

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 23 日現在

機関番号：83901

研究種目：基盤研究 (A)

研究期間：2008 ~ 2012

課題番号：20249062

研究課題名 (和文) Nek2 を標的にした包括的癌治療法の開発とそのトランスレーショナルリサーチ

研究課題名 (英文) Comprehensive cancer therapy targeted Nek2 and translational research

研究代表者

二村 雄次 (NIMURA YUJI)

愛知県がんセンター (研究所)・総長

研究者番号：80126888

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：Nek2, 分子標的治療, トランスレーショナルリサーチ

1. 研究計画の概要

肝門部胆管癌は、その根治切除例の 5 年生存率は 20-30% であり胆膵領域癌の治療成績は未だ満足すべきものではない。現在の治療法だけによる胆膵領域癌の治療には限界があり、新たな治療法の開発が必要である。われわれはこれまで、Nek2 を標的とした分子標的治療の開発を行ってきた。癌は多段階の遺伝子変異により発生し、複数の癌特異的遺伝子の発現により癌の複雑な病態が作り出されると考えられる。Nek2 siRNA の単独投与のような単一遺伝子のみを標的にした分子標的治療には限界があると考えており、効果的な癌治療のためには、Nek2 siRNA 分子標的治療と既存の抗癌剤治療、放射線治療を融合させた新たな包括的治療の開発が重要である。本研究の目的は Nek2 siRNA を用いた包括的な癌分子標的治療のトランスレーショナルリサーチを行い、早期臨床応用を目指すものである。

2. 研究の進捗状況

<Nek2 の基礎的研究と臨床病理学的研究>

胆管癌細胞株 HuCCT1、膵癌細胞株 KLM へ Nek2 siRNA の投与し、その 24 時間後の遺伝子発現に関して、DNA アレイ法による網羅的遺伝子解析をおこなった。Nek2 siRNA の投与の有無により異なる遺伝子群の発現を認めており、そのシグナル伝達系に関して解析を行っている。

胆管癌症例 29 例の癌組織での Nek2 の発現に関して real time PCR を行ない、その発現量と術後生存期間を比較検討した。Nek2 の高発現症例における術後生存期間は、低発現量症例より有意に短く、予後不良であった。また Nek2 の発現量と腫瘍マーカー CA19-9 には相

関を認めたが、CEA には相関を認めなかった。<抗癌剤との併用による包括的治療法の開発>

胆管癌細胞株 HuCCT1、膵癌細胞株 KLM を用いて Nek2 siRNA と抗癌剤 (5FU、CDDP、ジェムザール、タキソテール) 併用時の効果について検討した。増殖能については MTT アッセイ、細胞死についてトリパンブルー色素排出試験を行った。いずれの抗癌剤においても抗癌剤単独投与時と比較して Nek2 siRNA 併用時に増殖抑制、細胞死の増強を認めた。また胆管癌細胞株 HuCCT1、膵癌細胞株 KLM への Nek2 siRNA と抗癌剤 CDDP の併用投与後の遺伝子発現について DNA アレイ法を用いた網羅的遺伝子解析を行った。併用投与群においては Nek2 siRNA 単独投与、抗癌剤単独投与群の場合とは異なる遺伝子群を同定した。これらの同定した遺伝子について shRNA (short hairpin RNA) を発現させるウイルスベクターを作成した。現在このウイルスベクターを膵癌細胞株 KLM に導入し、恒常的にこの遺伝子の抑制が可能な細胞株の樹立を行っている。

<担癌動物実験モデルを用いた包括的治療法の効果および安全性の検討>

1) 蛍光色素標識 Nek2 siRNA を用いた投与方法の検討

膵癌肝転移モデルを作成し、蛍光標識した Nek2 siRNA を投与した。蛍光顕微鏡により Nek2 siRNA の肝臓への導入は認めたが、肝転移への特異的な集積は認めなかった。

