

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590977

研究課題名(和文) 消化器癌における新規癌関連遺伝子 REIC の機能解析と臨床応用に関する研究

研究課題名(英文) The analysis of the function and the clinical application of REIC/Dkk-3 gene in digestive organ cancer

研究代表者

加藤 博也 (Kato, Hironari)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：60619039

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：REIC/Dkk-3遺伝子(以下REIC)は、様々な固形癌において、その発現が低下している。今回我々は消化器癌の中でも難治である膵臓癌におけるREIC遺伝子治療の有効性について検証した。膵臓癌においても他の癌腫同様、REICの発現低下が認められた。また膵臓癌細胞に対するREIC遺伝子導入により、著明な細胞死が誘導され、動物実験においても有意な腫瘍縮小効果を認めた。REIC遺伝子治療は膵臓癌に対する有効な補助療法となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：REIC/Dkk-3, tumor suppressor gene, is down-regulated in various malignant tumors. In the current study, we assessed the effects of REIC/Dkk-3 gene therapy in pancreatic cancer. The REIC/Dkk-3 expression was lost in the pancreatic cancer cells, and tissues. Overexpression of REIC/Dkk-3 induced the apoptosis of the pancreatic cancer cells and inhibited tumor growth in xenograft mice model. REIC/Dkk-3 gene therapy is an attractive therapeutic tool for the pancreatic cancer.

研究分野：消化器内科

キーワード：REIC/Dkk-3 膵臓癌 遺伝子治療 癌抑制遺伝子

## 1. 研究開始当初の背景

消化器癌は、本邦における癌死亡原因の半数以上を占め、進行肝細胞癌により年間約3万5千人、膵臓癌では年間約2万3千人、胆管癌では年間1万8千人が癌死しており、有効な治療法の開発は急務となっている。これら難治性消化器癌は、比較的化学療法への反応性が低く、化学療法の補助的療法の開発が予後を改善するものと予想される。

REIC(reduced expression in immortalized cell)遺伝子は、当該施設において独自に単離・同定された癌関連遺伝子であり、種々の癌においてその発現が遺伝子レベル、蛋白レベルで低下しており、癌抑制遺伝子としての機能を持っている可能性が高い。消化器癌においても有効な治療ターゲットとなる可能性が考えられた。

## 2. 研究の目的

がん抑制遺伝子REICの難治性消化器癌(肝細胞癌、膵癌、胆管癌)における発癌における機能を解明し、遺伝子治療の標的分子となりえるか否かを明らかにし、臨床応用可能な治療法を開発するための基盤を確立する。

## 3. 研究の方法

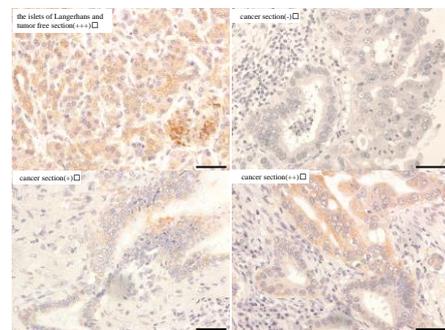
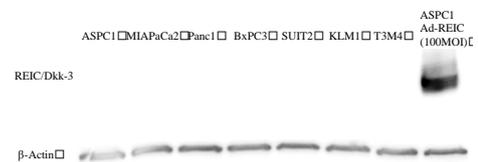
①REICの消化器癌における機能:消化器癌における、REICの発現を免疫組織染色およびWestern Blottingで解析する。REIC発現欠損細胞にREIC遺伝子を導入し、細胞増殖能、アポトーシス、細胞移動能、細胞浸潤能、幹細胞化について評価する。

②遺伝子治療、分子標的治療のターゲットとなりえるか否かの検証:それぞれの癌種で、標準的化学療法薬を用いて、REIC遺伝子導入による抗癌剤効果の変化をin vitroで検討する。

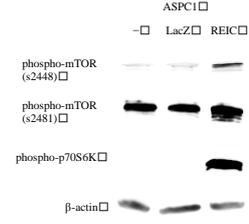
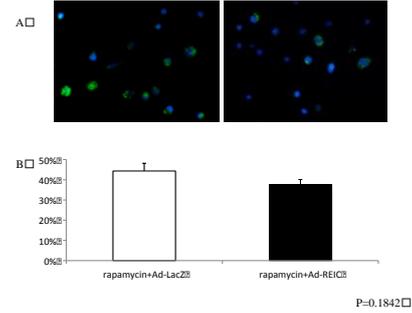
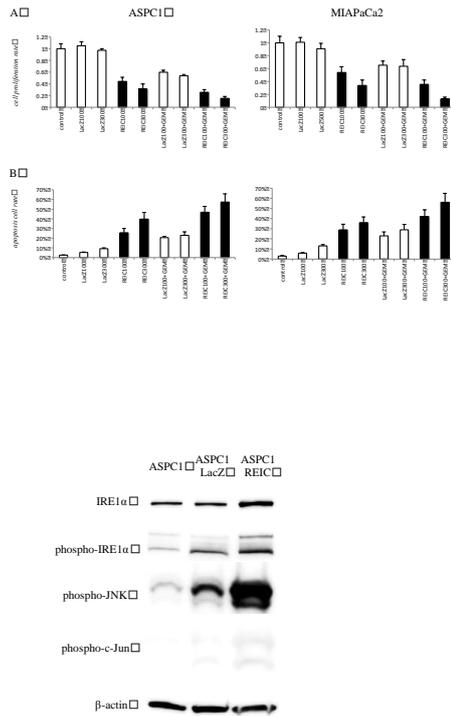
③臨床応用に向けての有効性、安全性の検証:マウス皮下にそれぞれの癌腫を皮下に接種したxenograftモデルを作成し、標準的化学療法とアデノウイルスベクターによるREIC遺伝子導入を組み合わせ、治療効果と安全性を検証する。

