

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 25 年 6 月 28 日現在

機関番号：22304

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：平成 22 年度～平成 24 年度

課題番号：22591361

研究課題名（和文） RI アンチセンス化学療法の研究

研究課題名（英文） Chemotherapeutic enhancement of antitumor effect of Auger electrons-emitting antisense oligonucleotides on human neuroblastoma

研究代表者

渡辺 直行（WATANABE NAOYUKI）

群馬県立県民健康科学大学 診療放射線学部・教授

研究者番号：90311381

研究成果の概要（和文）：

生命のセントラルドグマである DNA の遺伝子情報の流れに係るメッセンジャーRNA（mRNA）を、その mRNA をセンス（sense）とした合成 核酸であるアンチセンス（antisense）で運ばれたラジオアイソトープ（RI）から放出されるオージェ（Auger）電子で破壊し、その蛋白質発現量を減少させることで、一定期間、細胞の増殖を抑制させることができることを本研究者は確認した（RI アンチセンス療法）。本研究では、ヒト神経芽細胞腫細胞の N-myc をセンスとする 15 mer のアンチセンスを担体とし、それにオージェ電子を放出する RI である放射性インジウム（In-111）を標識した In-111-アンチセンスを用いた RI アンチセンス療法に補助療法として化学療法を併用することで、In-111-アンチセンスによるヒト神経芽細胞腫に対する相加的、相乗的抗腫瘍効果を検討することを目的とした。cis-diamminedichloroplatinum(II) (CDDP) の抗腫瘍効果を培養ヒト神経芽細胞腫細胞と担癌 Balb/c ノードマウスで検討した。CDDP の抗腫瘍効果に 投与量依存性が観察された。CDDP 2mg/kg 程度の投与で癌細胞増殖の抑制が示された。腫瘍では、CDDP 5mg/kg 程度の投与でその退縮が認められた。In-111-アンチセンスとともに CDDP を投与した場合、癌細胞増殖の有意な抑制が認められた薬剤濃度でも腫瘍の有意な退縮を観察することができた。これは、培養ヒト神経芽細胞腫細胞と担癌 Balb/c ノードマウスで、CDDP の投与により In-111-アンチセンスの抗腫瘍効果が増強されたものと考えることができた。

研究成果の概要（英文）：

Auger electrons are able to create breaks in mRNA (messenger ribonucleic acids), giving them possible therapeutic utility against malignant tumor. The antitumor effect of combined use of In-111-labeled N-myc antisense oligonucleotides and cis-diamminedichloroplatinum (II) (CDDP) was investigated in human neuroblastoma intraperitoneally transplanted to BALB/c athymic mice. The effects of In-111-labeled N-myc antisense oligonucleotides against human neuroblastoma cells and transplanted to athymic nude mice were found elsewhere. The response of the tumor to CDDP was relevant to the dose administered. Regression of the tumor was observed when CDDP was administered at about 5 mg/kg/injection. The retardation of tumor growth was observed in the group to which CDDP was administered at about 2 mg/kg/injection. When CDDP was administered with In-111-labeled N-myc antisense oligonucleotides, regression of the tumor was observed in the group treated with In-111-labeled N-myc antisense oligonucleotides, and the retardation of tumor growth was observed in the group treated with In-111-labeled N-myc antisense oligonucleotides at the lower doses. These results indicate that CDDP enhances the antitumor effect of In-111-labeled N-myc antisense oligonucleotides against transplanted neuroblastoma in BALB/c athymic mice.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：

科研費の分科・細目：

キーワード：放射線科学、分子生物学、アンチセンス、RI 内用療法、がん、化学療法

1. 研究開始当初の背景

オージェ電子を放出するラジオアイソトープ (RI) である放射性インジウム (In-111) を標識した合成核酸鎖 (In-111-N-myc アンチセンス) は、ヒト神経芽細胞腫において増幅した N-myc mRNA に放射線による損傷を与えることで、がん細胞の増殖を抑制することができる (図 1)。この効果は、研究代表者らによって培養がん細胞とがん細胞を移植したヌードマウスを用いた RI アンチセンス療法の基礎研究で示された。しかしながら、その効果は一時的で、腫瘍の縮小までには至っていない。

