

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08793

研究課題名（和文）膵臓癌における悪性形質メカニズムに関連するRRM1の機能解析と治療薬への応用

研究課題名（英文）Functional analysis of RRM1 related to malignant mechanisms in pancreatic cancer and its application to therapeutic agents

研究代表者

小野 宏晃（Ono, Hiroaki）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・講師

研究者番号：60466901

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）：難治癌である膵臓癌では根治的手術を施行しても高頻度に術後再発をきたす臨床的背景があり、未だ疾患予後の改善までには至っていない。その原因として膵臓癌における腫瘍特性としての極めて高い生物学的悪性度が考えられる。特に再発性膵癌は、より悪性度が高く治療抵抗性を示すことが臨床的に知られている。

本研究では、リボヌクレオチドリダクターゼに関連したRRM1遺伝子の分子機能に着目し、膵臓癌治療のキードラッグであるゲムシタビン併用新規治療薬としてのRRM1阻害剤の臨床的有用性の立証と、本研究を通してゲムシタビン抗癌剤耐性機序の解明を試みる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新規抗がん剤の開発と臨床導入は難治癌である膵臓癌において近年の治療成績の向上に寄与している。現在の標準治療は複数の抗癌剤を用いて治療する多剤併用療法によって行われている。膵臓癌のキードラッグであるゲムシタビンの作用機序を増強し、より効果的に臨床効果を増強させるために薬剤関連メカニズムの解明は必要である。さらに有効的な作用増強により低濃度での治療が可能となり副作用改善にもつながる。

研究成果の概要（英文）：Pancreatic cancer is an aggressive type of cancer, and even when radical surgery is performed, postoperative recurrence occurs frequently, and the prognosis has not yet been improved. One of the reasons for this is the extremely high biological grade of pancreatic cancer tumors. In particular, recurrent pancreatic cancer is clinically known to be more malignant and resistant to treatment.

The aim of this study is to develop novel therapeutic agents targeting tumor cells that have acquired resistance to gemcitabine, a key drug in the treatment of pancreatic cancer. We focus on the molecular function of the RRM1 gene related to ribonucleotide reductase and attempt to establish the clinical usefulness of RRM1 inhibitors as novel therapeutic agents in combination with gemcitabine in pancreatic cancer and to elucidate the mechanism of gemcitabine resistance through this study.

研究分野：消化器外科

キーワード：膵臓癌 RRM1 抗がん剤耐性

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在、消化器癌において飛躍的な医療技術の革新に伴う画像診断能の向上や様々な新規抗癌剤の開発は、治療成績と疾患予後への改善に寄与している。しかし膵臓癌は罹患数だけでなく死亡数も年々増加してきている臨床的背景があり、その5年生存率は10%程度にとどまり根治が未だ困難な難治性癌と知られている。

近年、膵臓癌においても抗癌剤を多剤併用した新規治療が試みられ、ゲムシタピンに nab-パクリタキセルを併用した GEM/nab-PTX 療法、5-FU にイリノテカンとオキザリプラチンを併用した FOLFIRINOX 療法は確かな臨床的有用性を示している。現在は、膵臓癌では外科的手術を基軸として抗癌剤治療を合わせて行う集学的治療が根治治療の主軸となった。

一方で、抗癌剤の多剤併用に伴う弊害としてその高い副作用が懸念され、事実抗癌剤の長期的投与は困難であることが多い。高齢者数が着実に増加しつつある本邦の医療背景において、抗癌剤の治療忍容性は治療特性上重要な要素であり、新しい抗癌剤治療の開発のみならず副作用の軽減化を図ることは今後の膵臓癌治療において喫緊の課題でもある。

膵臓癌では根治的手術を施行しても高頻度に術後再発をきたす臨床的背景に加え、再発性膵臓癌はさらに悪性度が向上し治療抵抗性を示すことが知られており、膵臓癌が難治性癌である理由の一つとなっている。そこでゲムシタピンに対する抗癌剤耐性と悪性形質獲得へ至る分子メカニズムにおける関連遺伝子として、リボヌクレオチドリダクターゼである RRM1 遺伝子に関する研究に着手した(2018 年度若手研究：18K15267、ゲムシタピンによる DNA ダメージ修復経路を抑制する RRM1 阻害の機能解析)。

