

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462119

研究課題名(和文) 新規ウイルス改変による治療耐性克服と膵癌治療への応用

研究課題名(英文) The improvement of therapy-resistance with modified new virus and application to the treatment in pancreatic cancer

研究代表者

江上 拓哉 (EGAMI, Takuya)

九州大学・医学(系)研究科(研究院)・共同研究員

研究者番号：40507787

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、新たなウイルスベクターを改変・作成するための基盤となりうる、膵癌の放射線耐や抗癌剤耐性に関わる因子の同定を行った。まず、膵癌細胞株でのS100A4のmRNA発現が放射線耐性に関わり、放射線治療抵抗性に重要な役割を持つ可能性があることを報告した。また、特発性肺線維症治療薬であるピルフェニドンが膵癌の癌間質相互作用の中心を担うヒト膵星細胞を標的とした新しい膵癌治療薬となりうる可能性があることを報告した。

研究成果の概要(英文)：We investigated the factors which were involved in the radioresistance and anticancer drug resistance in pancreatic cancer in order to create a foundation for modifying the new viral vectors. First, we found that S100A4 mRNA expression may predict radioresistance of pancreatic cancer cells and may play an important role in the poor response of pancreatic cancer cells to radiation therapy. Furthermore, we found that the antifibrotic agent, pirfenidone could be promising agents targeting desmoplasia by suppression of PSCs and production of growth factors and stromal components related to tumor-stromal interactions.

研究分野：医歯薬学

キーワード：膵癌 治療耐性 ウイルス

1. 研究開始当初の背景

膵癌はいまだに予後不良であり、手術療法に加えて、放射線や抗癌剤による集学的治療が試みられるが、しばしば抵抗性を示す。膵癌の分子生物学的研究の進歩により、ウイルス療法をはじめとする多くの分子生物学的治療が開発されつつある (Bardeesy, Nature reviews, 2002)。その中で細胞内侵入の機構が巧妙かつ効率的なアデノウイルスベクターがしばしば用いられるが、その細胞選択性、免疫応答による副作用などが問題となり (Sangro, J Clin Oncol, 2004)、新しい Drug Delivery system (DDS) の開発が必要である。申請者らは膵癌の浸潤、局所再発を抑制する為に HGF の antagonist である NK4 のアデノウイルスによる導入が有効であること、また抗癌剤や放射線との併用が導入効率を増強することを報告してきた (Egami, Clin Can Res, 2008, Can Sci 2009)。また、この導入効率増強機序として、放射線照射した膵癌はウイルスの細胞内移行に関与する dynamin 2 の発現増強 (Egami, Clin Cancer Res, 2008) など、ウイルスの endocytosis に関わる幾つかの因子が効率的な導入に重要な役割を担うことを報告してきた。そこで、これまでの放射線耐性や抗癌剤耐性についての研究から得た耐性機序、導入機序を基盤に新たなウイルスベクターを改変・作成する考えに至った。

2. 研究の目的

本研究では、ウイルスベクターの新たな開発・改変、並びにそのウイルスベクターを用いて放射線、抗癌剤耐性の克服とその膵癌治療への応用を目的としている。申請者らはこれまでに Drug delivery system (DDS) としてアデノウイルスベクターによる分子生物学的治療の可能性を追求してきており、新たなウイルスベクターを改変・作成するための基盤となりうる、膵癌の放射線耐性に関わる因子の同定、また膵癌間質を標的とした抗癌剤耐性に関わる因子の同定を行った。

3. 研究の方法

(1) 膵癌細胞での放射線耐性に関わる因子の同定

(2) 膵癌間質を標的とした、膵癌の抗癌剤耐性に関わる因子の同定

膵癌患者より得られる手術切除標本を用いて、ヒト膵星細胞の作成を行い、膵星細胞の癌間質相互作用を抑制する薬剤を文献的に網羅的に検索し、in vitro における分子生物学的作用の解析を行う。

膵癌細胞株とヒト膵星細胞株の直接共培養モデルにおける抗線維化薬の細胞間相互作用に及ぼす in vitro での分子生物学的的

用 (増殖能、遊走能、浸潤能、治療抵抗性) の解析を行う。また、共培養モデルにおける膵星細胞の働きを解析するため、膵星細胞の増殖能、増殖因子産生能 (TGF- β 、PDGF)、細胞外物質産生能 (コラーゲン、 α 1(I) フィブロネクチン) の変化を RNA、タンパク質レベルで解析する。

