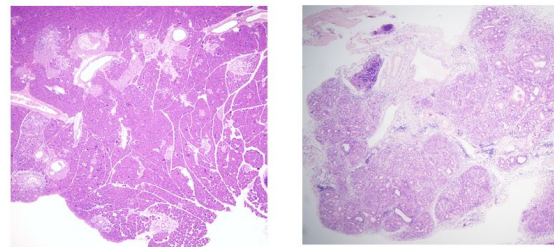
3. 研究の方法

膵臓特異的活性化型 Kras ノックインマウスはヒト膵癌の発生進展を模倣する理想的なマウスモデルとして膵癌研究に広く用いられている。また、オートファジーに必須の役割を有する Atg5 遺伝子のノックアウトマウスは生体内においてオートファジーを不活化することができることが知られている。我々は膵臓特異的 Kras 変異ノックインマウスと条件的 Atg5 ノックアウトマウスを交配することにより、膵臓特異的に Kras 変異を有し、同時にオートファジーの不活化されたマウスを作製し、膵臓特異的に Kras 変異マウスと腫瘍発生及び進展について比較した。まず膵腫瘍発生初期におけるオートファジーの役割を評価するために生後4週から8週令の膵特異的 Kras 変異マウスと Kras 変異+Atg5 欠損マウスより膵組織を採取して前癌病変の発生の程度を比較検討した。次に膵前癌病変の異型度の進行におけるオートファジーの役割を評価するために生後8か月令の膵特異的 Kras 変異マウスと Kras 変異+Atg5 欠損マウスより膵組織を採取して前癌病変のグレードを比較検討した。さらにオートファジーの膵進行癌の発生における役割を評価するために膵特異的 Kras 変異マウスと Kras 変異+Atg5 欠損マウスにおける進行癌の発生率を比較検討した。

4. 研究成果

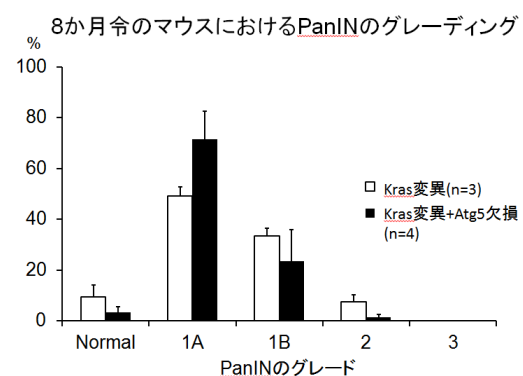
膵特異的 Kras 変異ノックインマウスは生後4週令で膵癌の前癌病変である膵腺房導管異形成(Acina-ductal metaplasia;ADM)、膵上皮内腫瘍性病変(Pancreatic intraepithelial neoplasia; PanIN)を生じ、長期間を経た後に癌化し、Pancreatic ductal adenocarcinoma(PDAC)になり得ることが知られている。我々の検討でも膵特異的 Kras

図1 Kras変異 8週令 Kras変異+Atg5欠損 8週令



変異ノックインマウス膵特異的 Kras 変異ノックインマウスは生後約4週令からADM及びPanINを生じたが、8週令においても膵臓の一部に病変が見られるのみであった。一方膵特異的 Kras 変異 + Atg5 ノックアウトマウスでは4週令に生じたADM及びPanINは急速

図2

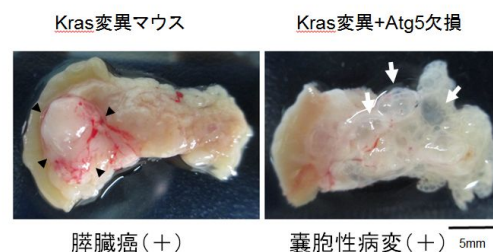


に進行し、8週令では膵臓ほぼ全体を占めるまでに拡大した(図1)。

これらの結果よりオートファジー不全により膵癌の前癌病変の発生は促進されることが明らかとなった。前癌病変であるPanINはその組織学的異型度によりPanIN-1A,1B,2,3に分類されるが、次に膵特異的 Kras 変異マウスと膵特異的 Kras 変異 + Atg5 ノックアウトマウスに生じるPanINのグレードを生後8か月令のマウスで比較した。すると Kras 変異マウスに比して Kras 変異 + Atg5 ノックアウトマウスはPanINの異型度が低いことがわかった(図2)。