2. 研究の目的

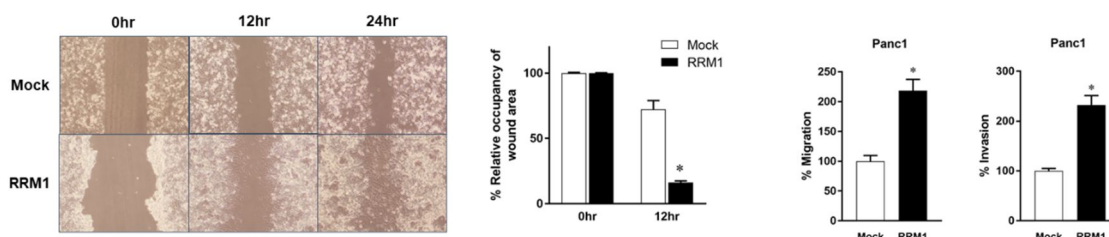
本研究では膵臓癌細胞がゲムシタピン耐性に加え、より悪性化した形質を獲得する分子メカニズムにおける RRM1 遺伝子の詳細な分子学的機能および関連遺伝子の同定を行う。ゲムシタピン耐性に関連した分子メカニズムの解明と、本研究の知見を応用した膵臓癌における新規治療薬としての RRM1 阻害の臨床的有用性を立証することを目的とする。RRM1 阻害とゲムシタピンの併用療法は、より効果的なゲムシタピンの腫瘍感受性が増強する合成致死の概念に基づく有効な治療戦略であり、さらには副作用を軽減させる可能性も有しており膵臓癌治療のさらなる成績向上に寄与する。

3. 研究の方法

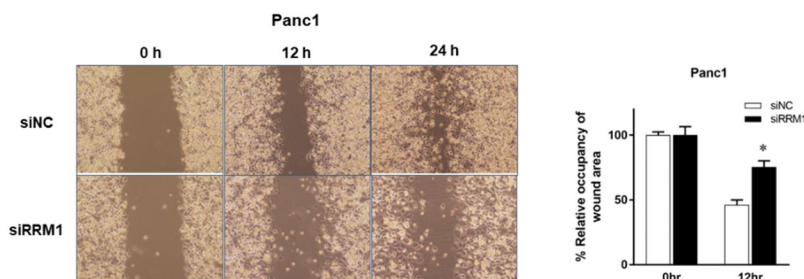
RRM1 と膵臓癌細胞における遊走浸潤能の評価に関しては Wound healing アッセイや Boyden chamber アッセイによって評価した。RRM1 関連シグナルに関しては RNA シークエンシングにより行い関連遺伝子の発現レベルは real-time RT-PCR 法により mRNA およびウエスタンブロット法によるタンパク発現解析にて評価した。

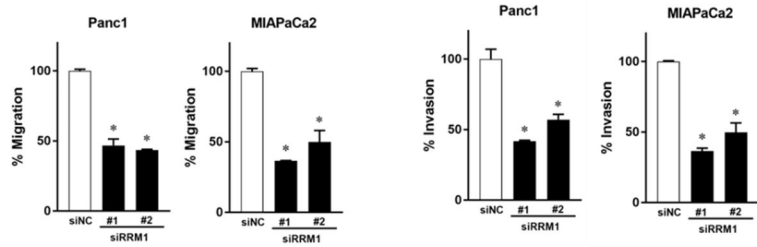
4. 研究成果

RRM1 発現亢進は膵臓癌において遊走浸潤能に関連する：膵臓癌細胞株における RRM1 発現上昇により、腫瘍細胞の遊走浸潤能が有意に亢進することが明らかとなった。