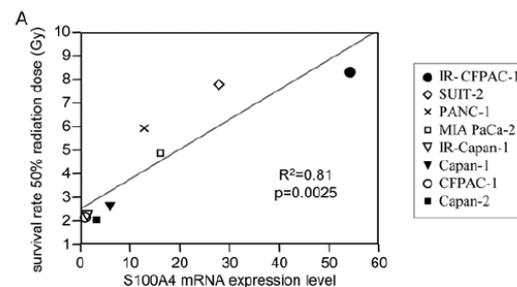
膵癌細胞株とヒト膵星細胞株をヌードマウスに同所移植を行い、膵癌マウスモデルを作製し、抗線維化薬投与による形成される膵癌組織の形態的評価や desmoplasia などの組織学的変化の評価、肝転移、肺転移および腹膜播種の頻度に与える影響の検討を行う。

膵癌マウスモデルにおける抗線維化薬および Gemcitabine 併用による膵癌治療効果の解析を行う。

4. 研究成果

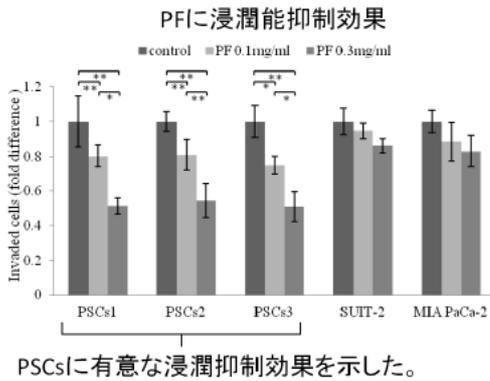
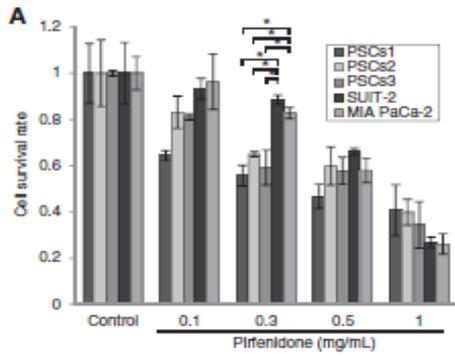
(1) 膵癌細胞での放射線耐性に関わる因子の同定

膵癌細胞株を用いて、放射線耐性株 (CFPAC-1, Capan-1) を作製し、マイクロアレイを用いて、親株と網羅的遺伝子解析を行った。膵癌細胞株での S100A4 の mRNA 発現と放射線耐性に有意な相関を認めたことから、膵癌細胞株での S100A4 の mRNA 発現が放射線耐性に関わる可能性が示唆された。



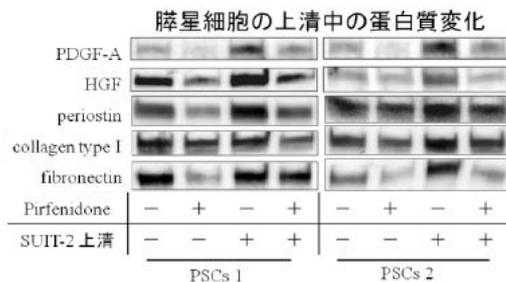
(2) 膵癌間質を標的とした、膵癌の抗癌剤耐性に関わる因子の同定

膵癌患者より得られる手術切除標本より、30種以上のヒト膵星細胞株を作成 (-SMA 陽性を確認) に成功し、実験に使用した。また、特発性肺線維症治療薬である、ピルフェニドン (pirfenidone, PF) を desmoplasia 抑制候補薬として同定し実験を行った。PF による膵癌細胞株の抑制効果は軽微であったが、PSCs は濃度依存性に増殖能、遊走能、浸潤能が有意に抑制された。



