

島根大学プロジェクト研究推進 機構 『萌芽研究部門』	平成22年度	年度報告書	提出日 平成23年2月10日
① プロジェクト名	島根県に多い膵臓癌の撲滅をめざして		
② プロジェクトリーダー	本間良夫	所属	医学部生命科学講座
		電子メール	biohonma@med.shimane-u.ac.jp
③ プロジェクトの概要 (プロジェクトの最終年度における到達目標を簡潔に記入してください。)			
<p>島根県では、他の地域に比べ膵臓癌に罹る患者が多いという統計が出ているが詳細な検討は未だなされていない。1972年から1982年までは全国平均レベルあったが、1980年以降増加傾向にあり1999年までの統計資料によると、特に女性においては、膵臓癌による死亡率が1997-1999年の3年間は全国一位を続けている。これらの結果は、1999年以降の詳細な調査を速やかに行う必要があることを示している。疫学的に詳細に調べ、島根県における膵臓癌の実態を正確に捉え、原因を考察し膵臓癌の早期発見・治療法の改善につながる手段を考案することが島根大学として取り組むべき重要課題と考えている。</p> <p>これまでの研究成果で、がん死亡率に関してがん全体では全国平均を下回るものの膵臓癌は全国平均より統計的有意差を持って高いことを明らかにした。また県下一様に高いのではなく、県東部の特定の地域で有意に高いことを明らかにした。これまでの成果をもとに、22年度は予防・診断・治療の3つの柱に加えて、将来の基礎的研究基盤の充実を図るため「がん細胞の本質解明」を目指す研究の柱を立ち上げた。</p> <p>①島根県内の膵臓癌に関する詳細な疫学的調査を県内のがん拠点病院の患者を対象に開始する。これまでの研究成果を治療戦略に組み込む検討を開始する。また新たに分子レベルでの検討も開始し、新しい治療法の開発の糸口を探るとともに、本学の知的基盤の充実を目指す。膵臓癌を予防・診断・治療の3つの方向の研究に基盤的研究を加え、島根県における膵臓癌の激減を目指す長期的方策をたてる。</p> <p>②膵臓癌は難治性癌の代表と位置づけられているように、膵臓癌に関する研究は、国内外とも進んでいない。従って先行もしていないが遅れも取ってははいない。取り残されている難しい研究課題ではあるが、島根県においては特に取り組まなければならない重要課題であると考えている。</p> <p>③膵臓癌は、1)島根地方に特徴的に多い疾患であること、2)難治性のがんであり診断法治療法とも大いに改善する必要があること、3)がん疫学の専門家、膵臓癌治療の専門家、がん化学療法 of 専門家、がん細胞の専門家などの人材が充実してきており、効果的なプロジェクトチームを大学内で作り、研究を推進していける環境は整っている。このプロジェクトが成果をあげれば、大学の発展に大きく寄与できると考えている。</p>			
④ プロジェクトのメンバー及び役割			
氏名	所属(職)	本年度の役割分担	
本間 良夫 (プロジェクトリーダー)	医学部生命科学講座 (腫瘍生物学)	研究プロジェクトの全般と統括 膵臓癌細胞の特性の解明と新規治療薬の開発	
藤田 委由	環境保健医学講座 (公衆衛生学)	県内および全国的におよぶ膵臓癌の疫学的解析	
田邊 剛	環境保健医学講座 (公衆衛生学)	県内および全国的におよぶ膵臓癌の疫学的解析	
森山 一郎	医学部附属病院 腫瘍センター	膵臓癌患者に対する新しい治療戦略の開発	
加藤 太陽	医学部生化学講座 (病態生化学)	がん細胞の分子レベルにおける本質の解明	
秋元 美穂	医学部生命科学講座 (腫瘍生物学)	膵臓癌細胞の特性の解明と新規治療薬の開発	

⑤ (1) 本年度の研究計画目標の達成状況及び自己評価

(本年度当初の計画書に書かれた内容に沿って、計画と達成目標を箇条書きにしてください。また、その達成目標の項目ごとにその達成状況を記入し、以下の基準に従って自己評価して下さい。A:目標以上に成果をあげた B:ほぼ目標通りの達成度で予定した成果をあげている C:計画より遅れ気味であるが年度末には目標達成が可能である D:年度末までに目標達成は不可能である。自己評価がB以外の場合には、その原因についても記載して下さい。2～3月に行う計画のため未執行の場合には評価を空欄にして下さい。)