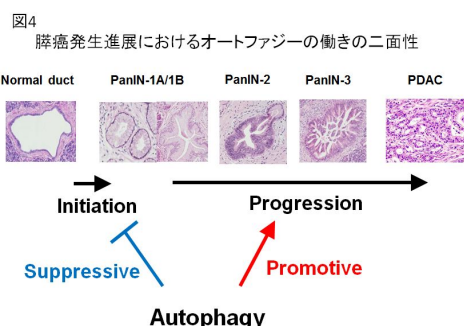
このことはオートファジー不全がPanINの異型度の進行を抑制することを示唆している。さらに進行癌の発生の差異を膵特異的 Kras 変異マウスと膵特異的 Kras 変異 + Atg5 ノックアウトマウスで比較したところ膵特異的 Kras 変異マウスでは生後18か月以内に11匹

図3 生後18か月令程度の膵の外観



中 7 匹(63.6%)のマウスに進行癌を認めたが(図3) 腓特異的 Kras 変異 + Atg5 ノックアウトマウスでは 22 匹中 1 匹(4.5%)のマウスにのみ進行癌が見られたのみで、すべてのマウスにおいて膵臓のほぼ全域が cystic な良性病変(図3)と低グレードの PanIN に変化しているのみであった。すなわちオートファジー不全は Kras 変異による膵進行癌の発生を抑制することが示された。

以上の結果から Kras 変異に起因する膵発癌においてオートファジー不全が腫瘍の発生に対しては促進的に働き、腫瘍の進行、悪性化においては抑制的に働くことが示された。すなわち、オートファジーは Kras 変異に起因する膵発癌の発生は抑制し、進行は促進するという二面性を有していることが明らかとなった(図4)。このことはヒト膵癌は大部分が Kras 変異を有することが知られており、本研究の成果はオートファジー阻害剤の臨床応用に有用な知見となると考える。



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1件)

Miyabayashi K, Ijichi H, Mohri D, Tada M, Yamamoto K, Asaoka Y, Ikenoue T, Tateishi K, Nakai Y, Isayama H, Morishita Y, Omata M, Mo HL, Koike K. Erlotinib prolongs survival in pancreatic cancer by blocking gemcitabine-induced MAPK signals. Cancer Research 査読有 73: 2221-2234, 2013

〔学会発表〕(計4件)

池上恒雄、今井光穂、藤井智明、山口貴世志、松原大祐、伊地知秀明、立石敬介、小池和彦、古川洋一 オートファジー不全は恒常活性化型 Kras 変異に起因するマウス膵腫瘍の発生を促進する 第72回日本癌学会総会 2013年10月3日 横浜

今井光穂、池上恒雄、藤井智明、磯村好洋、小池和彦、古川洋一 オートファジー不全はマウス膵腫瘍の発生を促進する 第71回日本癌学会総会 2012年9月19日 札幌

伊地知秀明、宮林弘至、多田素久、浅岡良成、池上恒雄、立石敬介、森下保幸、小俣政男、小池和彦 遺伝子改変マウスを用いた膵癌の起源細胞へのアプローチ 第71回日本癌学会総会 2012年9月19日 札幌

多田素久、伊地知秀明、宮林弘至、浅岡良成、毛利大、池上恒雄、立石敬介、金井文彦、石原武、今関文夫、モーゼスハロルド、小俣政男、横須賀収 膵微小環境を標的とした膵癌新規治療の探索 2012年9月21日 札幌

〔図書〕(計1件)

池上恒雄 北隆社 BIO Clinica 栄養状態センサーである mTOR 経路と癌 2012 P39-P43

〔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

池上 恒雄 (IKENOUE Tsuneo)

東京大学・医科学研究所・准教授

研究者番号: 80396712

(2) 研究分担者

伊地知 秀明 (IJICHI Hideaki)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号: 70463841

古川 洋一 (FURUKAWA Yoichi)

東京大学・医科学研究所・教授

研究者番号: 20272560

藤井 智明 (FUJII Tomoaki)

東京大学・医科学研究所・特任研究員

研究者番号：10511420
(平成 23,24 年度のみ研究分担者)

(3)連携研究者
()

研究者番号：