

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5月15日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2009-2011

課題番号：21591609

研究課題名（和文） オートファジーを標的とした膵癌に対する集学的な新規放射線化学療法の開発

研究課題名（英文） Chemoradiotherapy targeting autophagy mechanism against pancreas cancer.

研究代表者

岡本 欣晃 (OKAMOTO YOSHIKI)

神戸大学・大学院医学研究科・非常勤講師

研究者番号：20362791

研究成果の概要（和文）：

オートファジーは放射線照射や抗癌剤の曝露後の細胞の生死を決定づけるとされる細胞内分子機構である。ヒト膵癌細胞を用い、放射線照射、抗癌剤（ジェムザール）、その併用療法でのオートファジーの誘導の程度を、LC3のWestern Blotでの定量や電子顕微鏡におけるオートファジー腔胞の証明を中心に解析し、更に動物実験におけるIn vivoの評価を中心に解析した。ジェムザールはオートファジーの誘導に有効な薬剤であり、更に併用療法ではオートファジーの増強が確認された。

研究成果の概要（英文）：

Autophagy is one of the most important intracellular mechanism to radiation and chemotherapy. In this study, we evaluated induction of the autophagy by using human pancreas cancer cells. Autophagy was assessed by electron microscope, western blotting of LC-3. In vivo experiment, gemcitabine and ionizing radiation resulted in synergistic cytotoxicity with induction of autophagy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：放射線科学

キーワード：オートファジー, 放射線療法, 膵癌

1. 研究開始当初の背景

膵癌はわが国において年々増加しており、2004年度の全国統計によると膵癌の死亡数は22,260人であり、肺癌、胃癌、大腸癌、肝癌について第5位となっている。膵癌の予後はきわめて不良であり、通常膵癌全体の5年生存率は10%を下回っている。手術が唯一

の根治を望める治療法であるとされているが、切除率は20~40%と低い。一方、局所進行・切除不能膵癌に対する化学療法を主体とした治療方針では標準的治療法として推奨するだけの十分な根拠になりうる臨床データは乏しいが、局所進行切除不能膵癌に対する5-FU併用化学放射線療法は有効な治療法

であり、治療選択肢の一つとして推奨されている。なお、5-FUの併用方法、併用時期、および維持化学療法を含めた化学放射線療法の具体的なレジメンについては未だ一定のコンセンサスが得られていないのが現状である。

2. 研究の目的

ジェムザールは5-FUと同じ作用機序である代謝拮抗剤であり、膀胱癌に対する有効性が示唆されているが、その作用機序や分子メカニズムは明らかにされていない。膀胱癌に対するジェムザール、放射線療法、その併用療法の分子機序を明らかにすることを本研究の主たる目的とする。

3. 研究の方法

ヒト膀胱癌細胞を用いて、下記を検討した。膀胱癌に対するジェムザール、放射線療法、その併用療法の分子機序の中でのオートファジーの関与に関して、電子顕微鏡、LC3のタンパク量を示すウエスタンブロット、アポトーシスとの対比、ヌードマウスを用いた上記治療方法の腫瘍増殖抑制効果、In vivoにおける治療時のオートファジーとアポトーシスの対比などを免疫組織科学的手法を用いて検討した。

4. 研究成果

オートファジーに着目し、放射線照射、ジェムザール、その併用療法でのオートファジーの誘導の程度を判定し、LC3のWestern Blotでの定量や電子顕微鏡におけるオートファジー腔胞の検討し、それらのオートファジーに関連する分子機序がジェムザールで活性化され、更に放射線療法との併用で更に強く増強されていることを証明した。移植腫瘍での放射線照射、ジェムザール、併用療法におけるオートファジーの関与の検討に対して免疫組織学的評価を中心に実施したが、併用療法ではLC3やBeclin-1等のオートファジーに関連するタンパク質の発現が増強することを確認した。さらに他の抗癌剤を用いて同様の実験結果が得られるか否かを検討したが、ジェムザールと比較してオートファジーの反応は少なく、また放射線照射の併用においても増強効果が弱い実験結果を得た。

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10件)

1: Sasaki R, Yasuda K, Abe E, Uchida N, Kawashima M, Uno T, Fujiwara M, Shioyama Y, Kagami Y, Shibamoto Y, Nakata K, Takada Y, Kawabe T, Uehara K, Nibu K, Yamada S.