2) 皮下発癌モデルによる包括的治療法の効果の検討

大腸癌皮下発癌モデルに対して Nek2 siRNA と抗癌剤 TS1 による併用効果の検討を行った。Nek2 siRNA の単独投与群は TS1 単独投与群とほぼ同様の効果があり、大腸癌においても

Nek2 siRNA は有効性であった。しかし Nek2 siRNA と TS1 同時投与群では Nek2 siRNA の単独投与群、TS1 単独投与群と比較して有効性を認めるも有意差はなかった。

<担癌動物実験モデルを用いた包括的治療法の効果および安全性の検討>

膵癌細胞株 KLM によるマウス腹膜播種モデル、ラット肝転移モデルを用いて抗癌剤投与時の Nek2 siRNA 同時投与による癌細胞への導入効率、副作用の検討を行った。併用による副作用等は認めなかった。

3. 現在までの達成度

Nek2 siRNA と抗癌剤 CDDP の併用による相加効果を認めており、Nek2 siRNA と抗癌剤治療との融合による包括的治療に関する基礎的な研究については成果があがっている。

しかし、トランスレショナルリサーチの実施までまだ至っていない、まだ達成度としては不十分である。

4. 今後の研究の推進方策

<Nek2 の基礎的研究と臨床病理学的研究>

胆管癌症例 29 例において Nek2 の発現と術後生存期間が関連することを明らかにした。さらに遠隔転移、リンパ節転移等のその他の因子との関連性についても検討を行い、バイオマーカーとしての有効性を明らかにする。

<抗癌剤との併用による包括的治療法の開発>網羅的遺伝子解析により同定した遺伝子について shRNA (short hairpin RNA) を発現させるウイルスベクターを作成した。現在このウイルスベクターを膵癌細胞株 KLM に導入し、恒常的にこの遺伝子の抑制が可能な細胞株の樹立を行っている。この細胞株に対して、抗癌剤および阻害剤を用いてシグナル伝達系などメカニズムに関する研究を行う。

<担癌動物実験モデルを用いた包括的治療法の効果および安全性の検討>

胆管癌、膵癌由来細胞株によるマウス腹膜播種モデル、ラット肝転移モデルを用いて抗癌剤投与時の Nek2 siRNA 同時投与による癌細胞への抗腫瘍効果、副作用の検討を継続する。

<外科手技を併用した薬剤投与方法の開発>

腹膜播種モデルでのリザーバーを用いた siRNA 腹腔内注入など腫瘍局所に持続的投与方法の確立およびその効果を検討する。

<ヒト標本等における siRNA 導入効率などの機能解析>

胆管癌、膵癌腹膜播種症例から腹腔内遊離癌細胞を回収し、その細胞を用いて、抗癌剤と Nek2 siRNA の併用投与時の Nek2 siRNA の導入効率、副作用の有無の検討をおこなう。

<Nek2 siRNA 包括的分子標的治療法のトランスレショナルリサーチ>

GMP 基準の Nek2 siRNA を作成し、倫理委員会承認後、膵癌手術不能症例に対して Nek2

siRNA の局所投与によるトランスレショナルリサーチをおこなう。

5. 代表的な研究成果

(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)

①Takayama Y, Kokuryo T, Senga T. (他6名)
Silencing of Tousled-like kinase 1 sensitizes cholangiocarcinoma cells to cisplatin-induced apoptosis. Cancer Lett. 296(1):27-34. 2010査読有

②Suzuki K, Kokuryo T, Hamaguchi M. (他5名)
Novel combination treatment for colorectal cancer using Nek2 siRNA and cisplatin. Cancer Sci. 101(5):1163-9. 2010査読有

[学会発表] (計 2 件)

①Kokuryo T, Senga T, Yokoyama Y, Nagino M, Hamaguchi M.

Nek2 as an effective molecular target for cancer treatment

AACR 101st annual meeting, Apr 17-21 2010, Washington DC, USA

②國料俊男、横山幸浩、椰野正人
siRNA を用いた癌分子標的治療のトランスレショナルリサーチ
JDDW 2010, 2010. 10. 13-16, 横浜

[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 :

取得年月日 :

国内外の別 :

[その他]