

## 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：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23790773

研究課題名(和文) マウスモデルを用いた膵癌に対するmTORとMAPKを標的とした治療法の検討

研究課題名(英文) Dual inhibition of MAPK and mTOR signaling on Pancreatic Cancer

研究代表者

毛利 大(MOHRI, DAI)

東京大学・医学部附属病院・その他

研究者番号：20582513

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：ある阻害薬を投与すると別のシグナルも抑制や増強が起きるといふシグナル間の相互作用が知られてきている。我々は臨床の膵癌をよく近似した管状腺癌を呈する膵臓上皮特異的遺伝子改変マウスを有しており、同マウスモデルおよびその癌部から樹立した膵癌細胞株を用いて、MAPKとmTORシグナルをターゲットとした治療法の研究を行った。MEK阻害薬としてCI-1040、mTOR阻害薬としてRAD001を使用した。細胞株への投与実験では、併用群で最も腫瘍増殖抑制効果を示し、その機序として細胞周期の抑制が確認された。マウスへの投与実験でも併用群で最も予後延長効果を認め、生体での有効性が確認された。

研究成果の概要(英文)：A crosstalk between mitogen-activated protein kinase (MAPK) and mammalian target of Rapamycin (mTOR) signaling pathways has been reported in several cancers. We have already established pancreas-specific TGF- $\beta$  receptor II (Tgfbr2) knockout mice in the context of Kras activation and the cell lines derived from these mice. The clinical and histopathologic manifestations of the mice recapitulated human pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC). We report here that the combination therapy using CI-1040, an inhibitor of MEK (mitogen-activated protein kinase kinase) and RAD001, an inhibitor of mTOR, inhibited cell growth of pancreatic cancer in vivo and prolonged survival in a murine model of PDAC. We found that the combination therapy significantly induced cell cycle arrest dramatically compared to the single agent. These findings suggest that the double blockade of MAPK and mTOR signaling pathways might inhibit the signal crosstalk and benefit patients with advanced 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：膵発癌マウスモデル 分子標的薬

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 現在膵癌は日本人の癌死の第5位を占め、近年増加傾向にある。その予後は最近でもまだ5年生存率5%程度と依然として極めて不良である。

(2) 膵癌の発癌および進展のメカニズムを理解するため、近年膵臓特異的な遺伝子改変マウスを用い、ヒトの膵癌をよく模倣する膵癌モデルが作成されてきた。その中でも、我々が樹立した恒常活性型 KrasG12D 発現と TGF-beta II 型受容体 (Tgfr2) ノックアウトという組合せのマウスは、ヒトの膵癌と同様の臨床的症候を呈し、かつ著明な間質の増生を伴う分化型管状腺癌が得られ、既報のモデルの中で最もヒトの膵癌に似たモデルと考えられる (Ijichi et al., Genes Dev 2006)。このモデルでは、前癌病変である PanIN (pancreatic intraepithelial neoplasia) の段階的進行も見られ、ヒトの多段階発癌過程をもなぞらえている。

また、xenograft モデルに対して我々のモデルは免疫系も intact であり、腫瘍と間質の相互作用等、癌の微小環境も実際のヒトの癌をよく近似しているため、より臨床の実状に近い状態で新規治療法の効果を試すことが出来、また膵癌の発癌進展機序の詳細な解析も可能なモデルである。

(3) 近年、古くから使用されている 5-FU のような conventional な治療薬だけでなく、特定の Molecule を target にした薬剤が登場している。肺癌に対する Gefitinib、乳癌に対する Trastuzumab、大腸癌に対する Bevacizumab のように、すでに有効性を認められている薬剤も存在するが、膵癌において、単剤あるいは他薬剤併用に関わらず従来の薬剤を上回る治療効果を示した薬剤は存在しない (Erlotinib 承認前)。しかし、既存の抗癌剤のみでは breakthrough は難しく、我々は MAPK signal と PI3K/AKT signal に着目した。この 2 つの signal は細胞増殖・成長並びに生存に関与する重要な signal であるが、密接な相互作用の関係にあり、片方の Signal を抑制するともう一方の signal が増強されることが知られている (Carracedo et al., JCI, 2008, Mirzoeva et al., Cancer Res, 2009)。そこで、膵癌において 2 つの signal を抑制することで治療効果の向上が得られれば、今後の分子標的治療の在り方に大きな影響を与えることとなり、早急に解明すべき課題と考えた。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、実際の臨床現場で使用される前の薬剤について、in vitro や xenograft model より人に近い環境において、その有効性と作用機序を解明し、病態の理解とより効果的な膵癌の治療法を開発することを目的としている。

