

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K07332

研究課題名（和文）IL-13R 2陽性進行膵臓癌に対するポリフェノール群の治療効果

研究課題名（英文）An Efficacy of polyphenols for IL13Ra2-positive advanced pancreatic cancer

研究代表者

藤澤 聡郎（FUJISAWA, Toshio）

順天堂大学・医学部・先任准教授

研究者番号：50627346

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：IL-13Ra2の発現をEUS-FNAにて評価できないかを検討した。手術検体との一致率は90%以上でありEUS-FNAでもIL-13Ra2の評価は可能であった。新規膵癌患者132症例をEUS-FNA検体を用いてIL-13Ra2低vs高発現群で比較をすると、低発現群で有意に全生存期間が短くなっていた。さらにIL-13Ra2がgemcitabineの効果を減弱しており、代謝経路や腫瘍血管の増生に関与していることが分かった。また動物実験にて緑茶ポリフェノールを含むsmall moleculesを用いてIL-13Ra2の発現を抑制すると、IL-13Ra2陽性膵癌の予後を改善することが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前回の科研費を用いた研究で、IL-13Ra2が膵癌の進展を促進し予後を悪化させることを見出したが、今回の研究ではIL-13Ra2が予後を悪化させるメカニズムを詳細に検討した。更に膵癌診断時に用いるEUS-FNA検体を用いてIL-13Ra2の発現が評価できることが分かったため、予後や化学療法の効果判定のバイオマーカーや治療のターゲットとして活用しうる。今後はIL-13Ra2による治療法の選択やIL-13Ra2を抑制することによる化学療法の効果改善を評価していく予定である。膵癌は未だ最難治癌であり、IL-13Ra2の治療応用が膵癌の予後の改善に貢献すると確信している。

研究成果の概要（英文）：Since only about 20% of patients with pancreatic cancer can undergo surgery, we investigated whether the expression of IL-13Ra2 could be evaluated using biopsy specimens obtained by EUS-FNA when pancreatic cancer is diagnosed. In more than 90% of cases, the expression was consistent when compared with surgical specimens, and the expression of IL-13Ra2 was also evaluable in EUS-FNA. When EUS-FNA samples were used to compare the low and high expression groups of IL-13Ra2 in 132 new pancreatic cancer patients, progression-free survival and overall survival were significantly shorter in the low expression group. Furthermore, we found that IL-13Ra2 attenuated the effect of gemcitabine and was involved in the metabolic pathway of gemcitabine and the growth of tumor blood vessels. In addition, animal studies have shown that small molecules containing green tea polyphenols can be used to suppress the expression of IL-13Ra2 and improve the prognosis of IL-13Ra2-positive pancreatic cancer.

研究分野：膵癌治療

キーワード：IL-13Ra2 膵癌 EUS-FNA 緑茶ポリフェノール 浸潤・転移 予後 抗癌剤効果予測 バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

