

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591870

研究課題名(和文)NF- $\kappa$ B活性化抑制の臨床応用(新規抗癌剤療法と手術侵襲の軽減)

研究課題名(英文)Clinical application of inhibition of Nuclear Factor-kappa B: oncogenic proliferation and surgical stress

研究代表者

落合 高德(Ochiai, Takanori)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20447486

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：NF- $\kappa$ Bの恒常的な活性化は炎症性疾患や癌の要因となることが知られている。NF- $\kappa$ B標的薬(IMD-0354)を用いて、(1)NF- $\kappa$ B活性化抑制によるヒト膀胱癌細胞株に対する抗腫瘍効果、(2)膀胱癌に用いられている抗癌剤(Gemcitabine)がNF- $\kappa$ B活性を増強、(3)抗癌剤によって増強したNF- $\kappa$ B活性をIMD-0354によって抑制し、抗腫瘍抑制効果が増強することを示した。手術侵襲を評価する動物実験モデルとして、ブタの下大静脈、大動脈、上腸間膜動脈、腹腔動脈を遮断、血行動態の変化を測定するモデルを作成した。NF- $\kappa$ B活性化抑制による炎症性サイトカインの抑制については実験継続中である。

研究成果の概要(英文)：Nuclear Factor-kappa B is activated by carcinogens, tumor promoters, inflammatory cytokines, and chemotherapeutic agents. We focused on anti-tumorigenesis and anti-inflammation effects by means of inhibition of NF- $\kappa$ B activity. We revealed that (1)molecular target agent (IMD-0354) suppressed constitutive NF- $\kappa$ B activity, (2)gemcitabine stimulated NF- $\kappa$ B activity, and (3)combined therapy of IMD-0354 and gemcitabine revealed enhanced anti-tumor effects. We investigated a swine model to assess the invasiveness of surgical stress. In this model, inferior vena cava, aorta, the trunks of celiac artery and superior mesenteric artery were exposed. Intraoperative hemodynamics were monitored at the stable points after clamping each vessels, respectively. Inhibition of NF- $\kappa$ B activity in this model is still ongoing.

研究分野：外科

キーワード：NF- $\kappa$ B 癌 手術 シグナル伝達

### 1. 研究開始当初の背景

肝胆膵外科領域における治療成績は、外科手術と補助化学療法を組み合わせた集学的治療によって近年向上してきている。一方、NF- $\kappa$ B は炎症、免疫に深く関与する重要な転写因子のひとつで、膵癌においても NF- $\kappa$ B の恒常的活性化が報告され、NF- $\kappa$ B 活性の抑制は炎症性反応を抑制すると同時に、肝臓や腸管の虚血再灌流においてアポトーシスを防ぐ効果も報告されている。本研究は、さらなる肝胆膵領域の癌の治療成績向上のため、転写因子 Nuclear factor- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)の活性化抑制に基づいた抗癌作用と抗炎症作用の臨床応用を主題とした。

### 2. 研究の目的

(1)われわれは既に NF- $\kappa$ B の 2 種のシグナル伝達(定型的経路と非定型的経路)のうち、定型的経路の活性制御の要となっている I $\kappa$ B キナーゼ $\beta$ (IKK  $\beta$ )に注目、RNA 干渉による発現抑制と分子標的阻害薬(IMD-0354)、という 2 種のアプローチを用いて、膵癌細胞株において腫瘍抑制効果を示すことを報告した。また、従来用いられている抗癌剤が NF- $\kappa$ B を活性化することは既に知られており、このことは従来の抗癌剤と NF- $\kappa$ B 活性化抑制の両者併用により腫瘍縮小効果が増強される可能性、当初は腫瘍縮小効果を認めた抗癌剤が無効になった時に、セカンドラインとして NF- $\kappa$ B 活性化を抑制することにより、抗癌剤の感受性を高める可能性が考えられ、われわれは膵癌、肝癌、胆管癌細胞株を用いて研究を行う。(2) 肝胆膵領域における外科手術は侵襲が大きく、また近年の化学療法の進歩に伴い、今後も手術適応の拡大が予想される。そのため、大きな手術侵襲による手術死亡を未然に防ぐため、周術期の NF- $\kappa$ B 活性抑制による手術侵襲の軽減と IKK $\beta$  を特異的に阻害する IMD-0354 と従来の NF- $\kappa$ B 活性抑制剤を用い、比較することにより、手術侵襲における NF- $\kappa$ B シグナル伝達の機序と意義をブタを用いた動物モデルにて検討する。

### 3. 研究の方法

NF- $\kappa$ B シグナル伝達を IKK  $\beta$ の阻害薬である IMD-0354 にて抑制することにより、(1)抗癌剤としての臨床応用と、(2)血行再建手術における低侵襲化、をめざし、その基盤的知見を得ることを目的とした。

### 4. 研究成果

(1) IMD-0354、Gemcitabine、両剤併用において、ヒト膵癌細胞株における腫瘍抑制効果を各々検討した。セルカウントにおいては、IMD-0354、Gemcitabine、両剤併用群のいずれにおいても、濃度、時間依存性に細胞増殖抑制効果を認め、併用群において抑制効果が増強された。レポーターアッセイでは IMD-0354 では NF- $\kappa$ B 活性依存的転写活性が抑制されたのに対し、Gemcitabine では NF- $\kappa$ B

