

膵癌症例の術後転移再発抑制を目差した慢性肝炎治療薬
3 - オキシゲルミルプロピオン酸重合体を用いた臨床治験に関する研究

業務主任者 中山 敬一 九州大学生体防御医学研究所 主幹教授

研究要旨

膵癌は現在のところ有効な治療アームはなく治療法の開発が希求されている。膵臓癌は浸潤・転移能が非常に高く、また他の癌と比較して癌間質が豊富であることから、癌間質相互作用を標的とした転移抑制剤は、膵臓癌の進行を抑制する戦略として期待される。Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)/CCL2 は癌間質相互作用に働く分子の1つであり、癌細胞の浸潤・血管新生・転移を促進する。われわれは癌転移モデルマウスを作製し、MCP-1 の抑制が強力に癌転移を阻害することを発見した。本申請課題の対象薬剤である3 - オキシゲルミルプロピオン酸重合体（商品名：セロシオン）はMCP-1 に対し拮抗作用を持ち、現在は慢性肝炎の治療薬として使用されているが、実際に癌転移モデルマウスに投与したところ、3 - オキシゲルミルプロピオン酸重合体には強い癌転移抑制作用があることが判明した。そこで本研究では、膵癌に対する3 - オキシゲルミルプロピオン酸重合体の抗腫瘍効果あるいは承認済み薬剤との併用による上乗せ効果、さらにMCP-1 を治療標的とした新たな分子標的療法の確立をめざす。

併せて、前臨床試験を終えて有効性を確認した乳癌症例での安全性試験への準備、さらにすでに血液サンプルを集積した大腸癌症例におけるコンパニオン診断マーカーとしての意義についても進捗を報告する。

動物モデルによる膵癌進展・転移抑制効果の検討に関する研究

中山敬一・九州大学生体防御医学研究所・主幹教授

3 - オキシゲルミルプロピオン酸重合体による癌転移抑制効果に関する臨床研究

三森功士・九州大学病院別府病院外科・教授

固形がんの再発転移においてコンパニオン診断マーカーとなるCCL2 に関する研究

森 正樹
大阪大学大学院消化器外科・教授

有効な治療アームはなく治療法の開発が希求されている。膵臓癌は浸潤・転移能が非常に高く、また他の癌と比較して癌間質が豊富であることから、癌間質相互作用を標的とした転移抑制剤は、膵臓癌の進行を抑制する戦略として期待される。Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)/CCL2 は癌間質相互作用に働く分子の1つであり、癌細胞の浸潤・血管新生・転移を促進する。われわれは癌転移モデルマウスを作製し、MCP-1 の抑制が強力に癌転移を阻害することを発見した。本申請課題の対象薬剤である3 - オキシゲルミルプロピオン酸重合体（商品名：セロシオン）はMCP-1 に対し拮抗作用を持ち、現在は慢性肝炎の治療薬として使用されているが、実際に癌転移モデルマウスに投与したところ、3 - オキシゲルミルプロピオン酸重合体には強い癌転移抑制作用があることが判明した。そこ

A. 研究目的

動物モデルによる膵癌進展・転移抑制効果の検討に関する研究：膵癌は現在のところ有

で本研究では、膵癌に対する 3 - オキシゲルミルプロピオン酸重合体の抗腫瘍効果あるいは承認済み薬剤との併用による上乗せ効果、さらに MCP-1 を治療標的とした新たな分子標的療法の確立をめざす。

3 - オキシゲルミルプロピオン酸重合体による癌転移抑制効果に関する臨床研究

臨床研究：既に前臨床研究を終えている乳がんについて、臨床試験あるいは医師主導型試験を目指して鋭意準備中である。膵癌症例に用いるための準備として勧めている。

固形がんの再発転移においてコンパニオン診断マーカーとなる CCL2 に関する研究：さらに、膵癌症例において 3 - オキシゲルミルプロピオン酸重合体を将来的に使用する際のコンパニオン診断マーカーとして CCL2 活性あるいは FBXW7 の有用性が期待されている。われわれは既に集積を終えている大腸癌 80 症例の経時的サンプルを用いて CCL2 の発現と術再発との関係について明らかにする。