膵臓癌は最も予後が悪い癌の1つであり、その理由として早期より浸潤・転移を認めるといった特徴が挙げられる。申請者らは IL-13R 2 に注目し、この癌特異抗原が膵臓癌の浸潤・転移を助長していることを突き止めた。膵臓癌マウスモデルにおいて IL-13R 2 の過剰発現が転移を促進することにより予後を短縮することを見出し、膵臓癌手術検体で IL-13R 2 高発現群で有意に予後が短縮していた。その機序として MAP kinase を介した matrix metalloproteinase の増加が転移を促進する結果が得られている。更に膵臓癌における IL-13R 2 の発現機構を調べた結果、promoter lesion における Histone acetylation が最も重要な役割をしていた。前回までの科研費を用いた研究により IL-13R 2 陰性細胞への Histone deacetylase 阻害剤の投与で IL-13R 2 の発現が上昇し、IL-13R 2 をターゲットとする immunotoxin への感受性も向上した。逆に、Histone acetyltransferase 阻害剤にて IL-13R 2 の発現が抑制されることが分かった。これまでの結果を受けて今回 Histone acetyltransferase 阻害剤を用いて IL-13R 2 の発現を抑制することにより膵臓癌の浸潤転移を抑制し、膵臓癌の予後を改善できるかという発想に至った。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は前回の科研費を用いた研究で IL-13R 2 の抑制効果が明らかとなった Histone acetyltransferase 阻害剤を用いて膵臓癌の浸潤転移を抑制し得るかを検討することである。用いる薬剤として Histone acetyltransferase 阻害活性を持つポリフェノール群、特に Epigallocatechin gallate、resveratrol、curcumin が膵臓癌細胞株において IL-13R 2 の発現を抑制することが確かめられており、本研究にてモデルマウスにおける投与経路と至適投与量を検討し、生命予後を改善するかを検討する。更に臨床において治療開始前に膵臓癌の IL-13R 2 の発現を確認し、IL-13R 2 陽性膵臓癌に対する Histone acetyltransferase 阻害活性を持つポリフェノール群の効果を検討する。

## 3. 研究の方法

### (1). 膵臓癌モデルマウスにおける至適投与量の検討と副作用の観察

動物モデルでの転移、予後の検討：ヌードマウスの膵臓に上記ヒト膵臓癌細胞を移植し異種同所移植モデルマウスを作製する。薬剤の投与濃度は pilot study から推定し、濃度により 5 群 (EGCG では 0, 5, 10, 25, 50mg) に群別する。マウスに薬剤を投与し一定期間観察した後、副作用の有無、転移の状態を検討する。マウスの生命予後も Kaplan-Meier 法にて検討する。副作用の検討では、マウスの行動、体重、食事、水分摂取量の変化を詳細に観察し、適宜採血により肝機能、腎機能等をモニターする。

腫瘍における IL13R 2 発現の変化：薬剤を投与後、マウスより腫瘍を取り出し IL-13R 2 の発現低下を RNA、蛋白レベルで確認する。同時に腫瘍における histone のアセチル化なども測定し、機序に関しても *in vitro* と同じく検討する。

### (2). ポリフェノールによる手術不能 IL-13R 2 陽性膵臓癌患者の生命予後の検討

対象患者の組み入れ：順天堂大学附属病院群を受診した手術不能進行膵臓癌患者を対象とする。超音波内視鏡下穿刺吸引術 (EUS-FNA) で得られた膵臓癌組織に免疫染色を行い IL-13R 2 の発現の有無を確認する。IL-13R 2 が陽性である膵臓癌のみを研究に組み込む。プラセボと合

わせ計 40 人の組み入れを考えている。

ポリフェノールの投与：投与群は連日、カプセル化されたポリフェノールを服用し、プラセボ群は同量の乳糖を服用していただく。投与する医師にも判別がつかないように Double blind で治療を行う。通常の膵臓癌の治療は、個々の症例に合わせてポリフェノール投与と並行して主治医の判断で行う。

研究結果の解析：全症例で治療が終了した後、研究代表者がデータの解析を行う。研究の期間としては対象患者の組み入れと治療で計 2 年間の研究期間を想定している。本研究の結果は学会、論文等で報告し特許の出願、臨床への実用化を目指す。