Multi-institutional analysis of solitary extramedullary plasmacytoma of the head and neck treated with curative radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012;82(2):626-34

2: Hashimoto N, Sasaki R, Nishimura H, Yoshida K, Miyawaki D, Nakayama M, Uehara K, Okamoto Y, Ejima Y, Azumi A, Matsui T, Sugimura K. Long-term outcome and patterns of failure in primary ocular adnexal mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma treated with radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012;82(4):1509-14.

3: Yoshida K, Sasaki R, Nishimura H, Miyawaki D, Kawabe T, Okamoto Y, Nakabayashi K, Yoshida S, Sugimura K. Radiotherapy for Japanese elderly patients with cervical cancer: preliminary survival outcomes and evaluation of treatment-related toxicity. *Arch Gynecol Obstet.* 2011;284(4):1007-14.

4: Komatsu S, Fukumoto T, Demizu Y, Miyawaki D, Terashima K, Niwa Y, Mima M, Fujii O, Sasaki R, Yamada I, Hori Y, Hishikawa Y, Abe M, Ku Y, Murakami M. The effectiveness of particle radiotherapy for hepatocellular carcinoma associated with inferior vena cava tumor thrombus. *J Gastroenterol.* 2011;46(7):913-20.

5: 柴田智久, 米澤宏一郎, 森本浩一, 山下大介, 大月直樹, 西村英輝, 佐々木良平, 丹生健一, 耳下腺癌における予防的頸部郭清と術後放射線治療について, 頭頸部癌 37巻1号 Page78-82, 2011

6: 西村英輝, 佐々木良平, 吉田賢史, 宮脇大輔, 大月直樹, 齊藤幹, 清田尚臣, 副島俊典, 杉村和朗, 丹生健一, 局所進行下咽頭癌に対する術後放射線療法の遡及的検討, 頭頸部癌, 37巻1号 Page62-66, 2011

7: Yoshida K, Sasaki R, Nishimura H, Okamoto Y, Suzuki Y, Kawabe T, Saito M, Otsuki N, Hayashi Y, Soejima T, Nibu K, Sugimura K. Nuclear factor-kappaB expression as a novel marker of radioresistance in early-stage laryngeal cancer. *Head Neck.* 2010;32(5):646-55.

8: Kumamoto-Yonezawa Y, Sasaki R, Suzuki

Y, Matsui Y, Hada T, Uryu K, Sugimura K, Yoshida H, Mizushima Y. Enhancement of human cancer cell radiosensitivity by conjugated eicosapentaenoic acid - a mammalian DNA polymerase inhibitor. *Int J Oncol.* 2010;36(3):577-84.

9: Mukubou H, Tsujimura T, Sasaki R, Ku Y. The role of autophagy in the treatment of pancreatic cancer with gemcitabine and ionizing radiation. *Int J Oncol.* 2010; 37(4):821-8.

10: Amalia H, Sasaki R, Suzuki Y, Demizu Y, Bito T, Nishimura H, Okamoto Y, Yoshida K, Miyawaki D, Kawabe T, Mizushima Y, Sugimura K. Vitamin K2-derived compounds induce growth inhibition in radioresistant cancer cells. *Kobe J Med Sci.* 2010;56(2):E38-49.

[学会発表] (計 11 件)

1: D Miyawaki, H Nishimura, K Yoshida, O Muraoka, M Nakayama, K Uehara, K Sugimura, S Hasegawa, K Nibu, R Sasaki, Combined Modality Therapy Including Radiotherapy for Squamous Cell Carcinomas of Maxillary Sinus - a Retrospective Study, European Cancer Conference (ECCO) 16th Annual Meeting, 2011/9/24-28, Stockholm

2: K Yoshida, H Nishimura, D Miyawaki, O Muraoka, A Harada, N S Sulaiman, K Nakabayashi, S Yoshida, R Sasaki, K Sugimura, Radiotherapy for Elderly Patients with Cervical Cancer, European Cancer Conference (ECCO) 16th Annual Meeting, 2011/9/24-28, Stockholm

3: K Uehara, R Sasaki, D Miyawaki, H Nishimura, K Yoshida, M Nakayama, T Soejima, O Fujii, T Sasayama, K Sugimura Dosimetric Analysis of Patterns of Failure for High-grade Glioma with Multimodality Treatment: Relationship to MIB-1 Labeling Index, American Society of Therapeutic Radiation Oncology (ASTRO) 53rd Annual Meeting, 2011/10/2-6, Miami FL, USA

