

平成 29 年 5 月 16 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462146

研究課題名(和文) TrkB/BDNF経路を標的とした浸潤性胸腺腫・胸腺癌に対する治療法開発

研究課題名(英文) Development of therapeutic strategy against invasive thymoma and thymic cancer targeting TrkB/BDNF signaling

研究代表者

中村 勝也 (NAKAMURA, KATSUYA)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：60585743

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：手術切除標本を用いたTrkBの発現解析では、胸腺腫では48例中わずか1例のみが陽性であったのに対し、胸腺癌では5例すべてで陽性であった。本結果によりTrkBが胸腺癌の診断マーカーになることが示唆された。また、胸腺癌細胞株Ty-82を用いた実験では、TrkB/BDNFシグナル経路は、増殖、腫瘍形成に関与することが示唆された。したがって、TrkB/BDNFシグナル経路は、胸腺癌の新しい治療標的となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In the analysis of TrkB expression using surgically resected specimen, only 1 case out of 48 cases was positive for TrkB in benign thymoma. However, all 5 cases were positive for TrkB in thymic cancer. It suggests that TrkB expression could be a diagnostic marker for thymic cancer. In the experiment using thymic cancer cell line, Ty-82, TrkB/BDNF signaling pathway contributed to proliferation and tumorigenesis. Therefore, TrkB/BDNF signaling pathway could be a new therapeutic target for thymic cancer.

研究分野：臨床腫瘍学

キーワード：胸腺癌 TrkB BDNF 増殖能 浸潤能 治療標的

1. 研究開始当初の背景

胸腺腫は胸腺上皮細胞から発生する腫瘍細胞が、さまざまな比率で非腫瘍性のリンパ球を混じえる縦隔腫瘍であり、重症筋無力症 (Myasthenia Gravis : MG) 等の特有な合併症を示すことがあり、大変興味深い疾患である。縦隔腫瘍の中では最も頻度の高い疾患ではあるが、2010年のわが国での胸腺腫手術症例数は1,826例(日本胸部外科学会報告)であり、あたかも良性腫瘍のごとく認識されることもあるが、進行症例では致死的になる悪性腫瘍である。胸腺癌は同じく胸腺上皮細胞から発生する悪性腫瘍であり、その名の如く明らかな細胞異型を伴う癌である。そのため胸腺上皮細胞の機能は消失し、未熟リンパ球の増殖もなく、MG等の自己免疫疾患を合併することはない。多くは扁平上皮癌と神経内分泌癌からなるが、2004年のWHO分類改訂後、明らかに予後の異なるカルチノイドも胸腺癌に含まれるように定義された。浸潤性胸腺腫・胸腺癌は、外科的切除が基本であるが、切除不能他臓器浸潤例に対する標準的治療法が未だ確立されていない。さらに、浸潤性胸腺腫・胸腺癌の進行例においては高率に再発が認められる。すなわち、浸潤性胸腺腫・胸腺癌の進行症例の予後改善のためには、悪性度の高い浸潤性胸腺腫・胸腺癌の早期診断法および新たな治療標的分子の探索が急務である。

2. 研究の目的

我々は、これまで、TrkB/BDNF経路の生物学的意義を解析してきた。その中で、癌の治療標的となる可能性を得た。したがって、本研究の目的は、TrkB/BDNF経路(神経栄養因子ファミリーに属するチロシンキナーゼレセプター経路)の悪性度の高い浸潤性胸腺腫・胸腺癌に対する1)診断補助因子、2)予後予測因子、および3)治療標的分子となり得るかを検証することである。

3. 研究の方法

(1)手術時摘出浸潤性胸腺腫・胸腺癌組織を用い、TrkB発現を解析し、組織型毎の発現プロファイルを作成する。浸潤性胸腺腫・胸腺癌に対し、TrkB発現様式(細胞膜型、細胞質型、核型)分類の可能性を検討する。発現解析は、免疫組織染色に加えRT-PCR、およびWestern blot法を組み合わせ、TrkB発現プロファイルを作成する。

(2)TrkB陽性浸潤性胸腺腫・胸腺癌細胞株を標的細胞とし、TrkB/BDNF経路を抑制(TrkB阻害剤:K252a、あるいはsiRNAによるTrkBおよびBDNF発現を抑制)が、細胞増殖、細胞浸潤(Matrigel invasion assay)薬剤抵抗性に及ぼす影響を解析する。