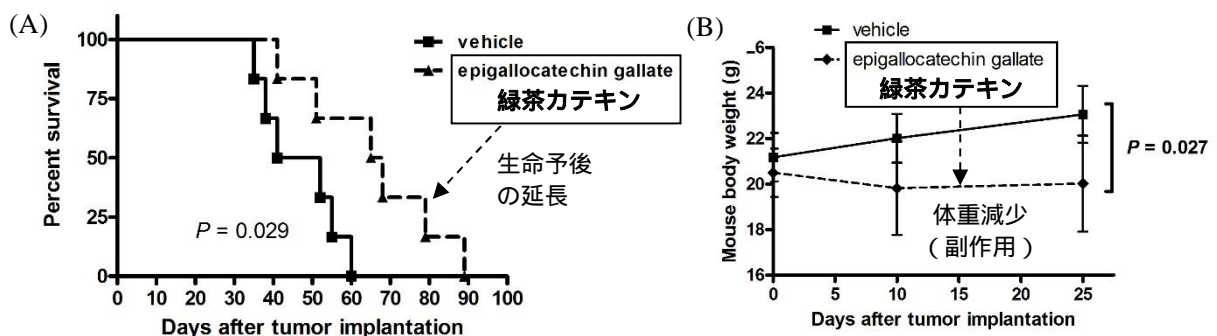
#### 4. 研究成果

##### (1). 膵臓癌モデルマウスにおけるポリフェノール群による生命予後の延長効果

今まで臨床応用されていない新規薬剤ではヒトに対する安全性が確保できておらず、臨床適応に関して、多くの基礎実験、安全性試験が必要であり、実用化までの時間が長くかかってしまう。そのため既に臨床薬として使用されている薬剤、もしくは食品として投与可能なものを IL13R $\alpha$ 2 をターゲットとする薬剤として研究を行なった。ウコンの主成分である curcumin は Histone acetyltransferase inhibitor として IL13R $\alpha$ 2 の発現を抑制する可能性があるだけでなく、ポリフェノール類の一種として抗酸化作用を持つ。同様に食品に含まれるポリフェノール類として、緑茶の Epigallocatechin gallate (EGCG) や赤ワインの resveratrol などがあげられ、これらの薬剤を候補薬として実験を行なった。結果 EGCG がもっとも強く膵臓癌細胞中の IL13R $\alpha$ 2 の発現を最も抑制したため、EGCG を中心に膵臓癌に対する抗腫瘍効果を検討した。

*in vitro*での検討ではEGCG投与によりmarigelに対するinvasionが減少した。

*In vivo*の検討では、膵臓癌モデルマウスに対してEGCGを連日経口投与することにより、宿主の生存期間を延長する傾向がみられた。しかし同時に高濃度のEGCG経口投与により体重減少や食思不振の副作用が観察された(図1)。



(図1) 緑茶カテキン (EGCG) による生命予後の延長(A)と副作用による体重減少(B)

この結果を踏まえて、今後は副作用対策や薬剤を変更して、IL13R $\alpha$ 2 を更に強力に抑制し、抗腫瘍効果の強く、副作用の少ない薬剤を FDA Drug library の中から候補を絞り込んでいる。現在のところ4つの薬剤に候補を絞り込み、モデルマウスを用いて効果を検討している。

##### (2). 膵臓癌患者における超音波内視鏡下穿刺吸引術 (EUS-FNA) を用いた IL-13R 2 発現の評価

(1)の研究と同時に薬剤を臨床で応用するために、臨床での IL13R $\alpha$ 2 の評価方法を検討した。

(1)の研究の IL13R $\alpha$ 2 をターゲットとした薬剤は IL13R $\alpha$ 2 が高発現している膵癌に対して

有用と考えられる。以前の研究では膵癌の切除標本を対象として IL13R $\alpha$ 2 の発現を評価していたが、臨床では膵癌の外科的切除術が可能な患者は約 20%に限られている。膵癌全患者に対して IL13R $\alpha$ 2 の発現を測定するために膵癌の診断時に行う EUS-FNA 検体を用いて IL13R $\alpha$ 2 の発現を評価できるかを検討した。同一膵癌患者 57 症例の膵癌切除検体と EUS-FNA 検体での IL13R $\alpha$ 2 の発現を比較したところ約 90%の症例で発現レベルが一致していた。そのため EUS-FNA を用いても膵癌の IL13R $\alpha$ 2 の発現レベルは測定可能と判断した。