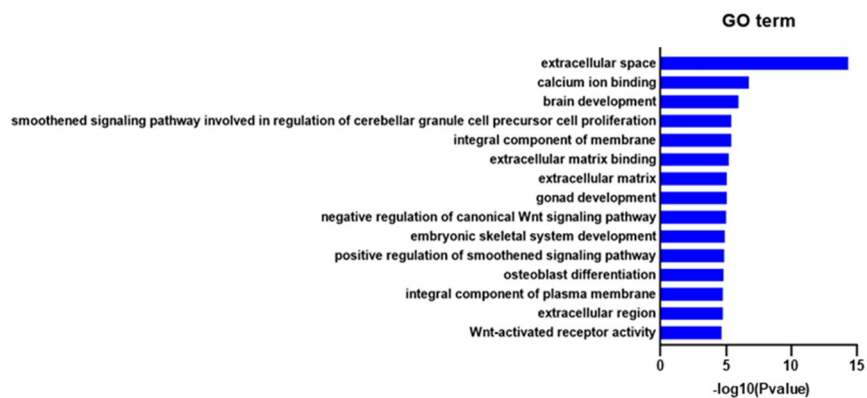
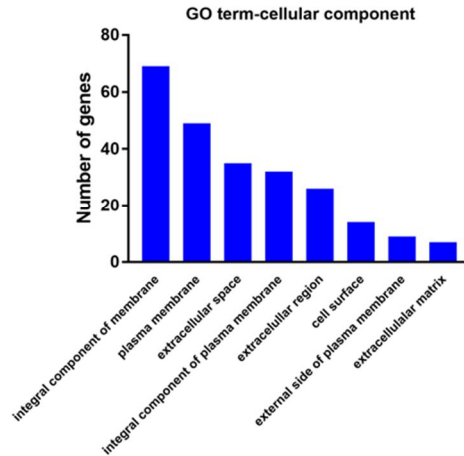
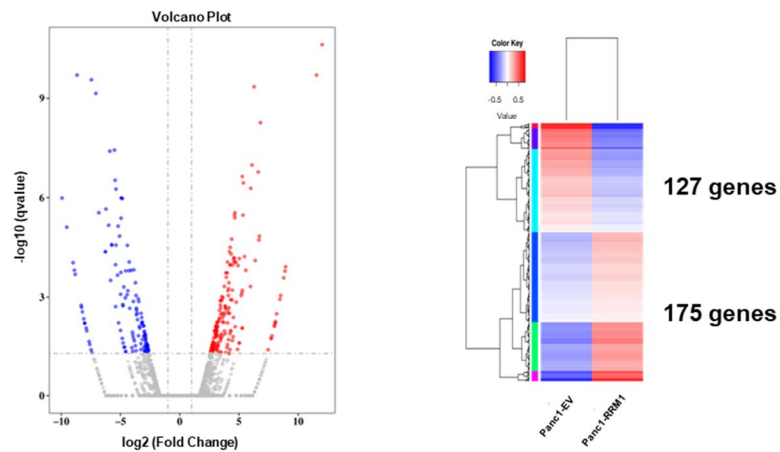


一方で、RRM1 発現低下により膵臓癌における遊走浸潤能が有意に低下することから、膵臓癌細胞株において RRM1 は遊走浸潤能に関連することを示した。



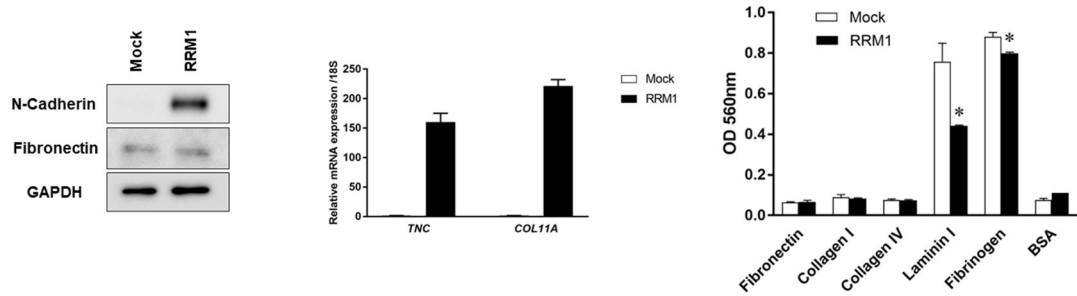


RRM1 発現亢進とその関連メカニズムの解明：RRM1 を発現亢進させた膵臓癌細胞株における網羅的遺伝子発現解析を RNA シークエンシングによって行った。さらに GO 解析によって RRM1 発現亢進は細胞外マトリックス関連遺伝子の発現レベルとの相関が示された。



細胞外マトリックスタンパクである N-カドヘリンの発現上昇が認められた。またテネascin C やコラーゲン 11 など膵臓癌において発現と予後との関連が認められている細胞外マトリックス