計画と達成目標	達成状況と自己評価
①島根県に特異的な膵臓癌発症要因を明らかにするため、これまで同定した膵臓がん集積地域の症例を対象に詳細な疫学調査を開始する。	<p>(自己評価) A</p> <p>研究計画および調査内容について、島根大学の倫理委員会の了承を得た。さらに膵臓癌集積地域の基幹病院（島根大学医学部附属病院、島根県立中央病院、松江赤十字病院、松江市立病院）の内科および外科から、共同研究の承認と、各医療機関での倫理委員会の承認を得、症例対照研究を開始した。現時点で5例の解析を行っている。</p> <p>島根県における膵臓癌の分布状況の解析を論文として報告した。</p>
②当院に来院した膵腫瘍患者に通常行われる造影CTとPerfusion CTを施行・比較し、診断の精度を向上出来るかを検討する。	<p>(自己評価) C</p> <p>新しいCT撮影装置に合わせてPerfusion CTの撮像プロトコルを組みなおすことで、過度の放射線被曝とならず、十分な情報が得られる撮像プロトコルを作成できあがった。しかし、この期間中に対象となる手術可能な症例が無かった。残念ながら、通常の造影CT画像、Perfusion CT画像、病理組織検体との対比をし、検査精度の比較検討を行う機会がなかった。</p>
③抗がん剤と併用して抗腫瘍活性を増強する梅エキスの作用を検討する。	<p>(自己評価) A</p> <p>梅エキスは正常細胞に対してはほとんど増殖抑制効果を示さないことから、がん細胞に対し選択性のあることを明らかにした。膵臓癌の第一選択薬であるgemcitabineとの併用において相乗的に作用する事をin vivoでも明らかにした。作用機序も明らかにした。</p>
④低酸素下で作用する薬剤の作用機構の解明と副作用の検討を行なう	<p>(自己評価) A</p> <p>新規化合物 ISIR-042 の毒性試験の結果は、肝機能に若干の低下を認めるが組織細胞などに異常を認めないことから毒性は軽微なものと判断された。作用機序の解明も進み、HIF-1αやAktのリン酸化が関与する事を明らかにした。がん幹細胞に対し、選択的に作用している可能性を示し、新しい治療戦略に期待を持たせた。</p>

⑤膵癌発症に関与すると考えられるタンパク質の機能解析を開始する。

(自己評価) A

- ・ NAC-1 を特異的に認識するモノクローナル抗体を作成した。さらにモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマから NAC-1 を認識する可変領域の遺伝子を同定した。
- ・ NAC-1 の核移行シグナルを同定した。
- ・ importin $\alpha 3$ が NAC-1 と直接結合し核移行を制御しており、importin $\alpha 1$ や $\alpha 6$ は関与しなかった。
- ・ 上記の実験をおこなう過程で、タンパク質間相互作用状態を安価、簡便、短時間でリアルタイムに観察できる可視化技術を考案した。(現在、特許出願明細書作成中)
- ・ N 末端に存在する NAC-1 の BTB 領域により二量体形成し、点突然変異 Y86A の導入により二量体形成が阻害されることを明らかにした。
- ・ C 末端に存在する NAC-1 の BEN 領域が DNA 結合領域であり、その結合コンセンサス配列を決定した。
- ・ タイムラプス蛍光顕微鏡を用いた細胞内動態解析により、核における NAC-1 の流動性を観察した。

(2)プロジェクト全体の自己評価(プロジェクト全体としての達成目標から、今年度の研究成果がこれまでの経過・成果にもとづいてどの段階にあるのかを明示して下さい。また、各グループ間での連携状況についても記入してください。)

● プロジェクト全体評価(自己評価) プロジェクト全体としての達成目標に対する今年度の研究成果の達成状況について

(自己評価) B+

県東部の基幹病院の協力を得て、膵臓がん集積地域の症例を対象に詳細な疫学調査を開始出来たことは大きな進展だった。今後の解析結果に期待できる基盤を確立した。画像診断においては、新しい試みを準備したが残念ながら適用症例を試す機会が無かった。手術適用になる患者が極端に少ないことから、手術可能な早期に発見できる体制作りが急務である事を痛感した。

抗がん剤の開発研究においては、大きな進展があった。特に青梅エキスの抗腫瘍効果については、実験動物において治療効果を示せた。正常細胞とがん細胞との選択性も明らかにしそのメカニズムの一端も示した。今すぐにでも患者に適用できるので貴重な研究成果だと考えている。がん関連遺伝子 NAC-1 の構造と機能の解明がおおいに進展した。治療の分子標的として新しい治療戦略の構築に導くものと期待できると判断している。4つの方向からのアプローチがそれぞれ着実に進行していたが、画像診断において患者で実際に実施する機会が無かったことから自己評価をBの上とした。

今まではメンバー間の連携もうまく行き、将来への大きな布石が打てたと考えている。しかし今後は新しいメンバーを加え研究プロジェクトを拡充していく事がさらなる発展に繋がるポイントであると考えている。

● 各グループ間またはメンバーとの連携状況

現在のメンバーはすべて医学部内なので、ひんばんに情報交換を行なっているので、連携はスムーズに行なえている。今後は、腫瘍免疫や臨床研究のメンバーを加えて、さらにこの研究プロジェクトを拡充したい。