### 3. 研究の方法

MEK inhibitor として CI-1040、mTOR inhibitor として RAD001 を使用した。この 2 つの薬剤は in vitro ではその signal の抑制、抗腫瘍効果は確認されているが単剤で担癌患者にその有効性は示されていない (Rinehart et al., JCO, 2004, Brian et al., JCO, 2009)。

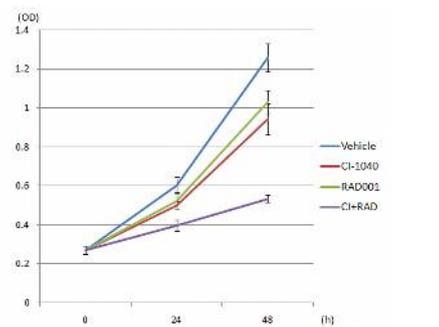
(1) 膵発癌マウスモデルから樹立した Cell line に inhibitor を投与し、抗腫瘍効果の確認およびその作用機序の解明を行う。

(2) ヒト膵癌をよく反映した発癌マウスモデルに対し inhibitor の投与を行い、その治療効果の検討を行う。

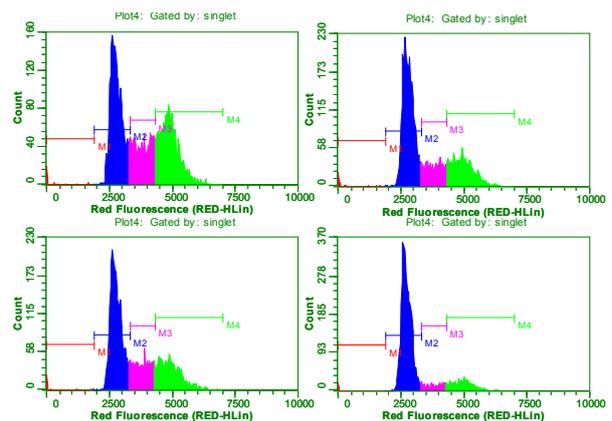
### 4. 研究成果

#### < in vitro での腫瘍増殖効果の抑制 >

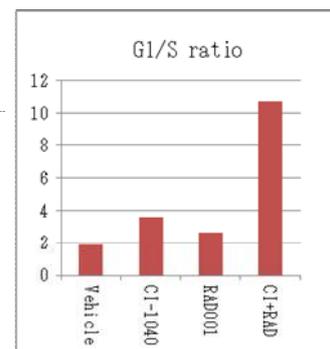
膵発癌マウスモデルから樹立した Cell line に inhibitor を投与し 48 時間観察したところ、対象群に対し有意に細胞増殖抑制効果を示し、併用群は単剤群に比較しても有意に増殖抑制効果を示した。