### ( 3 ). IL13R $\alpha$ 2 の膵癌化学療法に対する影響の検討

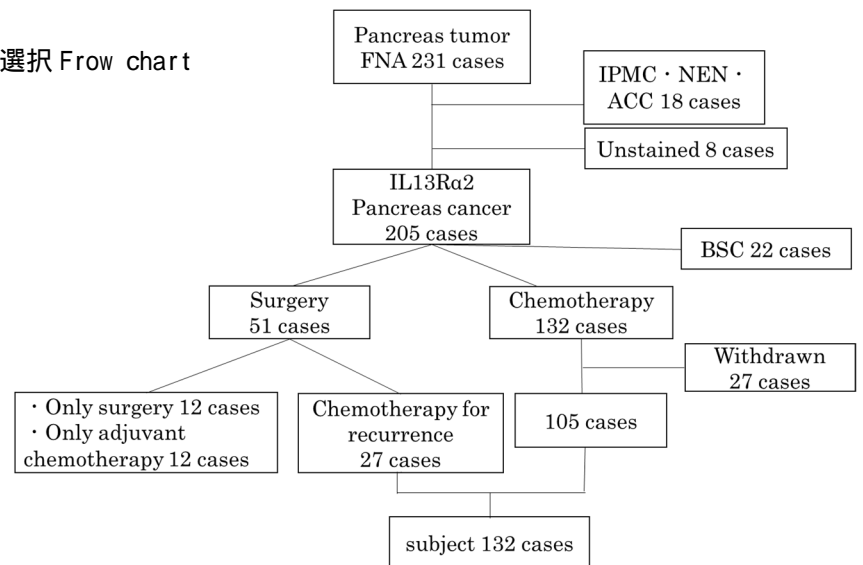
( 2 )の検討で得られた結果を基に膵癌における IL13R $\alpha$ 2 の発現を治療開始前に EUS-FNA 検体を用いて測定した。

期間中に EUS-FNA を行った膵癌患者 205 症例の中から化学療法を行った 132 症例を対象として IL13R $\alpha$ 2 の発現を検討した ( 図 2 )。

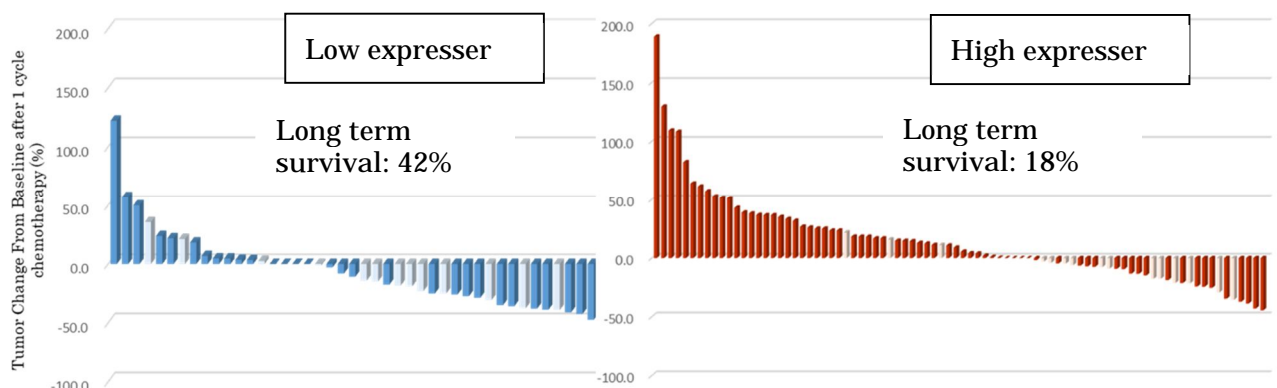
結果 48 症例で IL13R $\alpha$ 2 が無～低発現、84 症例で高発現していた。