B. 研究方法

動物モデルによる膵癌進展・転移抑制効果

検討に関する研究：マウス膵癌細胞株 PANC02 に蛍光タンパク質 tdTomato をコードする遺伝子をトランスフェクションし、tdTomato 発現する株を樹立する。それを C57BL/6 マウス（野生型）または Mx1-Cre/Fbxw7(F/F) マウス（既に poly(I):poly(C) を注射して骨髄由来細胞における Fbxw7 遺伝子を破壊したマウス）の膵臓に同種同所移植し、主要臓器（主に肝臓）における重量測定、肉眼的検査、顕微鏡的検査、免疫蛍光抗体法検査、等を行い、転移率や転移巣の大きさを評価し、宿主側の Fbxw7 の有無（特に骨髄由来細胞における Fbxw7 の有無）が転移率や転移巣の増大に影響するかどうかを検討する。

3 - オキシゲルミルプロピオン酸重合体による癌転移抑制効果に関する臨床研究

対象疾患 トリプルネガティブ型の根治術可能乳がんにおいて、根治術後補助療法患者に対し

て投薬。被験者数：9～12 例（シングルアーム）を計画している。治験薬投与から 1 年間。試験終了後、同意を得られた患者に対して治験薬を投与し試験終了後 4 年間まで経過観察。

1) 安全性 主要評価項目：術後アジュバンド（抗がん剤）との併用投与における有害事象（身体所見、血算、血液生化学検査）、2) 有効性 主要評価項目：治験薬投与後 1 年間の最大対量 (MTD) 及び用量制限毒性 (DLT) をプライマリーエンドポイントとする。5 年間まで経過観察する。

固形がんの再発転移においてコンパニオン診断マーカーとなる CCL2 に関する研究

臨床研究：大腸癌初回根治術を行った stage 、 、 のうち、本研究に同意を得られた 80 例を対象とした。術前、術後 1 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月、1 年、2 年に CCL2 を測定し、臨床病理学的因子および臨床経過との関連について解析を行った。手術療法および術後補助化学療法、術後サーベイランスは大腸癌治療ガイドラインに沿って施行した

C. 研究結果

動物モデルによる膵癌進展・転移抑制効果

検討に関する研究：マウス膵癌細胞株 PANC02 に蛍光タンパク質 tdTomato をコードする遺伝子をトランスフェクションし、tdTomato 発現する株を樹立した。C57BL/6 マウス（野生型）の膵臓にその細胞株（ 5×10^5 個）を移植し、死亡するまでの時間を検討したところ、ほとんどのマウスは移植後 45～50 日で死亡することが明らかとなった。死亡個体を解剖してみると、肝臓に 1～数個の肉眼的な転移巣を認めた。また腹膜播種している個体も数例あったが、これは転移巣というよりも、移植時の人為ミスによって腹膜へ播種された可能性が高いと考えられた。

さらに C57BL/6 マウス（野生型）または Mx1-Cre/Fbxw7(F/F) マウス（既に poly(I):poly(C) を注射して骨髄由来細胞における Fbxw7 遺伝子を破壊したマウス）の膵臓に同種同所移植し、主要臓器（主に肝臓）

における重量測定、肉眼的検査、顕微鏡的検査、免疫蛍光抗体法検査、等を行い、転移率や転移巣の大きさを検討した。現在まで骨髄特異的 Fbxw7 コンディショナルノックアウトマウスの方が野生型マウスよりも転移数や転移巣のサイズが大きい傾向が認められているものの、有意差が出るまでには至っておらず、もう少しサンプル数を増やして統計的な有意差を検討する必要がある。

3 - オキシゲルミルプロピオン酸重合体による癌転移抑制効果に関する臨床研究：本試験計画については、平成 26 年 11 月 25 日に PMDA 薬事戦略相談（事前面談）を受けた結果を反映させ作成している。

固形がんの再発転移においてコンパニオン診断マーカーとなる CCL2 に関する研究：CCL2 は術後 3 ヶ月まで緩やかに上昇し 6 ヶ月から陰転化していた。この推移は stage 毎でも同じであったが、再発 6 例で、再発確認時まで上昇もしくは再上昇していた。