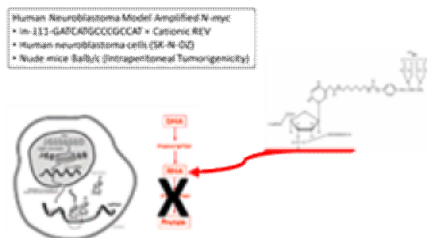


図 1. RI アンチセンス治療の原理

2. 研究の目的

RNA を分子ターゲットとする RI アンチセンス療法に DNA レベルで作用する抗がん剤の化学療法を併用することで、がん細胞の増殖がより効果的に抑制される可能性が考えられる (図 2)。本研究では、培養がん細胞や実験動物モデルから得られたインビトロ・インビボデータを解析し、化学療法の併用によるヒト神経芽細胞腫の治療効果とヒト神経芽細胞腫に対する RI アンチセンス化学療法の臨床応用への可能性を検討することを目的とする。

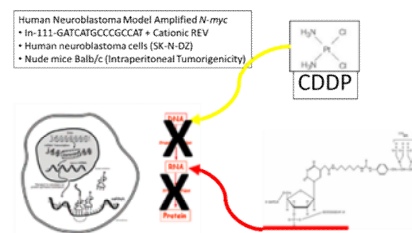


図 2. RI アンチセンス化学療法の原理

3. 研究の方法

本研究では、前述した目的を達成するために、1) N-myc アンチセンスを合成、In-111 で標識し、続いて陽電荷リポソームに包埋した In-111-N-myc アンチセンスの放射化学的安定性の検討、2) 培養したヒト神経芽細胞腫細胞で、陽電荷リポソームに包埋した In-111-N-myc アンチセンス、シスプラチン (抗がん剤)、ベラパミル (抗がん剤) の単独、併用投与後、セルカウントによる細胞増殖の抑制効果の評価と作用機序のウェスタンブロッティング、チミジンアップテイク、FDG アップテイクによる確認、3) 培養したヒト神経芽細胞腫細胞をヌードマウス腹腔内へ投与し作製した腹膜播種マウスモデルで、陽電荷リポソームに包埋し In-111-N-myc アンチセンス、シスプラチン (抗がん剤)、ベラパミル (抗がん剤) の単独、併用投与後、摘出した腫瘍の形態学的計測による腫瘍増殖の抑制効果の評価、を行う。

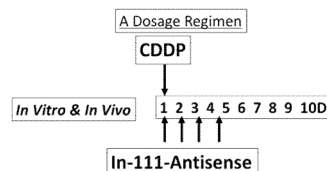


図 3. 薬剤投与計画

4. 研究成果

本研究では、ヒト神経芽細胞腫細胞の N-myc をセンスとする 15 mer のアンチセンス

を担体とし、それにオージェ電子を放出する RI である放射性インジウム (In-111) を標識した In-111-アンチセンスに図 3 のように CDDP を併用することで、In-111-アンチセンス化学療法によるヒト神経芽細胞腫に対する抗腫瘍効果を検討した。cis-diamminedichloroplatinum(II) (CDDP) の抗腫瘍効果は培養ヒト神経芽細胞腫細胞と担癌 Balb/c ヌードマウスを用いて測定された。CDDP の抗腫瘍効果に 投与量依存性が観察された。CDDP 2mg/kg 程度の投与で癌細胞増殖の抑制が示された。腫瘍では、CDDP 5mg/kg 程度の投与でその退縮が認められた。In-111-アンチセンスとともに CDDP を投与した場合、癌細胞増殖の有意な抑制 (併用の場合 90%、RI アンチセンス単独の場合 60%) が認められた薬剤濃度でも腫瘍の有意な退縮 (併用の場合 60%、RI アンチセンス単独の場合 30%) を観察することができた (図 4、5)。これにより、培養ヒト神経芽細胞腫細胞と担癌 Balb/c ヌードマウスで、CDDP の投与により In-111-アンチセンスの抗腫瘍効果が増強されたものと考えることができた。

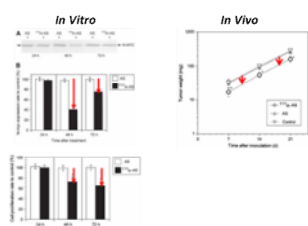


図 4. RI アンチセンスによる腫瘍細胞・腫瘍への効果

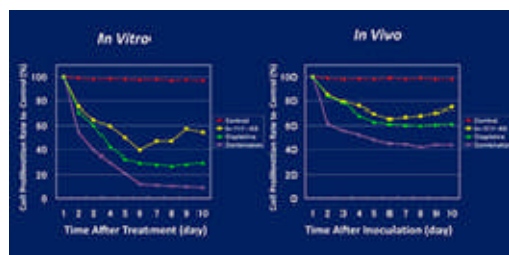


図 5. RI アンチセンス+CDDP (RI アンチセンス化学療法) による腫瘍細胞・腫瘍への効果

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 7 件)