## 4. 研究成果

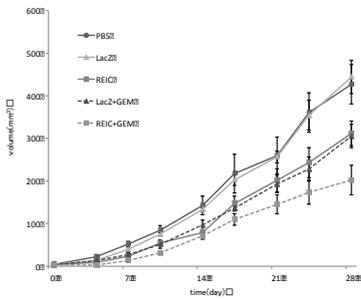
①膵癌細胞株のWestern Blotting、ヒト膵癌組織検体の免疫組織染色ともに、REIC発現の低下を認めた(下図)。



②膵癌細胞株に対するREIC遺伝子導入が著明なアポトーシスを誘導することを確認した。Western blotによる解析では、REIC遺伝子導入によりc-Jun N-terminal kinase経路の活性化に伴う癌特異的アポトーシス誘導を引き起こしていることが証明された(下図)。



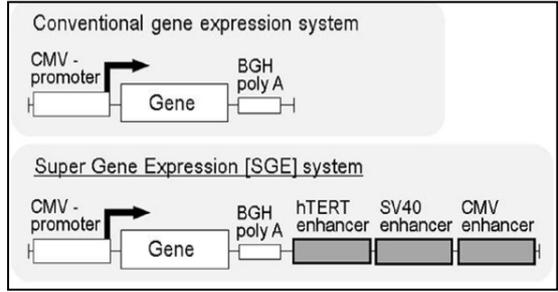
③膵癌細胞株を移植した xenograft マウスモデルにおいて、REIC 遺伝子導入治療は有意な腫瘍縮小効果を示した(下図)。



さらに autophagy を介して、化学療法との併用がさらなる抗腫瘍効果をもたらす可能性が示された。REIC 導入により mTOR シグナルが活性化され、autophagy を抑制することで薬剤耐性獲得阻害に働く可能性がある(下図)。

これらの研究成果は、REIC 遺伝子治療が膵癌に対して有効な補助療法となる可能性を示している。

さらに遺伝子導入効率を高めた新たなアデノウイルスベクター (SGE-REIC) の開発により、さらなる効果が期待されている。



現在、膵癌、肝細胞癌に対して SGE-REIC を用いた実験を進行中である。今後は現在進行中の他臓器癌(前立腺癌、悪性中皮腫)の臨床試験結果も踏まえて、臨床応用に向けて計画を進行していく。

### 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1件)

Uchida D(1番目), Shiraha H(2番目), Kato H(3番目), Nagahara T, Iwamuro M, Kataoka J, Horiguchi S, Watanabe M, Takaki A, Nouse K, Nasu Y(11番目), 他3名 : Potential of adenovirus-mediated REIC/Dkk-3 gene therapy for use in the treatment of pancreatic cancer. Journal of gastroenterology and hepatology. 2014 May;29(5):973-83. 査読有

[学会発表] (計3件)

- ① 内田大輔、REIC/Dkk-3 遺伝子による膵癌治療、JDDW2014、2014/10/23、東京
- ① Uchida D, The efficacy of REIC/Dkk-3 gene therapy for pancreatic cancer, DDW2014, May 3, 2014, Chicago, USA
- ② 内田大輔、REIC/Dkk-3 遺伝子導入による膵癌治療の検討、第44回日本膵臓学会、2013/7/25、仙台

[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 :

出願年月日 :

取得年月日 :

国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

加藤 博也 (Kato Hironari)

岡山大学 岡山大学病院 助教

研究者番号 : 60619039

### (2) 研究分担者

堤 康一郎 (Tsutsumi Koichiro)

岡山大学 岡山大学病院 助教

研究者番号 : 40610910

白羽 英則 (Shiraha Hidenori)

岡山大学 岡山大学病院 講師

研究者番号 : 40379748

山本 和秀 (Yamamoto Kazuhide)

岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科  
教授

研究者番号 : 90140491

那須 保友 (Nasu Yasutomo)

岡山大学 岡山大学病院 教授

研究者番号 : 20237572

### (3) 研究協力者

内田 大輔 (Uchida Daisuke)

岡山大学 岡山大学病院 医員

研究者番号 : 50749215