対象を低発現群 ( 48 症例 ) と高発現群 ( 84 症例 ) の 2 群に分けて抗癌剤の効果、無増悪生存期間、全生存期間等を比較した。

( 図 2 ) 対象患者の選択 Flow chart

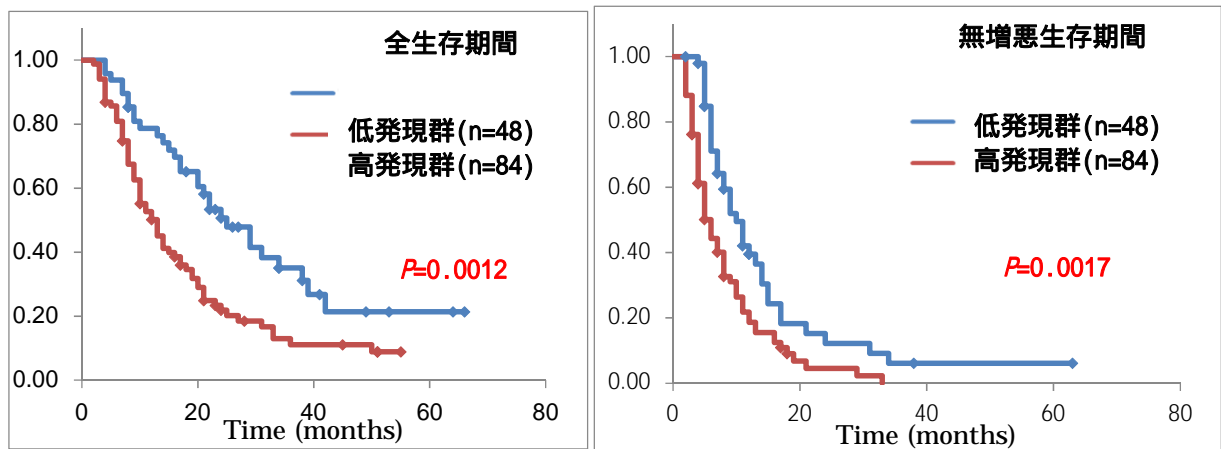


結果、IL13R $\alpha$ 2 低発現群で腫瘍が縮小した症例が有意に多く、IL13R $\alpha$ 2 高発現群では腫瘍が増大した症例が多かった。また低発現群で有意に 2 年以上の長期生存が得られた症例が 42% vs 18%と有意に多かった ( 図 3 )。



( 図 3 ) IL13R $\alpha$ 2 低・高発現群における化学療法の効果判定 ( Waterfall plot )

また同時に両群間で腫瘍の無増悪生存期間と全生存期間を Log-rank test を用いて比較したが、いずれも IL13R $\alpha$ 2 低発現群で有意に長くなっていた ( 図 4 )



( 図 3 ) IL13R $\alpha$ 2 低・高発現群における全生存期間と無増悪生存期間の比較

この結果を受けて IL13R $\alpha$ 2 がどのようにして抗癌剤の治療効果に影響を与えているかを検討した。その結果、膵癌治療のキードラッグである Gemcitabine の代謝経路のいくつかの酵素が IL13R $\alpha$ 2 の有無により発現が有意に異なっており、IL13R $\alpha$ 2 が Gemcitabine の膵癌細胞内での代謝を変更し膵癌に対する Gemcitabine の効果を減弱している可能性が示唆された。その他腫瘍血管の量も IL13R $\alpha$ 2 の有無により変化することもわかっており、現在この抗癌剤の治療効果に影響を与える機序に関して詳細に検討しているところである。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Fujisawa T, Joshi BH, Takahashi S, Takasaki Y, Suzuki A, Ito K, Ochiai K, Tomishima K, Ishii S, Puri RK, Isayama H.	4. 巻 11
2. 論文標題 IL-13R 2 Is a Biomarker of Diagnosis and Therapeutic Response in Human Pancreatic Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Diagnostics	6. 最初と最後の頁 1140
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/diagnostics11071140.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Toshio Fujisawa, Takeshi Shimamura, Kaku Goto, Ryo Nakagawa, Ryosuke Muroyama, Yoshinori Ino, Hajime Horiuchi, Itaru Endo, Shin Maeda, Yasushi Harihara, Atsushi Nakajima, Nobuyuki Matsuhashi, Naoya Kato, Hiroyuki Isayama, Ankit Puri, Akiko Suzuki, Ian Bellayr, Pamela Leland, Bharat H. Joshi, Raj K. Puri	4. 巻 12
2. 論文標題 A Novel Role of Interleukin 13 Receptor alpha2 in Perineural Invasion and its Association with Poor Prognosis of Patients with Pancreatic Ductal Adenocarcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 1294
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers12051294	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Toshio Fujisawa, Hiroyuki Isayama	4. 巻 66
2. 論文標題 Immunotherapy for Pancreatic Cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Juntendo Medical Journal	6. 最初と最後の頁 238-244
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14789/jmj.2020.66.JMJ20-LN02	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Okusaka Takuji, Nakamura Masafumi, Yoshida Masahiro, Isayama Hiroyuki, Fujisawa Toshio et al.	4. 巻 28
2. 論文標題 Clinical Practice Guidelines for Pancreatic Cancer 2022 from the Japan Pancreas Society: a synopsis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 493 ~ 511
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10147-023-02317-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tomishima Ko, Fujisawa Toshio, Fukumura Yuki, Ushio Mako, Fukuma Taito, Takahashi Sho, Takasaki Yusuke, Suzuki Akinori, Ito Koichi, Ishii Shigeto, Yao Takashi, Nagahara Akihito, Isayama Hiroyuki	4. 巻 51
2. 論文標題 Pancreatic Adenocarcinoma With Strong Expression of Interleukin-13 Receptor 2 Shows a Poor Response to Gemcitabine-Based Chemotherapy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pancreas	6. 最初と最後の頁 1133 ~ 1139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MPA.0000000000002151	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 富嶋 享、藤澤 聡郎、伊佐山 浩通、福村 由紀
2. 発表標題 膵癌EUS-FNA検体で評価し得たIL-13 receptor a2発現と化学療法効果について
3. 学会等名 第103回 日本消化器内視鏡学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 富嶋 享、藤澤 聡郎、伊佐山 浩通
2. 発表標題 膵癌の化学療法の選択においてIL-13 receptor a2発現の示す意義
3. 学会等名 第108回 日本消化器病学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 富嶋 享
2. 発表標題 膵癌の化学療法選択においてIL-13 receptor 2発現の示す意義.
3. 学会等名 U45消化器疾患 イノベーションカンファレンス -サイエンスでつながる次世代の会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤澤 聡郎
2. 発表標題 癌精巢抗原IL-13R 2の膵癌における役割と分子標的治療法の開発
3. 学会等名 第6回がんブレインストーミング研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ko Tomishima, Toshio Fujisawa, Hiroyuki Isayama
2. 発表標題 PANCREATIC ADENOCARCINOMA WITH STRONG EXPRESSION OF IL-13R?2 SHOWS A POOR RESPONSE TO GEMCITABINE-BASED CHEMOTHERAPY
3. 学会等名 United-European Gastrointestinal Week（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤澤聡郎, 富嶋亨, 伊佐山浩通
2. 発表標題 膵癌抗癌剤治療におけるIL-13 receptor 2 発現による効果予測と感受性低下機序の解明
3. 学会等名 第109回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>Dr. Puri's site  <a href="https://www.linkedin.com/in/raj-puri-m-d-ph-d-19383430">https://www.linkedin.com/in/raj-puri-m-d-ph-d-19383430</a></p>
---



6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	伊佐山 浩通  (Isayama Hiroyuki)  (70376458)	順天堂大学・医学部・教授    (32620)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協力者	富嶋 享  (Tomishima Ko)	順天堂大学・医学部・助手    (32620)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	US Food and Drug Administration	National Institution of Health	