膵癌細胞株とヒト膵星細胞株の共培養モデルにおける抗線維化薬の細胞間相互作用に及ぼす in vitro での分子生物学的作用の解析

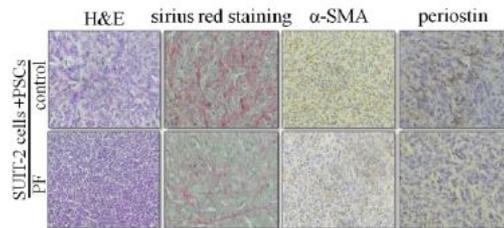
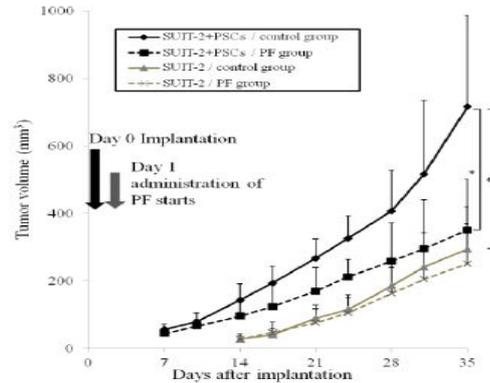
PF で処理したヒト膵星細胞の上清は、非処理群と比較して癌細胞の増殖能、浸潤能および遊走能増強作用が有意に低下した。PF で処理したヒト膵星細胞では control 群と比較して、上清中の TGF- β 1、PDGF-A、periostin の蛋白量が減少した。SUIT-2 の上清を PSCs に添加すると同液性因子と collagen-1 産生が増加するが、PF はこれを抑制することを明らかにした。



膵癌細胞株とヒト膵星細胞株の同所移植による膵癌マウスモデルへの抗線維化薬投与による膵癌の組織学的変化の検討

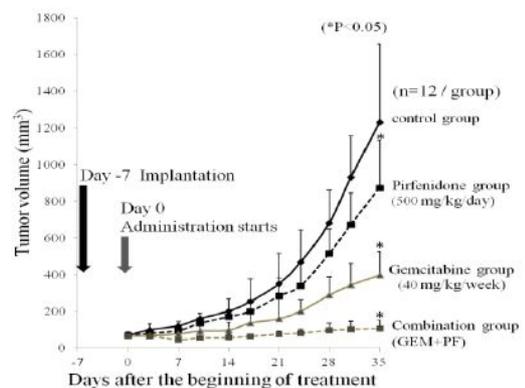
マウスモデルでは SUIT-2 とヒト膵星細胞を共移植した場合のみ、PF 投与群で有意に腫瘍形成が抑制され、組織学的にも collagen- α 1(SMA)、periostin の抑制を認めた。

SUIT-2 のみの移植では control 群と PF 群で有意な腫瘍形成抑制は認めなかった。



膵癌マウスモデルにおける抗線維化薬および Gemcitabine 併用による膵癌治療効果の解析

PF と Gemcitabine の併用によりヒト膵星細胞と SUIT-2 共移植膵癌マウスモデルにておいて、それぞれの単独投与群と比較して、腫瘍増殖が著明に抑制されることを明らかにした。



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2件)

Kozono S, Ohuchida K, Eguchi D, Ikenaga N, Fujiwara K, Cui L, Mizumoto K, Tanaka M. Pirfenidone inhibits pancreatic cancer

desmoplasia by regulating stellate cells. Cancer Research, 査読有, 73(7):2345-2356, 2013

doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3180.

Kozono S, Ohuchida K, Ohtsuka T, Cui L, Eguchi D, Fujiwara K, Zhao M, Mizumoto K, Tanaka M, S100A4 mRNA expression level is a predictor of radioresistance of pancreatic cancer cells. Oncol Rep. 査読有, 30(4):1601-1608, 2013

doi: 10.3892/or.2013.2636

〔学会発表〕(計2件)

吉田真樹、大内田研宙、千々岩芳朗、奥村隆志、田中友晴、佐田政史、堀岡宏平、藤原謙次、森山大樹、宮坂義浩、大塚隆生、高畑俊一、小田義直、水元一博、田中雅夫 calpain 阻害剤である calpain による膵癌細胞及び膵星細胞への抑制効果の検討. 第 115 回日本外科学会定期学術集会. 2015/4/16. 名古屋市

田中友晴、大内田研宙、水元一博、奥村隆志、千々岩芳朗、吉田真樹、佐田政史、堀岡宏平、鄭彪、赤川進、藤原謙次、仲田興平、宮坂義浩、前山良、大塚隆生、田中雅夫 トラニラストによる膵星細胞の抑制についての検討. 第 114 回日本外科学会定期学術集会. 2014/4/3. 京都市

〔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

江上 拓哉 (EGAMI, Takuya)

九州大学・医学研究院・共同研究員
研究者番号：40507787

(2) 研究分担者

水元 一博 (MIZUMOTO, Kazuhiro)
九州大学・大学病院・准教授
研究者番号：90253418

仲田 興平 (NAKATA, Kohei)
九州大学・大学病院・特別教員
研究者番号：30419569

(3) 連携研究者

なし