

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 21 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390368

研究課題名(和文)新規の抗癌免疫活性化タンパク質による革新的前立腺癌治療法の確立

研究課題名(英文)A novel therapeutic strategy for prostate cancer treatment with anti-cancer immunological proteins.

研究代表者

那須 保友(Nasu, Yasutomo)

岡山大学・大学病院・教授

研究者番号：20237572

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,500,000円

研究成果の概要(和文)：REIC/Dkk-3タンパク質は、その抗癌サイトカイン様作用により、特定の末梢血免疫細胞を樹状細胞様細胞に分化誘導し、抗腫瘍効果を発揮することが明らかとなっている。我々は本研究で、タンパク質としてより安定な製剤として使用できるREICタンパク質の機能領域を、17kDa REICタンパク質として分離・精製し、その癌治療における有用性を検証した。

研究成果の概要(英文)：Recently, we found that secreted REIC/Dkk-3 protein induces differentiation from monocytes to dendritic cell-like cells. Until now, the anti-cancer effects of REIC/Dkk-3 protein have been also reported. In this study, we identified and purified a 17 kDa cysteine-rich stable product of the REIC/Dkk-3 protein (17kDa REIC/Dkk-3) which shows the protein character of limited degradation. We herein demonstrated that the C17-REIC indicates anti-cancer effects in response to intraperitoneal administration and its effects on the activation of immunocompetent cells in blood.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：サイトカイン 癌 STAT 癌免疫

1. 研究開始当初の背景

REIC/Dkk-3 は新規がん抑制遺伝子であることをわれわれは提唱し、アポトーシス誘導遺伝子治療(がん細胞への遺伝子導入)の実用化を目指した応用研究を推進してきた。その研究を展開する過程において、REIC/Dkk-3 タンパクそのものが特定の末梢血免疫細胞を樹状細胞様細胞に分化させ、抗腫瘍効果を発揮するというサイトカイン様作用を有することを新たに発見した(Int J.Oncology 2009 Mar;34(3):657-63, 特許出願 2008-086516)。また、タンパク質としてより安定な製剤として使用できる REIC タンパク質の機能領域を、17 kDa REIC タンパク質として分離・精製することに成功した。これらの研究背景を踏まえて、本研究を開始した。

2. 研究の目的

本研究では、17kDa REIC/Dkk-3 タンパク質の有する新たな抗腫瘍効果発現の機序ならびにサイトカインとしての機能の詳細をあわせて解明し、前立腺癌における新規タンパク治療の開発を含めたその臨床的な意義を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

17kDa REIC/Dkk-3 タンパク質が、生体内において細胞傷害性T細胞を活性化させて抗腫瘍効果を示すことを検証した。また、その抗癌免疫活性化に関するメカニズムを解析した。

1) マウスを用いた研究

17kDa REIC/Dkk-3 タンパク質を投与した場合の担癌マウスにおける治療効果と副作用について、解析を加えた。

上記のマウスモデルにおいて、血中の各種免疫担当細胞の発現頻度を、フローサイトメトリーにより明らかにした。特に、免疫系に必須の機能を果たすTリンパ球の動態について詳細に検討を加えた。

2) ヒト培養細胞を用いた研究

ヒト由来の抗癌免疫担当細胞に対して精製 REIC/Dkk-3 タンパク質を添加することにより、どのような形態変化、また細胞分化シグナリング等の変化が起きるかを解析した。

ヒト由来の抗癌免疫担当細胞と前立腺癌由来とを共培養した場合における、精製 REIC/Dkk-3 タンパク質の抗腫瘍作用について解析を行った。

4. 研究成果

本研究では、REIC/Dkk-3 タンパク質(17kDa REIC/Dkk-3 を含む)の有する新たな抗腫瘍効果発現の機序ならびにサイトカイン様生理活性物質としての機能の詳細を解明した。すなわち、癌治療分野における新規タンパク療法として展開することを目標として、マウスを用いた基盤研究を実施し、17kDa REIC/Dkk-3 を含む REIC/Dkk-3 タンパク質の有用性を証明した。ヒト前立腺癌由来の癌細胞株と末梢血由来の単核球とを精製 REIC/Dkk-3 タンパク質存在下で共培養することにより、癌細胞増殖がどのように影響されるかを解析し、当該条件下における REIC/Dkk-3 タンパク質の抗腫瘍活性を明らかにした。併せて、癌細胞や免疫担当細胞に精製 REIC タンパク質を添加することにより、各細胞内において増殖・分化に関する Key 分子がどのような発現動態を示すのかを明らかにした。これらの研究結果により、17kDa REIC/Dkk-3 を含む REIC/Dkk-3 タンパク質は、

免疫担当細胞そのものを活性化させると同時に、当該免疫細胞から抗腫瘍効果を有する液性因子を分泌させることも明らかとなった。REIC/Dkk-3 タンパク質の有する抗腫瘍効果ならびにサイトカインとしての作用が、細胞傷害性の内因性サイトカインにより増強されている可能性が示唆された。

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 13 件)

Ad-REIC Gene Therapy: Promising Results in a Patient with Metastatic CRPC Following Chemotherapy.

Kumon H, Sasaki K, Ariyoshi Y, Sadahira T, Ebara S, Hiraki T, Kanazawa S, Yanai H, Watanabe M, Nasu Y.

Clin Med Insights Oncol.9:31-38.2015. 査読有.

DOI: 10.4137/CMO.S23252.

Genome-wide association study identified SNP on 15q24 associated with bladder cancer risk in Japanese population.