スタンパク質も RRM1 関連シグナル下流において発現変化すると考えられた。RRM1 発現亢進は N-カドヘリン発現上昇と EMT との関連が示された。



上記知見に関しては Ono H et al, RRM1 is mediated by histone acetylation through gemcitabine resistance and contributes to invasiveness and ECM remodeling in pancreatic cancer. Int J Oncol. 2023 Apr;62(4):51. International Journal of Oncology 誌に掲載された。また RRM1 阻害剤に関する知見もあり現在論文準備中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ono Hiroaki, Murase Yoshiki, Yamashita Hironari, Kato Tomotaka, Asano Daisuke, Ishikawa Yoshiya, Watanabe Shuichi, Ueda Hiroki, Akahoshi Keiichi, Ogawa Kosuke, Kudo Atsushi, Akiyama Yoshimitsu, Tanaka Shinji, Tanabe Minoru	4. 巻 62
2. 論文標題 RRM1 is mediated by histone acetylation through gemcitabine resistance and contributes to invasiveness and ECM remodeling in pancreatic cancer	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2023.5499	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 Kato Tomotaka, Ono Hiroaki, Fujii Mikiya, Akahoshi Keiichi, Ogura Toshiro, Ogawa Kosuke, Ban Daisuke, Kudo Atsushi, Tanaka Shinji, Tanabe Minoru	4. 巻 16
2. 論文標題 Cytoplasmic RRM1 activation as an acute response to gemcitabine treatment is involved in drug resistance of pancreatic cancer cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0252917 1-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0252917	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 Murase Yoshiki, Ono Hiroaki, Ogawa Kosuke, Yoshioka Risa, Ishikawa Yoshiya, Ueda Hiroki, Akahoshi Keiichi, Ban Daisuke, Kudo Atsushi, Tanaka Shinji, Tanabe Minoru	4. 巻 112
2. 論文標題 Inhibitor library screening identifies ispinesib as a new potential chemotherapeutic agent for pancreatic cancers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4641 ~ 4654
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15134	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ono Hiroaki, Kato Tomotaka, Murase Yoshiki, Nakamura Yutaro, Ishikawa Yoshiya, Watanabe Shuichi, Akahoshi Keiichi, Ogura Toshiro, Ogawa Kosuke, Ban Daisuke, Kudo Atsushi, Akiyama Yoshimitsu, Tanaka Shinji, Ito Hiromichi, Tanabe Minoru	4. 巻 11
2. 論文標題 C646 inhibits G2/M cell cycle-related proteins and potentiates anti-tumor effects in pancreatic cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-89530-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 小野宏晃、村瀬芳樹、小川康介、伊藤 剛、浅野大輔、石川喜也、上田浩樹、赤星径一、工藤 篤、田中真二、田邊 稔
2. 発表標題 膵臓癌の新規抗がん剤を評価する前臨床試験的な包括的実験モデルの構築
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山下宏成、小野宏晃、伊藤 晃、鷹翔大郎、奈良 篤、木村宗貴、森本紘一郎、八木宏平、石井 武、浅野大輔、石川喜也、上田浩樹、赤星径一、工藤 篤、田中真二、田邊 稔
2. 発表標題 膵癌に対する新規治療法を目指した、細胞増殖関連タンパク PCNA の機能解析
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村宗貴、小野宏晃
2. 発表標題 膵臓癌における新規治療薬の Clofarabine の有用性の検討
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroaki Ono, Yoshiki Murase, Daisuke Asano, Syuuichi Watanabe, Yoshiya Ishikawa, Hiroki Ueda, Keiichi Akahoshi, Atsushi Kudo, Shinji Tanaka, Minoru Tanabe
2. 発表標題 Evaluation of the efficacy of Ispinesib, a novel Eg5 inhibitor, for the treatment of high grade Pan-NENs
3. 学会等名 Joint Congress of the 26th Meeting of IAP and the 53rd Annual Meeting of JPS (第26回国際膵臓学会・第53回日本膵臓学会大会) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村宗貴、小野宏晃、田中真二、田邊 稔
2. 発表標題 膵臓癌における新規治療薬 Clofarabine の検討
3. 学会等名 第123回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小野宏晃、浅野大輔、石川喜也、渡邊秀一、上田浩樹、赤星径一、工藤 篤、田中真二、田邊 稔
2. 発表標題 膵臓癌の抗癌剤耐性における悪性形質獲得に関連するRRM1遺伝子の機能解析
3. 学会等名 第123回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小野宏晃、赤星径一、田中真二、田邊稔
2. 発表標題 RRM1 contributes to the malignant transformation by altering extracellular matrix proteins in pancreatic cancer cells
3. 学会等名 第80回日本癌学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村宗貴、小野宏晃、森本紘一郎、山下宏成、八木宏平、石井武、浅野大輔、上田浩樹、石川喜也、小川康介、赤星径一、工藤篤、田中真二、田邊稔
2. 発表標題 膵臓癌における新規治療薬Clofarabineの有用性の検討
3. 学会等名 第122回日本外科学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------