(3)免疫不全マウスに浸潤性胸腺腫・胸腺癌細胞を移植する系を用いて、TrkB/BDNF

経路の腫瘍形成、腫瘍増殖(In vivo)に及ぼす影響、およびシグナル阻害剤、siRNAによる抗腫瘍効果を確かめる。

4. 研究成果

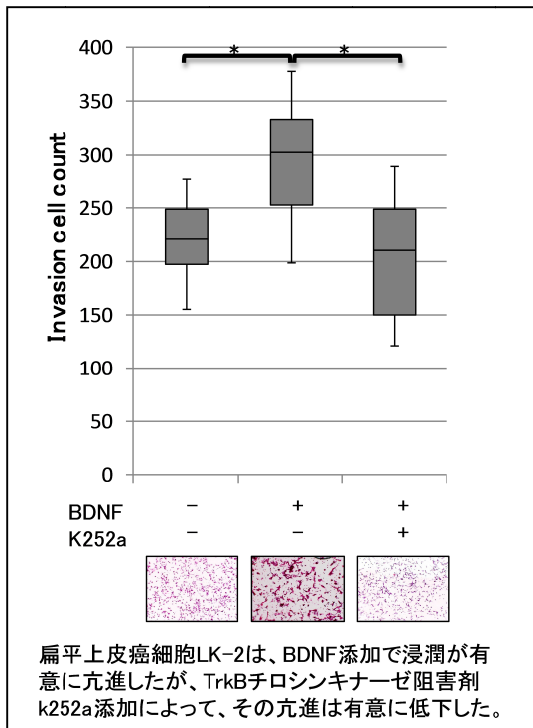
(1)胸腺腫48例、胸腺癌5例のTrkBの免疫染色を行い、profileを作成した。両群で年齢、性別には差は認めなかった。染色陽性例での検討では、胸腺腫ではTrkB発現は48例中1例のみであったのに対し、胸腺癌では5例中5例全例にTrkB発現が認められた。胸腺癌は比較的まれな疾患であり、病理診断に難渋することも少なくない。本結果は、TrkBが胸腺癌の診断マーカーになる可能性を示唆している(論文作成中)。

(2)胸腺癌細胞株Ty-82を標的細胞として、TrkB/BDNF signalが増殖に關与するかを検証した。TrkB siRNA、BDNF siRNAでTrkB/BDNF経路を抑制すると、増殖が有意に低下した。また、遺伝子組み換え型BDNFを添加すると、増殖能は有意に亢進した。この亢進は、TrkBチロシンキナーゼ阻害剤k252a添加によって、有意に抑制された。一方、TrkB siRNAで受容体を抑制した状態でBDNFを添加しても、増殖の亢進は認められなかった。これら結果は、TrkB/BDNF経路が胸腺癌の増殖に關与しており、TrkB/BDNF経路が胸腺癌の治療標的となり得ることを示唆している(論文作成中)。

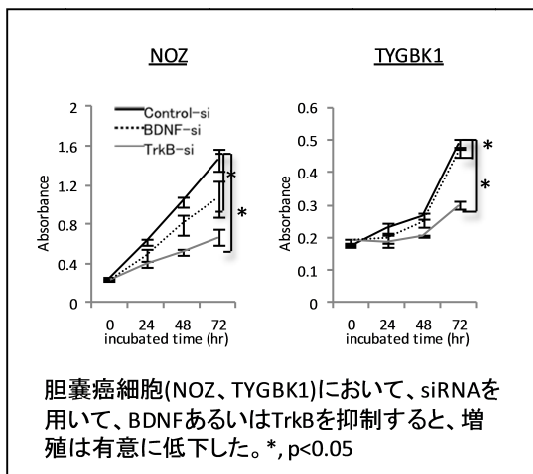
(3)Ty-82を標的細胞として、TrkB/BDNF signalが浸潤に關与するかを検証した。しかし、Ty-82の浸潤能は弱く、再現実験を行ったにもかかわらず、いまだ確証が持てる結果が得られていない。これについては、現在も引き続き、検証を行っている(論文作成中)。

(4)免疫不全マウス皮下にTy82細胞(TrkB siRNA、BDNF siRNAあるいはcontrol siRNAを導入したもの)を異種移植した実験では、TrkB siRNA、BDNF siRNAを導入したTy-82において、腫瘍形成が有意に低かった(論文作成中)。

(5)肺扁平上皮癌におけるTrkB/BDNF経路の生物学的意義を解析する研究において、TrkB/BDNF経路が肺扁平上皮癌の増殖、浸潤に關与しており、新規治療標的となるという結果が、本研究の副次的な結果として得られた(業績1)。図は、BDNFおよびTrkBチロシンキナーゼ添加に伴う扁平上皮癌細胞の浸潤能の変化を示す。



(6)胆嚢癌における TrkB/BDNF 経路の生物学的意義を解析する研究において、TrkB/BDNF 経路が胆嚢癌の増殖、浸潤、腫瘍形成に関与しており、新規治療標的となるという結果が、本研究の副次的な結果として得られた(業績2)。下図は、siRNA で TrkB あるいは BDNF を抑制したときの細胞増殖を解析した結果である。



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 5 件)

Ozono K, Ohishi Y, Onishi H, Nakamura K, Motoshita J, Kato M, Nakanishi R, Nakamura M, Oda Y, Brain-derived neurotrophic factor / tropomyosin-related kinase B signaling pathway contributes to the

aggressive behavior of lung squamous cell carcinoma. Lab Invest 査読有, In press

Kawamoto M, Onishi H, Ozono K, Yamasaki A, Imaizumi A, Kamakura S, Nakano K, Oda Y, Sumimoto H, Nakamura M, Tropomyosin-related kinase B mediated signaling contributes to the induction of malignant phenotype of gallbladder cancer. Oncotarget 査読有, In press DOI: 10.18632/oncotarget.16063.