D. 考察

動物モデルによる膵癌進展・転移抑制効果の検討に関する研究：3 - オキシゲルミルプロピオン酸重合体（商品名：セロシオン）は CCL2 の作用を抑制して転移を阻害するため、骨髄特異的 Fbxw7 コンディショナルノックアウトマウスにおいて転移能の差がないと 3 - オキシゲルミルプロピオン酸重合体の効果は期待できない。既にわれわれはメラノーマ・肺癌・乳癌細胞株において骨髄特異的 Fbxw7 コンディショナルノックアウトマウスにおいて転移能の増大を認めているが、それらの評価系は主に肺転移であった。今回の主要な転移先臓器は解剖学的に肝臓であることが予想され、肺転移の結果がそのまま適応できるかどうかは不明である。つまり本研究は、用いた癌細胞の種類と標的転移臓器が従来の研究と異なっており、3 - オキシゲルミルプロピオン酸重合体が多くのがんにおいて広く利用できるかどうかを問う重要な研究になると考えられる。

3 - オキシゲルミルプロピオン酸重合体による癌転移抑制効果に関する臨床研究：あくまで膵癌症例に対する試験にむけての予備的研究であるが、安全性、有用性が確認できれば、トリプルネガティブ乳癌の社会的ニーズは大きく、こちらを併せて有用な治験が得られることが期待される。

固形がんの再発転移においてコンパニオン診断マーカーとなる CCL2 に関する研究：CCL2 の発現由来は宿主側であり、術後なんらかの理由で常に CCL2 が過剰に発現している状況下としては、すなわち、cancer niche が形成されようとしている状態が保たれている症例では高頻度に転移再発が生じていることが推察される。

E. 結論

本年度はマウスにおける膵癌同種同所移植系の確立と、その時間経過および対照と検討群（骨髄特異的 Fbxw7 コンディショナルノックアウトマウス）における転移能の比較を行った。野生型マウスに比較して骨髄特異的 Fbxw7 コンディショナルノックアウトマウスにおいて PANC02 の転移能の増加傾向は認められたが、統計的に有意な差は得られなかった。しかし、サンプル数を増やせば統計的な有意差が得られることが期待され、今後も同様の検討を続けている方針である。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

初年度であるため、本研究課題の直接の成果はない。ここでは、本研究に関連した論文・学会発表を記載する。

G-1. 論文発表

1. Yumimoto, K., Akiyoshi, S., Ueo, H., Sagara, Y., Onoyama, I., Ueo, H., Ohno, S., Mori, M., Mimori, K. and Nakayama, K.I. F-box protein Fbxw7 inhibits cancer metastasis in a