Matsuda K, Takahashi A, Middlebrooks CD, Obara W, Nasu Y, Inoue K, Tamura K, Yamasaki I, Naya Y, Tanikawa C, Cui R, Figueroa JD, Silverman DT, Rothman N, Namiki M, Tomita Y, Nishiyama H, Kohri K, Deguchi T, Nakagawa M, Yokoyama M, Miki T, Kumon H, Fujioka T, Prokunina-Olsson L, Kubo M, Nakamura Y, Shuin T.

Hum Mol Genet. 24:1177-1184. 2015. 査読有.

DOI: 10.1093/hmg/ddu512.

Significant association between the

Axin2 rs2240308 single nucleotide polymorphism and the incidence of prostate cancer.

Ma C, Liu C, Huang P, Kaku H, Chen J, Guo K, Ueki H, Sakai A, Nasu Y, Kumon H, Shimizu K, Watanabe M.

Oncol Lett. 8:789-794. 2014. 査読有

DOI: 10.3892/ol.2014.2177

Integrin antagonist augments the therapeutic effect of adenovirus-mediated REIC/Dkk-3 gene therapy for malignant glioma.

Shimazu Y, Kurozumi K, Ichikawa T, Fujii K, Onishi M, Ishida J, Oka T, Watanabe M, Nasu Y, Kumon H, Date I.

Gene Ther.22 : 146-154.2014. 査読有.

DOI:10.1038/gt.2014.100.

Dramatic increase in expression of a transgene by insertion of promoters downstream of the cargo gene.

Sakaguchi M, Watanabe M, Kinoshita R, Kaku H, Ueki H, Futami J, Murata H, Inoue Y, Li SA, Huang P, Putranto EW, Ruma IM, Nasu Y, Kumon H, Huh NH.

Mol Biotechnol.56 : 621-30.2014. 査読有.

DOI:10.1007/s12033-014-9738-0.

Potential of adenovirus-mediated REIC/Dkk-3 gene therapy for use in the treatment of pancreatic cancer.

Uchida D, Shiraha H, Kato H, Nagahara T, Iwamuro M, Kataoka J, Horiguchi S, Watanabe M, Takaki A, Nouse K, Nasu Y, Yagi T, Kumon H, Yamamoto K.

J Gastroenterol Hepatol.29 : 973-983.2014.

査読有.

DOI:10.1111/jgh.12501.

Adenovirus-mediated REIC/Dkk-3 gene therapy: Development of an autologous cancer vaccination therapy.

Watanabe M, Nasu Y, Kumon H.
Oncol Lett. 7:595-601. 2014. 査読有.
DOI: 10.3892/ol.2013.1777

Could salvage surgery after chemotherapy have clinical impact on cancer survival of patients with metastatic urothelial carcinoma?

Bekku K, Saika T, Kobayashi Y, Kioshimoto R, Kanbara T, Nasu Y, Kumon H.
Int J Clin Oncol. 18 : 110-115.2013. 査読有.
DOI: 10.1007/s10147-011-0350-z.

A novel gene expression system for detecting viable bladder cancer cells.

Ueki H, Watanabe M, Kaku H, Huang P, Li SA, Ochiai K, Hirata T, Noguchi H, Yamada H, Takei K, Nasu Y, Kashiwakura Y, Kumon H.
Int J Oncol.41:135-140.2012. 査読有.
DOI: 10.3892/ijo.2012.1417.

Laparoscopic management of complicated urachal remnants in adults.

Araki M, Saika T, Araki D, Kobayashi Y, Uehara S, Watanabe T, Yamada K, Nasu Y, Kumon H.
World J Urol. 30 : 647-650.2012.査読有.
DOI:10.1007/s00345-012-0829-x

Implications of transcriptional factor, OCT-4, in human bladder malignancy and tumor recurrence.

Huang P, Chen J, Wang L, Na Y, Kaku H, Ueki H, Sasaki K, Yamaguchi K, Zhang K, Saika T, Nasu Y, Watanabe M, Kumon H.
Med Oncol.29:829-834.2012 .査読有.

DOI: 10.1007/s12032-011-9962-4.

Preoperative positive urine cytology is a risk factor for subsequent development of bladder cancer after nephroureterectomy in patients with upper urinary tract urothelial carcinoma.

Kobayashi Y, Saika T, Miyaji Y, Saegusa M, Arata R, Akebi N, Takenaka T, Manabe D, Nasu Y, Kumon H.
World J Urol. 30:271-275. 2012 .査読有.
DOI: 10.1007/s00345-011-0731-y.

The clinical impact of pathological review on selection the treatment modality for localized prostate cancer in candidates for brachytherapy monotherapy.

Kishimoto R, Saika T, Bekku K, Nose H, Abarzua F, Kobayashi Y, Araki M, Yanai H, Nasu Y, Kumon H.
World J Urol. 30:375-378. 2012.査読有.
DOI: 10.1007/s00345-011-0738-4.

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 1 件)

名称 : R E I C 遺伝子を発現する制限増殖型
アデノウイルス

発明者 : 公文裕巳、那須保友、渡部昌実、
ユン チェオク

権利者 : 岡山大学

種類 : 特願

番号 : 特願 2014-110672

出願年月日 : 2014.5.28

国内外の別 : 国内

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

特になし

6．研究組織

(1)研究代表者

那須 保友（NASU YASUTOMO）

岡山大学・岡山大学病院・教授

研究者番号：20237572

(2)研究分担者

賀来 春紀（KAKU HARUKI）

岡山大学・岡山大学病院・講師

研究者番号：60346426

(3)連携研究者

なし