渡邊直行、小児の放射線影響について、日本小児血液・がん学会雑誌、査読有、49 巻、2012、316 - 322

渡邊直行、佐々木康人、原子力緊急事態における RI 内用療法施設と仮設型内部被ばく患

者治療施設での内部被ばくの診療について、核医学、査読有、48 巻、2011、393-418

渡邊直行、佐藤弘之、河原浩、佐々木康人、原子力緊急事態における内部被ばく医療のための RI 内用療法施設利用と仮設型内部被ばく患者治療施設の併設に係る提言、核医学、査読有、48 巻、2011、121-137

Watanabe, N、Padhy AK、Oku S、Sasaki Y、Potentially requirement of PET apparatuses in Asia and Latin America including Mexico, World Journal of Nuclear Medicine、査読有、12 巻、2013、33-37

Watanabe N、Endo K、On personal dosimetry for members of the general public in Japan and the medical management of radiation accidents, Radiat Prot Dosimetry、査読有、149 巻、2012、469

Watanabe.N.、Endo.K.、Estimation of risk for the general public contaminated with radioiodine in nuclear accidents from the viewpoint of nuclear medicine physicians, Radiation Protection Dosimetry、査読有、147 巻、2011、489-490

Mariani G、Bruselli L、Kuwert T、Kim EE、Flotats A、Israel O、Dondi M、Watanabe N、A Review on the Clinical Uses of SPECT/CT, Eur J Nucl Med Mol Imaging、査読有、37 巻、2010、1959-85

〔学会発表〕 (計 7 件)

渡邊直行、RI 内用療法の現状と展望、第 51 回日本核医学会学術総会、2011 年 10 月 28 日、つくば市

渡邊直行、RI アンチセンス化学療法に係る基礎研究、第 51 回日本核医学会学術総会、2011 年 10 月 28 日、つくば市

渡邊直行、RI 内用療法—がんの低侵襲治療法の可能性について—がんと闘うアイソトープ、日本アイソトープ協会講演会、2010 年 12 月 18 日、東京国際フォーラム (東京)

Watanabe. N.、Thyroid cancer and nuclear accidents、Singapore general hospital nuclear medicine update 2012、2012 年 3 月 7 日、シンガポール

Watanabe N、Cis-Diamminedichloroplatinum (II) Enhancement of Antitumor Effect of In-111-Labeled N-Myc Antisense Oligonucleotides in Nude Mouse-Grown

Human Neurobalstoma、7th International Conference on Radiopharmaceutical Therapy, 2012年11月27日、フィンランド(レピ)

Watanabe.N.、Endo.K.、Dondi.M.、Modified PISAPED criteria in combination with ventilation scintigraphic finding for diagnosis of acute pulmonary embolism、RSNA2011(第97回北米放射線学会総会)、2011年11月30日、米国(シカゴ)

Watanabe.N.、Yoshizumi.K.、Tanada.S.、Sasaki.Y.、Imaging cancer therapeutic Trastuzumab bound on breast cancer cells with In-111-Biotin-Bn-EDTA-Anti-Human IgG1 monoclonal antibodies followed by the injection of macroaggregated albumin-avidin conjugate chase、IAEA International Conference on clinical PET and molecular nuclear medicine (iPET2011)、2011年11月9日、オーストリア(ウイーン)

[図書](計2件)

渡邊直行、小児科(金原出版)小児の放射線の影響について、(印刷中)

渡邊直行、チャイルドヘルスケア(診断と治療社)、放射線とはどんなものですか?、2012年、4-8

[産業財産権]

○取得状況(計1件)

商標登録

名称:モアジーベ

権利者:渡邊直行、(株)千代田テクノル

種類:第10類医療機械器具(仮設型内部被ばく患者RI治療施設について)

番号:5483666号

取得年月日:2012年4月6日

[その他]

最優秀研究賞受賞、乳がん分子標的治療薬の機能的画像研究、IAEA International Conference on clinical PET and molecular nuclear medicine (iPET2011)、2011年11月9~11日、オーストリア(ウイーン)
(<http://www.gchs.ac.jp/pressrelease/6608.html>)

6. 研究組織

(1)研究代表者

渡辺 直行 (WATANABE NAOYUKI)

群馬県立県民健康科学大学 診療放射線学部・教授

研究者番号:90311381

(2)研究分担者

遠藤 啓吾 (ENDO KEIGO)

京都医療科学大学・学長

研究者番号:10115800

(3)研究分担者

吉住 正和 (YOSHIKAZU MASAKAZU)

群馬県衛生環境研究所・感染制御センター・

独立研究員

研究者番号:70391810

以上