⑥ 公表論文、学会発表など(当該研究に関連した本年度の公表論文、学会発表、特許申請の件数を一覧表に記入して下さい。発明等に関しては、差し支えない範囲で記載して下さい。)

論文掲載 (総件数)	8
学会発表 (総件数)	17
特許出願 (総件数)	0

【内訳】

● 論文

1. Yamaguchi N, Tanabe T, Oshiro H, Nakabayashi N, Amano H, Fujita Y. Geographical Analysis of Pancreatic Cancer Mortality in Shimane Prefecture, Japan, 1985 to 2006. Shimane Journal of Medical Science 2010, 27:9-16.
2. Tanabe T, Yamaguchi N, Eishi Y, Fujita Y. The roles of NOD like receptors in inflammation are different between Japanese and Caucasian. The Inflammation and Regeneration, in press.
3. Takahashi T, Kawakami K, Mishima S, Akimoto M, Takenaga K, Suzumiya J, Honma Y. Cyclopamine induces eosinophilic differentiation and upregulates CD44 expression in myeloid leukemia cells. Leukemia Research, in press.
4. Kadota C, Ishihara S, Aziz MM, Rumi MA, Oshima N, Mishima Y, Moriyama I, Yuki T, Amano Y, Kinoshita Y. Down-regulation of single immunoglobulin interleukin-1R-related molecule (SIGIRR)/TIR8 expression in intestinal epithelial cells during inflammation. Clin Exp Immunol. 2010, 162(2):348-61.
5. Rahman FB, Ishihara S, Aziz MM, Mishima Y, Oshima N, Li YY, Sanchez-Siles AA, Otani A, Oka A, Kusunoki R, Tada Y, Moriyama I, Ishimura N, Yuki T, Kazumori H, Amano Y, Sato S, Ansary MU, Kinoshita Y. Heparin-binding EGF-like factor augments esophageal epithelial cell proliferation, migration and inhibits TRAIL-mediated apoptosis via EGFR/MAPK signaling. Scand J Gastroenterol 2010, 45:1350-9.
6. Mishima Y, Ishihara S, Aziz MM, Oka A, Kusunoki R, Otani A, Tada Y, Li YY, Moriyama I, Oshima N, Yuki T, Amano Y, Matsumoto S, Kinoshita. Decreased production of interleukin-10 and transforming growth factor- β in Toll-like receptor-activated intestinal B cells in SAMP1/Yit mice. Immunology 2010, 131:473-87.
7. Otani A, Amano Y, Koshino K, Takahashi Y, Mishima Y, Imaoka H, Moriyama I, Ishimura N, Ishihara S, Kinoshita Y. Is autofluorescence imaging endoscopy useful for determining the depth of invasion in gastric cancer? Digestion 2010, 81:96-103.

● 学会発表

1. The roles of Nod like receptors in granulomatous diseases, inflammation, and carcinogenesis. 14th international congress of immunology. August 22-27 2010, Kobe
2. 当院で病理学的に確定診断された膵臓癌についての検討—全国膵がん登録との比較—。第 96 回日本消化器病学会総会(2010年4月22日-24日,新潟市)
3. ヒト膵癌細胞における COL3A1 発現と上皮間葉移行の抑制との関連性。第 69 回日本癌学会総会(2010.9.22-24, 大阪)
4. 転写制御因子NAC-1 (nucleus accumbens-associated protein 1) の機能ドメインおよび細胞内動態の解析 第 69 回日本癌学会学術総会 (平成 22 年 9 月 23 日, 大阪)

● 特許出願

岡崎宏亮、成相裕子、加藤太陽、浦野健、安俣、簡便、短時間でタンパク質相互作用をリアルタイムに可視化する技術 (特許出願明細書作成中)

⑦外部資金獲得状況（当該プロジェクトに関連した外部資金について一覧の各項目に総件数、金額を記入して下さい。）

■外部資金獲得状況一覧		件数	金額(千円)
(1) 科研費 (配分額は間接経費を含む)		2	3,213
(2) 科研費以外の外部資金	受託研究	3	33,392
	共同研究	1	4,000
	寄附金・助成金		
	合計	6	40,605

【一覧内訳】

(1) 科研費 (科目ごとに、テーマ、研究者、金額をそれぞれ列挙してください。)

基盤(C)「自然免疫系の活性制御システムの構築」(研究者：田邊剛、江石義信、山口奈津、天野宏紀) 1,900 千円

研究活動スタート支援「分裂酵母へテロクロマチンの安定性ならびに制御因子の解析」(研究者:加藤太陽) 1,313 千円

(2) その他外部資金 (一覧の項目別に、テーマ、研究者、金額を列挙してください。)