#### < in vivo での細胞周期への影響 >

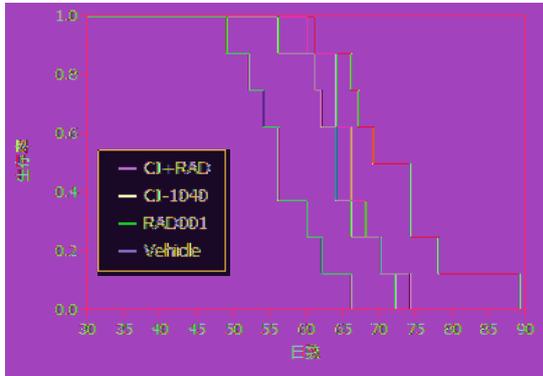


Vehicle	CI-1040
RAD001	CI+RAD



CI-1040、RAD001 の投与により、対照群と比較し G1/S 比の上昇を認めましたが、併用によりその効果は有意に増強された。

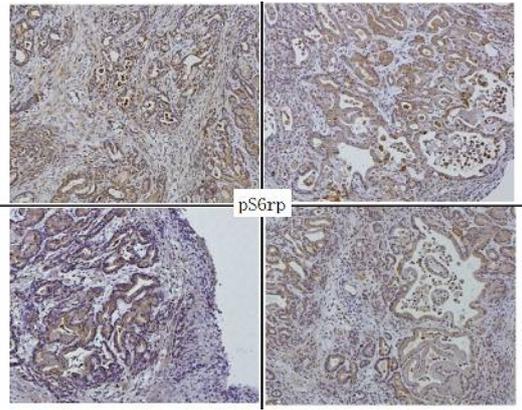
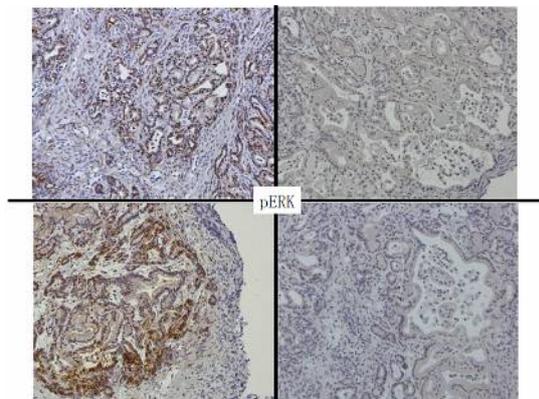
<in vivo での生存曲線の改善>  
 膵発癌モデルマウスに、4 週齢から各阻害薬の単剤・併用投与を行い生存期間の比較を行った。



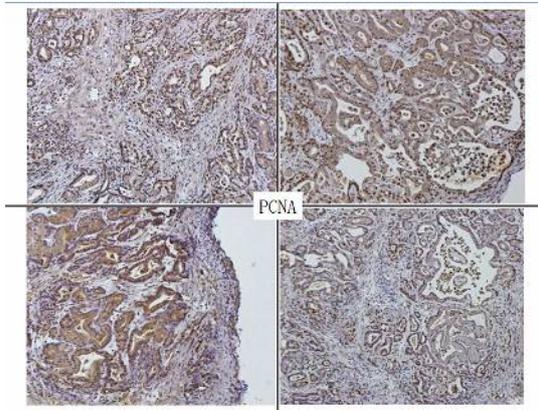
単剤でも予後延長効果を認めましたが、併用群で最も効果が大きかった。

<in vivo における蛋白発現の解析>  
 各投与群におけるマウス癌部膵組織における ERK、S6rp のリン酸化を検討したが、inhibitor の投与により目的の Signal の抑制は確認された。

Vehicle	CI-1040
RAD001	CI+RAD



また、細胞増殖マーカーとして PCNA の免疫染色を行ったところ、併用群でその抑制を認めた。



#### <結論>

MEK inhibitor と mTOR inhibitor の併用により、細胞周期の抑制効果が増強され、ヒトに近い膵発癌モデルマウスでも予後延長効果を認めた。既報を踏まえると、以上の結果は MEK inhibitor と mTOR inhibitor の組み合わせによる治療効果の向上が、体の様々な臓器由来の癌で普遍的に有効であることが示唆され、将来的な治療応用に期待が持てる結果となった。

#### 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 2 件)

① Mohri D, Asaoka Y, Ijichi H, Miyabayashi K, Kudo Y, Seto M, Ohta M, Tada M, Tanaka Y, Ikenoue T, Tateishi K, Isayama H, Kanai F, Fukushima N, Tada M, Kawabe T, Omata M, Koike K. Different subtypes of intraductal papillary mucinous neoplasm in the pancreas have distinct pathways to pancreatic cancer progression. J

Gastroenterol. 2012 Feb;47(2):203-13. (査読有)

②Miyabayashi K, Ijichi H, Mohri D, Tada M, Yamamoto K, Asaoka Y, Ikenoue T, Tateishi K, Nakai Y, Isayama H, Morishita Y, Omata M, Moses HL, Koike K. Erlotinib prolongs survival in pancreatic cancer by blocking gemcitabine-induced MAPK signals. Cancer Res. 2013 Apr 1;73(7):2221-34 (査読有)

[学会発表] (計 1 件)

①毛利大、伊地知秀明、小池和彦. 胆嚢癌に対する mTOR と MAPK を標的とした治療法の検討。第 53 回 日本消化器病学会大会・パネルディスカッション、福岡、2011.10

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

毛利 大 (MOHRI DAI)  
東京大学・医学部・特任臨床医  
研究者番号：20582513

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし