

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19790936  
 研究課題名（和文） 膵癌に対する分子標的治療の新たな戦略-接着因子関連蛋白をターゲットとして-  
 研究課題名（英文） A new approach of the therapy for pancreatic cancer by targeting for membrane protein concerning with adhesion molecule.  
 研究代表者  
 澤田 成朗 (Sawada Shigeaki)  
 富山大学・大学病院・助教  
 研究者番号：50375630

研究成果の概要：細胞接着因子であるインテグリンを介して細胞外から細胞内へ入る信号を変化させる役割をもつ膜蛋白 CD151 をターゲットとした研究。培養可能なヒト膵癌細胞 5 種類を入手し CD151 の発現をチェックしたところ、いずれの細胞にも発現は認めなかった。CD151 と強固な複合体を形成している接着因子はインテグリン a3b1 で、その接着基質であるラミニン 5 産生細胞の培養に成功した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	0	2,200,000
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	330,000	3,630,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：膵癌、膜蛋白、細胞内シグナル、接着因子

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 本研究の目的は、膵癌の進展抑制を試みる新たな分子標的治療法を開発することである。本研究で標的としている分子 CD151 はテトラスパニンファミリーに属した蛋白で、細胞膜上でインテグリンや他のテトラスパニンと複合体を形成し細胞外からのシグナルを modulation する中心的役割を担っていることが判っている。近年の Knock out mouse の検討から、インテグリンの knock out mouse で認められたような胎生期の重篤な問題はなく、ほぼ正常 mouse として生存可能であった。一方、非小細胞肺癌や大腸癌、前立腺癌において CD151 の発現が予後不良因子となっていることが報告されていたが、近年、

膵癌細胞の *in vitro* の実験において癌細胞の運動に影響を及ぼしていることが明らかとなった膜蛋白である。

(2) 近年の画像診断能の向上、外科手技の進歩などにより、根治切除可能な悪性腫瘍が増えてきたが、特に膵癌は発見時既に切除不能の症例も多く、また根治切除が可能な症例でも術後比較的早期に再発を認める症例が多い。現在新規抗癌剤、放射線療法、重粒子線療法などの集学的治療が注目され、一定の効果を認めているが未だ他の消化器癌に比べて満足のゆくものではない。

(3) 近年の癌進展過程の分子レベルの解析

により、癌進展に関わる因子を標的とした治療法の開発も進み、いくつかの臨床応用がはじまりつつある。しかし、これらのターゲット因子は正常組織内でも重要な働きを持つため、その機能を抑制することは正常臓器の機能維持に必要な作用までも抑制することとなり、重大な副作用発現の可能性が依然残る。そのため十分な抗腫瘍効果をあげていないのが現状である。

CD151は一昨年 knock out mouse の検討結果が報告され、ほぼ正常 mouse として生存可能であった。このことは CD151 を標的分子とした治療を行う場合、これまでの分子標的治療と異なり、副作用が軽減され十分な抗腫瘍効果が得られる可能性を示唆していると考えられる。

## 2. 研究の目的

膵癌の進展抑制を試みる新たな分子標的治療を開発することを最終目的とし、本研究では CD151 ならびにテトラスパニンファミリーをターゲットとして、これら分子の癌進展に関与するメカニズムを検討する事が目的である。

## 3. 研究の方法

(1) 膵癌細胞を入手し CD151 ならびにその他のテトラスパニンの発現を確認する。CD151 の発現が少ない細胞を用いてその細胞に TetOff system を導入した CD151/TetOff を transfection し、in vitro ならびに in vivo の解析を行う。

(2) CD151 と最も親密に複合体を形成しているインテグリン  $\alpha 3\beta 1$  のリガンドがラミニン 5 である。ラミニン 5 の産生細胞である A431 を Birmingham 大学 Fedor Berdichevskii 博士より供与いただきラミニン 5 の安定した供給を確立する。

(3) In vitro の解析として (1) にて作製した細胞ならびに (2) にて準備したラミニン 5 を用いて、膵癌細胞の増殖能、運動能、接着能における CD151 の役割につき検討を加える。

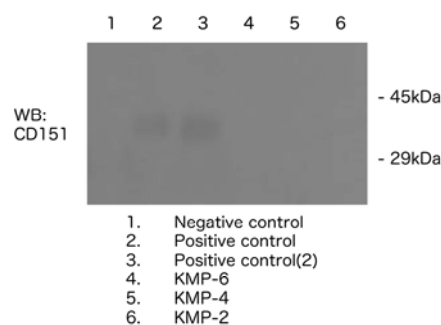
(4) ノードマウスを用いた同所性移植の膵癌増殖転移モデルを作製し、(1) にて作製した細胞を用いて CD151 の in vivo における膵癌悪性化進展における役割を検討する。

(5) 当科で膵癌に対して手術を施行された症例の凍結切片を用いて CD151 ならびに他のテトラスパニンの発現の有無と生存率、再発率、リンパ節転移率などの臨床病理学的検

討を加える。

## 4. 研究成果

(1) ヒト膵癌細胞株における CD151 の発現。ヒト膵癌細胞として KMP-2, KMP-4, KMP-6 を入手しそれぞれの CD151 の発現状況を Western blotting にて観察したところいずれの細胞株でも CD151 の発現は認めなかった。



(2) A431 細胞を Birmingham 大学 Fedor Berdichevskii 博士より供与いただき、培養に成功した。この細胞を用いてラミニン 5 を coating した培養 dish を作製した。

(3) CD151 を発現していない KMP-2, KMP-4, KMP-6 細胞を用いて細胞の運動能を time lapse video にて観察した。Normal dish ならびにラミニン 5 を coating dish でその差を比較したが、いずれの細胞においても明確な差を認めなかった。

(4) KMP 細胞株に TetOff system の導入を試みたが、安定した細胞株の作製には至っていない。現在 TetOff system の導入を一時中断し、KMP 細胞株に CD151 のみを transfection した細胞株の樹立中である。

## 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 2 件)

- ① Sawada S, Yamagishi F, Suzuki S, Matsuoka J, Arai H, Tsukada K. Continuous irrigation with suction started at early days after pancreatic surgery prevents severe complications. Hepatogastroenterology. 55: 725-728, 2008, 査読有り。
- ② Togawa A, Yoshitomi H, Ito H, Kimura F,

Shimizu H, Ohtsuka M, Yoshidome H, Kato A, Sawada S, Miyazaki M. Treatment with an oral fluoropyrimidine, S-1, plus cisplatin in patients who failed postoperative gemcitabine treatment for pancreatic cancer: a pilot study. Int J Clin Oncol. 12: 268-273, 2007, 査読有り。

〔学会発表〕 (計 13 件)

- ① S Sawada, I Yoshioka, R Hori, S Morita, T Yoshida, K Tazawa, T Nagata, H Uotani, S Hirokawa, Y Shimada, K Tsukada. A Resected Case of Immunoglobulin G4-related Sclerosing Cholangitis without Autoimmune Pancreatitis that Mimics Infiltrating Hilar Cholangiocarcinoma. 18<sup>th</sup> World Congress of the International Association of Surgeons, Gastroenterologists and Oncologists, Poster, Istanbul, Turkey, 2008. 10
- ② 澤田成朗、吉岡伊作、堀亮太、森田誠一、吉田徹、田澤賢一、長田拓哉、魚谷英之、廣川慎一郎、嶋田裕、宮崎孝子、折原正周、塚田一博。膵癌局所再発による挙上空腸狭窄に対してダブルバルーン内視鏡にてステント留置が有効であった一例。第 76 回日本消化器内視鏡学会総会、東京、2008. 10
- ③ 澤田成朗、吉岡伊作、堀亮太、森田誠市、吉田徹、田澤賢一、長田拓哉、魚谷英之、廣川慎一郎、嶋田裕、塚田一博。肝門部胆管癌との鑑別が困難であった自己免疫性膵炎非合併IgG4 関連硬化性胆管炎の 1 切除例。第 44 回日本胆道学会学術集会、名古屋、2008. 9
- ④ 澤田成朗、堀亮太、吉岡伊作、森田誠市、吉田徹、田澤賢一、湯口卓、長田拓哉、魚谷英之、廣川慎一郎、嶋田裕、塚田一博。進行胆嚢癌の進展形式からみた術式選択。第 63 回日本消化器外科学会定期学術集会・一般演題ポスター、札幌、2008. 7
- ⑤ 澤田成朗、山岸文範、堀亮太、吉岡伊作、森田誠市、吉田徹、田澤賢一、湯口卓、長田拓哉、魚谷英之、廣川慎一郎、嶋田裕、塚田一博。Gem + S-1 併用療法胆道癌、膵癌術後補助化学療法への導入。第 20 回日本肝胆膵外科学会 一般演題ポスター、山形、2008. 6
- ⑥ 澤田成朗、吉岡伊作、森田誠市、吉田徹、湯口卓、横山義信、長田拓哉、魚谷英之、廣川慎一郎、塚田一博。肝硬変合併肝細胞癌に対するマイクロ波凝固併用肝部分切除術。第 108 回日本外科学会総会・ビデオディスカッション、長崎、2008, 4
- ⑦ 澤田成朗、吉岡伊作、長田拓哉、塚田一

博。閉塞性黄疸患者における茵陳蒿湯の効果。第 17 回外科漢方研究会・ワークショップ、東京、2007. 11.

- ⑧ 澤田成朗、大澤宗士、塚田一博。術前悪性との鑑別が困難な胆嚢腫瘍に対する胆嚢摘出+大網留置術-過不足ない手術をめざして。第 67 回日本臨床外科学会・ワークショップ、東京、2007. 11.
- ⑨ 澤田成朗、吉岡伊作、森田誠市、吉田徹、田澤賢一、湯口卓、横山義信、長田拓哉、魚谷英之、廣川慎一郎、塚田一博。他院にて膵頭十二指腸切除後 2 ヶ月で発症した膵管空腸吻合破裂に対して開腹ドレナージ術にて救命し得た 1 例。外科感染症学会総会・一般演題、東京、2007. 10
- ⑩ 澤田成朗、吉岡伊作、塚田一博、宮崎勝。胆道専門外科医を目指して-肝胆膵専門外科への国内留学の経験から-。第 43 回日本胆道学会学術集会 シンポジウム、東京、2007. 10
- ⑪ 澤田成朗、土屋康紀、福田啓之、田澤賢一、湯口卓、堀川直樹、長田拓哉、魚谷英之、廣川慎一郎、山岸文範、塚田一博。単発肝細胞癌に対する局所切除(Hr0)治療成績とFc-infの関係。第 62 回日本消化器外科学会定期学術集会・一般演題ポスター、東京、2007. 7
- ⑫ 澤田成朗、土屋康紀、福田啓之、田澤賢一、湯口卓、堀川直樹、長田拓哉、魚谷英之、廣川慎一郎、山岸文範、塚田一博。術前悪性との鑑別が困難な胆嚢腫瘍に対する胆嚢摘出術。第 19 回日本肝胆膵外科学会・一般演題ポスター、横浜、2007. 6
- ⑬ 澤田成朗、大澤宗士、堀川直樹、長田拓哉、廣川慎一郎、山岸文範、塚田一博。胆嚢癌術前診断の限界点-全層切除術を施行した胆嚢腫瘍 19 例の検討。第 107 回日本外科学会総会・一般演題ipos、大阪、2007, 4

〔図書〕 (計 1 件)

澤田成朗、塚田一博、済木育夫：第 1 部転移実験モデル(転移臓器別)、第 2 章肝、3. マウス肝細胞癌の同所性移植による肝内転移モデル。「がん転移研究の実験手技」、29-33、金芳堂、京都、2008

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

澤田成朗 (Shigeaki Sawada)

富山大学・大学病院・助教

研究者番号：50375630