- 1) 受託研究 「新規分化誘導型抗がん剤の活性・毒性評価に関する研究」
(独立行政法人医薬基盤研究所) (研究者：本間良夫) 18,000 千円
- 2) 受託研究 「ヘテロクロマチン確立メカニズムの解明」(科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業個人型研究・さきがけタイプ) (研究者：加藤太陽) 13,000 千円
- 3) 受託研究 「健康なまちづくりのための分析調査」(浜田市) (研究者：藤田委由、天野宏紀) 2,392 千円
- 4) 共同研究 「血中アミノ酸の解析による健康状態の判定」(味の素株式会社と) (研究者：田邊剛、藤田委由、岡本直幸、安東敏彦、山本浩史、堀江吉) 4,000 千円

⑧その他特筆すべき成果(受賞、シンポジウムの開催、産学連携・地域連携に関する各種見本市、展示会への出展等も含む)

なし

⑨ 本年度の主要な研究成果 (図, 表, ポンチ絵などを多用して, 2ページ以内にわかりやすくまとめてください)

各グループとも予定通りやそれ以上の研究成果を出したが、青梅エキス MK615 の膵臓癌に対する治療効果に関する研究成果に絞って紹介する。

青梅エキス MK615 は、多くのがん細胞の増殖を濃度依存的に阻害した。しかし正常細胞であるヒト臍帯血管内皮細胞 (HUVEC) やマウス骨髄細胞の増殖に対してはむしろ促進した (図 1)。がん細胞への選択性を MK615 は示した。

ヌードマウスにヒト膵臓癌細胞 MIAPaCa-2 細胞を移植した実験系において、梅エキスは腫瘍の増殖を抑制した。膵臓癌での第一選択薬である gemcitabine との併用において著しい治療効果を示した (図 2)。このとき、副作用はほとんど認められなかった。

梅エキスによるがん細胞の細胞死の誘導に活性酸素 (ROS) が関与する事を明らかにした。なお正常細胞に対しては ROS の産生を誘導しない事から、がん細胞と正常細胞の MK615 に対する選択性は ROS の産生の差異で少なくとも一部は説明できる事を示した (図 3)。

今までに、青梅エキスの治療効果についての断片的知見や *in vitro* での増殖抑制効果は知られていたが、今回はその作用メカニズムの一端とがん細胞選択性を明らかにした。動物実験系において顕著な治療効果を示した。今後は患者から採取したがん細胞に対する効果を検討するとともに、大規模な臨床試験を行い科学的に青梅エキスの膵臓癌治療における有用性を明らかにしたい (図 4)。

図 1 がん細胞選択性

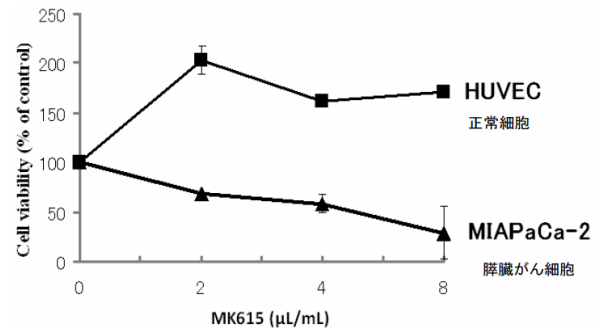


図 2 ヒト膵臓癌細胞移植マウスにおける MK615 と gemcitabine による腫瘍抑制効果

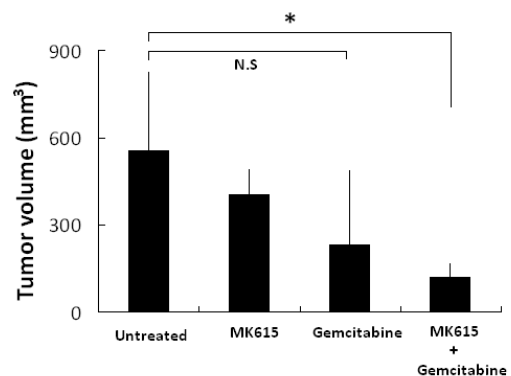


図 3 青梅エキスの作用機構とがん細胞選択性

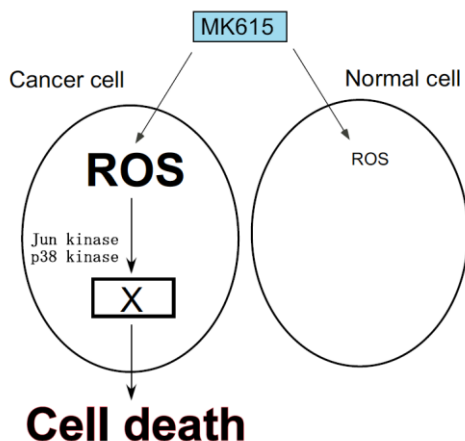


図 4 研究開発のながれ