活性が増強された(図1)。定量 PCR では、ICAM-1、survivin において、IMD-0354 では減少するのに対して、Gemcitabine では増加した。免疫不全マウスを用いた皮下移植モデルにおける腫瘍増殖抑制効果は、セルカウント同様に、IMD-0354、Gemcitabine、両剤併用群のいずれにおいても細胞増殖抑制効果を認めたが、併用群において抑制効果が増強された。以上の結果より、IMD-0354 は NF- $\kappa$ B 活性化を抑制、Gemcitabine は NF- $\kappa$ B を活性化、IMD-0354 はカスパーゼの活性化を阻害しアポトーシスを抑制する survivin を抑制、また癌の転移とかかわっている接着分子 ICAM-1 を抑制、Gemcitabine は survivin と ICAM-1 を活性化することが明らかになり、NF- $\kappa$ B 活性化抑制が膵癌細胞株における腫瘍増殖を増強することが示された。

Gemcitabineにより活性化した  
NF- $\kappa$ B活性のIMD-0354による抑制

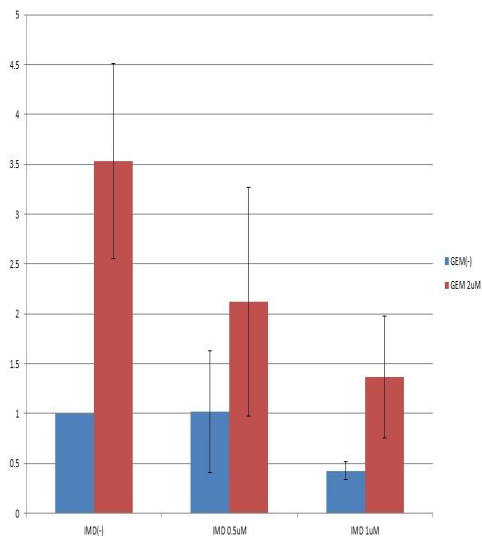
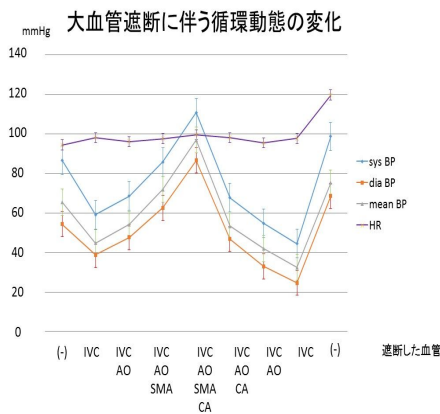


図 1

(2)肝胆膵外科手術の中でも最も侵襲が大きい手術の一つである、下大静脈合併切除を念頭においた、術中循環動態の変化を計測する動物実験モデルをブタを用いて作成した。ブタを全身麻酔下にて開腹後、下大静脈、大動脈、上腸間膜動脈、腹腔動脈を順次遮断し、上肢における観血的循環動態の変化を測定し、侵襲を測定した。ヒトとブタの解剖学的差異は考慮しなければならないものの、下大静脈遮断時の血圧低下、頻脈に対しては、大動脈 + 上腸間膜動脈遮断が有効であった(図 2)。



(図2)

< 引用文献 >

Ochiai T, Saito Y, Saitoh T, Dewan MZ, Shioya A, Kobayashi M, Kawachi H, Muto S, Itai A, Uota S, Eishi Y, Yamamoto N, Tanaka S, Arii S, Yamaoka S. Inhibition of I kappa B kinase beta restrains oncogenic proliferation of pancreatic cancer cells. Journal of Medical and Dental Sciences, 55, 2008, 49-59.

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 3件)

Takanori Ochiai, Ayumi Shioya, Hiromi Honma, Yasunori Saito, Satoshi Matsumura, Daisuke Ban, Takumi Irie, Atsuhiko Kudo, Noriaki Nakamura, Tomoyuki Fujikawa, Akiko Itai, Shinji Tanaka, Shigeki Arii, Shoji Yamaoka, and Minoru Tanabe.

Combination Treatment of IκB Kinase β Inhibitor IMD-0354 and Gemcitabine Suppresses Oncogenic Proliferation of Pancreatic Cancer Cells.

9<sup>th</sup> Annual Academic Surgical Congress, Feb 4<sup>th</sup> 2014, San Diego, USA

<https://sous.memberclicks.net/assets/asc14finalprogramweb.pdf>

落合高徳、松村聡、伴大輔、入江工、工藤篤、中村典明、工藤敏文、地引政利、井上芳徳、田中真二

下大静脈遮断下手術における大動脈遮断併用の限界と上腸間膜動脈遮断の有効性  
第25回日本肝胆膵外科学会・学術集会  
2013年6月14日 宇都宮市(栃木)

<http://www.c-linkage.co.jp/jhbps25/pdf/program19.pdf>

落合高徳、塩谷歩美、本間宏美、齋藤愛記、武藤進、松村聡、伴大輔、入江工、

工藤篤、中村典明、板井昭子、山岡昇司、田中真二

Gemcitabine と IκB kinase β抑制による膵癌増殖抑制効果

第113回日本外科学会定期学術集会  
2013年4月12日 福岡市(福岡)

[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:  
出願年月日:  
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

落合 高徳 (OCHIAI, Takanori)  
東京医科歯科大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号: 20447486

(2) 研究分担者

井上 芳徳 (INOUE, Yoshinori)  
東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究科・講師  
研究者番号: 70280964

(3) 研究分担者

齋藤 愛記 (SAITO, Yasunori)  
東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究科・助教  
研究者番号: 00516312

(4) 研究分担者

山岡 昇司 (YAMAOKA, Shoji)  
東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究科・教授  
研究者番号: 50197513

(5) 研究分担者

田中 真二 (TANAKA, Shinji)  
東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究  
科・教授  
研究者番号：30253420

(6) 研究分担者

田邊 稔 (TANABE, Minoru)  
東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究  
科・教授  
研究者番号：50197513