Nakamura K, Miyoshi K, Onishi H, Future view of safe, painless and curative video assisted thoracoscopic surgery for lung cancer. Video-assist Thorac Surg 査読有, August 16, 2016 <http://vats.amegroups.com/article/view/3562>

Kato M, Onishi H, Furugaki K, Yunotani S, Matsumoto K, Tsuruta N, Nakamura K, Katano M, New approach to complete video-assisted thoracoscopic lobectomy in T2 and T3 non-small cell lung cancer. Anticancer Res 査読有, 35(6), 2015, 3585-3589. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26026131>

Kato M, Onishi H, Matsumoto K, Motoshita J, Tsuruta N, Higuchi K, Katano M, Prognostic Significance of Urine N^1, N^{12} -Diacetylspermine in Patients with Non-small Cell Lung Cancer. Anticancer Res 査読有, 34(6), 2014, 3053-3060. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24922672>

[学会発表](計 10 件)

尾立 西市、大西 秀哉、中村 勝也、内山 明彦、加藤 雅人、中村 雅史. 肺大細胞神経内分泌細胞癌における TrkB/BDNF シグナル経路の生物学的意義の解析、2017年4月28日、第117回日本外科学会定期学術集会、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

川元 真、大西 秀哉、大山 康博、大園 慶吾、山崎 章生、中村 雅史. 脳由来神経栄養因子 BDNF / 神経栄養因子受容体 TrkB シグナル経路は胆嚢癌の悪性化に関与し新規治療標的となり得る(第2報)、2017年4月28日、第117回日本外科学会定期学術集会、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

大山 康博、大西 秀哉、藤村 晶子、川元 真、山崎 章生、中村 雅史. 神経栄養因子受容体 TrkB/脳由来神経栄養因子 BDNF シグナル経路は膵癌の新規治療標的となる、2017年4月29日、第117回日本外科学会定期学術集会、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

大山 康博、大西 秀哉、今泉 晃、山崎 章生、川元 真、藤村 晶子. 神経栄養因子受容体 TrkB/脳由来神経栄養因子 BDNF シグナル経路の膵臓癌における生物学的意義の解析、2016年12月1日、第29回日本バイオセラピー学会学術集会総会、久留米シティプラザ(福岡県・久留米市)

川元 真、大西 秀哉、大山 康博、藤村 晶子、山崎 章生、今泉 晃、中村 雅史. 神経栄養因子受容体 TrkB/脳由来神経栄養因子 BDNF シグナル経路の胆嚢癌における生物学的意義の解析、2016年12月1日、第29回日本バイオセラピー学会学術集会総会、久留米シティプラザ(福岡県・久留米市)

M. Kawamoto, H. Onishi, K. Ozono, A. Yamasaki, A. Imaizumi, M. Nakamura, TrkB/BDNF signaling promotes EMT mediated invasiveness and is a potential therapeutic target for gallbladder cancer. 2016年10月7日、ESMO2016, Copenhagen, Denmark

川元 真、大西 秀哉、大園 慶吾、山崎 章生、中村 雅史. 神経栄養因子受容体 TrkB/脳由来神経栄養因子 BDNF シグナル経路は胆嚢癌の新規治療標的となり得る、2016年4月14日、第116回日本外科学会定期学術集会、大阪国際会議場(大阪府・大阪市)

大西 秀哉、尾立 西市、川元 真、山崎 章生、中村 勝也、中村 雅史. TrkB/BDNF シグナル経路阻害剤 k252a は肺大細胞神経内分泌細胞癌の新規分子標的治療薬となり得る、2016年4月14日、第116回日本外科学会定期学術集会、大阪国際会議場(大阪府・大阪市)

川元 真、大西 秀哉、大園 慶吾、山崎 章生、今泉 晃、中村 雅史. 神経栄養因子受容体 TrkB/脳由来神経栄養因子 BDNF シグナル経路の胆嚢癌における生物学的意義の解析、2015年12月3日、第28回日本バイオセラピー学会学術集会総会、川越東武ホテル(埼玉県・川越市)

中村 勝也、松下 章次郎、清水 周次、田中 雅夫. 当科における胸腺腫に対する鏡

視下胸腺摘出術の検討、2015年4月16日、第115回日本外科学会定期学術集会、名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

〔その他〕

ホームページ等
九州大学大学院医学研究院 先端医療医学部門 腫瘍制御学分野
<http://www.tumor.med.kyushu-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 勝也 (NAKAMURA, Katsuya)
九州大学・医学研究院・共同研究員
研究者番号：60585743

(2) 研究分担者

片野 光男 (KATANO, Mitsuo)
福岡女学院看護大学・看護学部・教授
研究者番号：10145203
(平成27年4月1日より削除)

大西 秀哉 (ONISHI, Hideya)
九州大学・大学院医学研究院・准教授
研究者番号：30553276

中野 賢二 (NAKANO, Kenji)
九州大学・先端融合医療レドックスナビ
研究拠点・教授
研究者番号：00315061

小田 義直 (ODA, Yoshinao)
九州大学・医学研究院・教授
研究者番号：70291515