4: N Hashimoto, R Sasaki, H Nishimura, K Yoshida, D Miyawaki, Y Okamoto, Y Ejima, A Azumi, T Matsui, K Sugimura, Long-term Outcome and Patterns of Failure in Primary Ocular Adnexal MALT Lymphoma Treated with Radiotherapy, American Society of Therapeutic Radiation

Oncology (ASTRO) 53rd Annual Meeting, 2011/10/2-6, Miami FL, USA

5: N Mukumoto, R Sasaki, H Akasaka, M Nakayama, D Miyawaki, H Nishimura, K Umetani, T Kondoh, K Shinohara, K Sugimura, Microplanar Beams Radiation: Is Brain Really A Serial Organ? American Society of Therapeutic Radiation Oncology (ASTRO) 53rd Annual Meeting, 2011/10/2-6, Miami FL, USA

6: K Yoshida, H Nishimura, D Miyawaki, O Muraoka, K Uehara, M Nakayama, R Sasaki, K Sugimura, Radiation Therapy For Brain Stem Gliomas In Children And Adults, American Society of Therapeutic Radiation Oncology (ASTRO) 53rd Annual Meeting, 2011/10/2-6, Miami FL, USA

7: R Sasaki, K Yoshida, H Nishimura, D Miyawaki, M Saito, N Otsuki, K Nibu, Nuclear factor-kappa B Expression as A Novel Marker of Radioresistance in Early-stage Laryngeal Cancer, 11th Japan-Taiwan Conference on Otolaryngology-Head and Neck Surgery, 2011/12/7-8, Kobe

8: K Yoshida, H Nishimura, D Miyawaki, T Kawabe, Y Okamoto, K Nakabayashi, S Yoshida, R Sasaki, K Sugimura, Radiotherapy for Elderly Patients with Cervical Cancer, American Society of Therapeutic Radiation Oncology (ASTRO) 51st Annual Meeting, 2010/10/31-11/04, San Diego, CA USA

9: H Mukubou, T Tsujimura, R Sasaki, K Yoshida, Y Suzuki, Y Hori, Y Ku, Significance of Autophagy Induced by Gemcitabine, Radiotherapy, and the Combination of Them against Pancreatic Adenocarcinoma In Vitro and In Vivo, American Society of Therapeutic Radiation Oncology (ASTRO) 51st Annual Meeting, 2009/10/31-11/05, Chicago, IL USA

10: H Nishimura, R Sasaki, Y Okamoto, K Yoshida, Kawabe T, K. Nibu, N. Ohtsuki, M. Saitoh, T. Radiotherapy for Locally Advanced Hypopharyngeal Carcinoma - A Comparison between Definitive, American Society of Therapeutic Radiation Oncology (ASTRO) 51st Annual Meeting, 2009/10/31-11/05, Chicago, IL USA

11: K. Yoshida, R. Sasaki, M. Nakabayashi, H. Nishimura, Y. Okamoto, Kawabe T, S. Hasegawa, N. Otsuki, Treatment Outcomes of Squamous Cell Carcinoma of External Auditory Canal and Middle Ear, American Society of Therapeutic Radiation Oncology (ASTRO) 51st Annual Meeting, 2009/10/31-11/05, Chicago, IL USA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡本 欣晃 (OKOMOTO YOSHIAKI)
神戸大学・大学院医学研究科・非常勤講師
研究者番号：20362791

(2) 研究分担者

佐々木 良平 (SASAKI RYOHEI)
神戸大学・医学部附属病院・特命准教授
研究者番号：30346267

杉村 和朗 (SUGIMURA KAZURO)
神戸大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：50167459

西村 英輝 (NISHIMURA HIDEKI)
神戸大学・医学部附属病院・特命講師
研究者番号：80444610

吉田 賢史 (YOSHIDA KENJI)
神戸大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：80351906

鈴木 陽子 (SUZUKI YOKO)
神戸大学・大学院医学研究科・技術補佐員
研究者番号：70448182

辻村 敏明 (TSUJIMURA TOSHIAKI)
神戸大学・大学院医学研究科・医学研究員
研究者番号：30403249

(3) 連携研究者

なし