

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 3月31日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21390441

研究課題名（和文） 樹状様細胞誘導能を示す新規抗腫瘍タンパクの基盤的展開研究

研究課題名（英文） Basic and developmental research of a novel anti-tumor protein with dendritic cell-inducible activity.

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

研究成果の概要（和文）：

REIC/Dkk-3 遺伝子は腫瘍抑制遺伝子であり、幅広い癌種においてその発現が低下をしている。本研究では、REIC 遺伝子発現に伴い生成・分泌される新規サイトカイン様タンパク質 REIC の抗癌免疫学的な作用機序とその臨床的観点からの有用性を明らかにしたものである。今後、本研究での成果が、前立腺癌を含む癌疾患に対する革新的癌標的・免疫医療の創造につながっていくことが期待される。

研究成果の概要（英文）：

The REIC/Dkk-3 gene has been reported to be a tumor suppressor and the expression is significantly downregulated in a broad range of cancer cell types. In this study, we focused the REIC protein and clarified the immunological anti-cancer function and the possible utility for the clinical use. We believe that current findings are available to create innovative cancer-targeting and immunological therapy for the cancer diseases including prostate cancer.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
2010年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
2011年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
総計	11,000,000	3,300,000	14,300,000

研究分野： 泌尿器科学、腫瘍治療学

科研費の分科・細目： 外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード： REIC/Dkk-3、前立腺癌、腎細胞癌、抗癌免疫、樹状細胞

1. 研究開始当初の背景

癌抑制・治療遺伝子であるREIC (Reduced Expression in Immortalized Cells) は、不死化細胞を用いた研究から岡山大学で独自に単離・同定された遺伝子で、正常細胞で活発に発現し、前立腺癌も含めた癌細胞ではその発現が著しく抑制されている遺伝子である。一般に癌治療では、(1) 癌細胞選択的な細胞死誘導、(2) 抗癌免疫の活性化の2つが治療の鍵であることは世界のコンセンサスといえる。REIC遺伝子は、この2つの機能を併せ持ち、しかも、多種類の癌に適用可能であり、21世紀の夢の癌治療遺伝子と呼ぶにふさわしい機能を持つことが既に証明をされている。また、我々はこれまでの研究により、REIC/Dkk-3タンパク質が、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していることを証明していた。

2. 研究の目的

本研究では、REIC/Dkk-3タンパク質の有するこの新たな抗腫瘍効果発現における作用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、新規のタンパク質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て研究を行った。

3. 研究の方法

REICタンパク質投与の臨床的意義をより明らかにするために、その安全性と治療効果の評価を行った。具体的には、臨床応用を意識した種々の動物実験を実施した。以下に、その概要を示した。

- (1) 安全性の評価: 臨床研究導入のための安全性 (毒性) 試験として実施した。
- (2) 治療効果の評価: 治療効果の確認と治療

効果発現の科学的根拠となる変化を解析した。

- (3) REICタンパク質の大量生産系の確立: 293細胞を用いたREICタンパク質の生産系の確立に関する研究を実施した。

4. 研究成果

- (1) 安全性の評価として、臨床研究導入のための安全性 (毒性) 試験を実施した。REICタンパク質の全身 (腹腔内) 投与時における安全性を解析・評価を行った。具体的には、生存、栄養状態等に関する評価を行い、対照群と比較しその安全性を確認した。今後、大動物 (犬もしくはサル) への実験移行のための基盤データとする予定である。

- (2) REICタンパク質による治療効果の確認と、治療効果発現の科学的根拠となる変化について解析した。結果として、担癌マウスモデルにおいて、REICタンパク質の全身投与時の抗腫瘍効果を確認した。また、フローサイトメトリー、免疫組織化学染色等による解析を実施し、末梢血における各種免疫担当細胞の動態を解析した。その結果、REICタンパク質投与後のマウスの末梢血において、一部の抗癌免疫担当細胞の出現頻度の上昇が認められた。

- (3) REICタンパク質の大量生産系の確立: 治療を実施するためには有効なタンパク質生産系を確立する必要がある、従来我々が有するCHO細胞による生産系以外に複数の生産系について解析を行った。その中で、293細胞を用いたREICタンパク質の生産系を確立に成功した。

本研究は、REIC 遺伝子発現に伴い生成・分泌される新規サイトカイン様タンパク質 REIC の抗癌免疫学的な作用機序とその臨床的観点からの有用性を明らかにしたものである。今後、本研究での成果が、膀胱癌を含む難治固形癌に対する革新的癌標的・免疫医療の創造

につながっていくことが期待される。

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25件)

① Preclinical Safety and Efficacy of in Situ REIC/Dkk-3 Gene Therapy for Prostate Cancer.

Kawauchi K, Watanabe M, Kaku H, Huang P, Sasaki K, Sakaguchi M, Ochiai K, Huh NH, Nasu Y, Kumon H. Acta Med Okayama. (査読有). 2012 Feb;66(1):7-16.

② 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. (査読有). 2012 Jan 31. [Epub ahead of print]

③ 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. (査読有). 2011 Nov 18. [Epub ahead of print]

④ Partial sensitization of human bladder cancer cells to a gene-therapeutic adenovirus carrying REIC/Dkk-3 by downregulation of BRPK/PINK1.

Jin Y, Murata H, Sakaguchi M, Kataoka K, Watanabe M, Nasu Y, Kumon H, Huh NH. Oncol Rep. (査読有). 2012 Mar;27(3):695-9. doi: 10.3892/or.2011.1543. Epub 2011 Nov 10.

⑤ Single nucleotide polymorphism WRN Leu1074Phe is associated with prostate cancer susceptibility in Chinese subjects.

Wang L, Kaku H, Huang P, Xu K, Yang K, Zhang J, Li M, Xie L, Wang X, Sakai A, Watanabe M, Nasu Y, Shimizu K, Kumon H, Na Y. Acta Med Okayama. (査読有). 2011 Oct;65(5):315-23.

⑥ T2*-weighted image/T2-weighted image fusion in postimplant dosimetry of prostate brachytherapy.

Katayama N, Takemoto M, Yoshio K, Katsui K, Uesugi T, Nasu Y, Matsushita T, Kaji M, Kumon H, Kanazawa S. J Radiat Res (Tokyo). (査読有). 2011;52(5):680-4. Epub 2011 Aug 20.

⑦ Tumor suppressor REIC/Dkk-3 interacts with the dynein light chain, Tctex-1.

Ochiai K, Watanabe M, Ueki H, Huang P, Fujii Y, Nasu Y, Noguchi H, Hirata T, Sakaguchi M, Huh NH, Kashiwakura Y, Kaku H, Kumon H. Biochem Biophys Res Commun. (査読有). 2011 Aug 26;412(2):391-5. Epub 2011 Aug 3.

⑧ 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. (査読有). 2011 Jul 30. [Epub ahead of print]

⑨ Advanced two-step transcriptional amplification as a novel method for cancer-specific gene expression and imaging.

Watanabe M, Ueki H, Ochiai K, Huang P, Kobayashi Y, Nasu Y, Sasaki K, Kaku H, Kashiwakura Y, Kumon H. Oncol Rep. (査読有). 2011 Oct;26(4):769-75. doi: 10.3892/or.2011.1371. Epub 2011 Jul 1.

⑩ 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. (査読有) .2011 May 1. [Epub ahead of print]

⑪ Expression pattern of REIC/Dkk-3 in various cell types and the implications of the soluble form in prostatic acinar development.

Zhang K, Watanabe M, Kashiwakura Y, Li SA, Edamura K, Huang P, Yamaguchi K, Nasu Y, Kobayashi Y, Sakaguchi M, Ochiai K, Yamada H, Takei K, Ueki H, Huh NH, Li M, Kaku H, Na Y, Kumon H. Int J Oncol. (査読有) . 2010 Dec;37(6):1495-501.

⑫ Hepatocyte growth factor activator inhibitors (HAI-1 and HAI-2) are potential targets in uterine leiomyosarcoma.

Nakamura K, Abarzua F, Hongo A, Kodama J, Nasu Y, Kumon H, Hiramatsu Y. Int J Oncol. (査読有) . 2010 Sep;37(3):605-14.

⑬ Potent antitumor effects of combined therapy with a telomerase-specific, replication-competent adenovirus (OBP-301) and IL-2 in a mouse model of renal cell carcinoma.

Huang P, Kaku H, Chen J, Kashiwakura Y, Saika T, Nasu Y, Urata Y, Fujiwara T, Watanabe M, Kumon H. Cancer Gene Ther. (査読有) . 2010 Jul;17(7):484-91. Epub 2010 Feb 19.

⑭ A randomized phase II trial of personalized peptide vaccine plus low dose estramustine phosphate (EMP) versus standard dose EMP in patients with castration resistant prostate cancer.

Noguchi M, Kakuma T, Uemura H, Nasu Y, Kumon H, Hirao Y, Moriya F, Suekane S, Matsuoka K, Komatsu N, Shichijo S, Yamada A, Itoh K. Cancer Immunol Immunother. (査

読有) . 2010 Jul;59(7):1001-9. Epub 2010 Feb 10

⑮ Down-regulation of BiP/GRP78 sensitizes resistant prostate cancer cells to gene-therapeutic overexpression of REIC/Dkk-3.

Tanimoto R, Sakaguchi M, Abarzua F, Kataoka K, Kurose K, Murata H, Nasu Y, Kumon H, Huh NH. Int J Cancer. (査読有) . 2010 Apr 1;126(7):1562-9.

[図書] (計2件)

① REIC/Dkk-3 gene therapy.

Watanabe M, Kaku H, Huang P, Kumon H, Nasu Y. Nihon Rinsho. (査読無) 2011 Jun; 69 Suppl 5:559-63.

② Suicide gene and immuno gene therapy for prostate cancer.

Nasu Y, Sasaki K, Kumon H, Kaku H, Watanabe M. Nihon Rinsho. (査読無) 2011 Jun;69 Suppl 5:554-8.

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

公文 裕巳 (KUMON HIROMI)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：30144760

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