- non-cell-autonomous manner. *J. Clin. Invest.* **in press** (2015).
2. Adachi, S., Homoto, M., Tanaka, R., Hioki, Y., Murakami, H., Suga, H., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Hatta, T., Iemura, S. and Natsume, T. ZFP36L1 and ZFP36L2 control LDLR mRNA stability via the ERK-RSK pathway. *Nucleic Acids Res.* **42**, 10037-10049 (2014).
 3. Yamauchi, T., Nishiyama, M., Moroishi, T., Yumimoto, K. and Nakayama, K.I. MDM2 mediates nonproteolytic polyubiquitylation of the DEAD-Box RNA helicase DDX24.
 4. Yugi, K., Kubota, H., Toyoshima, Y., Noguchi, R., Kawata, K., Komori, Y., Uda, S., Kunida, K., Tomizawa, Y., Funato, Y., Miki, H., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Kashikura, K., Endo, K., Ikeda, K., Soga, T. and Kuroda, S. Reconstruction of insulin signal flow from phosphoproteome and metabolome data. *Cell Rep.* **8**, 1171-1183 (2014).
 5. Kanatsu-Shinohara, M., Onoyama, I., Nakayama, K.I. and Shinohara, T. Skp1-Cullin-F-box (SCF)-type ubiquitin ligase FBXW7 negatively regulates spermatogonial stem cell self-renewal. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **111**, 8826-8831 (2014).
 6. Takahashi Y...Mimori K (last) et al. The AURKA/TPX2 axis drives colon tumorigenesis cooperatively with MYC. *Ann Oncol* (in press)
 7. Kurashige J,...Mimori K (last), et al. Epigenetic modulation and repression of miR-200b by cancer-associated fibroblasts contribute to cancer invasion and peritoneal dissemination in gastric cancer. *Carcinogenesis.* **36**: 133-41. 2015
 8. Hamabe A.,Konno M.,Tanuma N.,Shima H.,Tsunekuni K.,Kawamoto K.,Nishida N.,Koseki J.,Mimori K.,Gotoh N., Yamamoto H., Doki Y.,Mori M. Ishii H. Role of pyruvate kinase M2 in transcriptional regulation leading to epithelial-mesenchymal transition. *Proc Natl Acad Sci USA.*2014: 111(43):15526-31.
 9. Watanabe M.,Miyata H., Gotoh M., Baba H., Kimura W., Tomita N., Nakagoe T., Shimada M., Kitagawa Y., Sugihara K., Mori M. Total gastrectomy risk model: data from 20,011 Japanese patients in a nationwide internet-based database. *Ann Surg* 2014: 260(6):1034-9.
 10. Takeuchi H.,Miyata H., Gotoh M., Kitagawa Y., Baba H., Kimura W., Tomita N., Nakagoe T., Shimada M., Sugihara K., Mori M. A risk model for esophagectomy using data of 5354 patients included in a Japanese nationwide web-based database. *Ann Surg* 2014: 260(2):259-66.
- G-2. 学会発表
1. 中山敬一: がん幹細胞の撲滅による新しいがん治療法. 第12回日本免疫治療学研究会学術集会, 東京, 2/28, 2015.
 2. 中山敬一: がんにおける二つの謎: がん幹細胞とワールブルグ効果. 第3回婦人科がんバイオマーカー研究会学術集会, 福岡, 2/21, 2015.
 3. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く生命科学研究の新地平: 90年来のがんの謎を解く. 第13回群馬大学大学院医学系研究

- 科・大学院生によるワークショップ「未来を切り拓く医学研究」, 前橋, 2/13, 2015.
4. 中山敬一: 次世代プロテオミクスを用いたがん特性の解明. 第45回ヒューマンサイエンス総合研究セミナー「がんの多様性に応じた研究・治療 - 創薬のパラダイムシフト -」, 東京, 1/13, 2015.
 5. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く医学生物学の新天地: 90年来のがんの謎を解く. 第61回日本臨床検査医学会学術集会, 福岡, 11/23, 2014.
 6. Nakayama, K.I.: Deep and absolute quantification of human proteome unveils a global landscape of cancer metabolism. The 4th Japan-France Cancer Workshop, Kyoto, 11/19, 2014.
 7. 中山敬一: がんにおける二つの謎: がん幹細胞とワールブルグ効果. 第134回山口県医師会生涯研修セミナー, 山口, 11/9, 2014.
 8. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く医学生物学の新天地: 90年来のがんの謎を解く. 第23回長崎障害者支援再生医療研究会, 長崎, 11/4, 2014.
 9. 中山敬一: 癌幹細胞の理解と制御: 癌を完治させる治療戦略. 第73回日本癌学会学術総会, 横浜, 9/26, 2014.
 10. 中山敬一: 次世代プロテオミクスと数理科学の融合が解き明かすがんの秘密. 第73回日本癌学会学術総会, 横浜, 9/25, 2014.
 11. 中山敬一: ユビキチンリガーゼFBXL5による鉄代謝制御とその破綻. 第38回鉄バイオサイエンス学会学術集会, 仙台, 9/6, 2014.
 12. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く医学生物学の新天地: 90年来のがんの謎を解く. 第8回レドックス・ライファイノバージョン第170委員会, 宮崎, 8/21, 2014.
 13. 中山敬一: がんの完治に向けた次世代型アプローチ. 第50回姫路市医師会夏期大学, 姫路, 7/27, 2014.
 14. 中山敬一: 医学研究に貢献する最先端分析技術. 九州プロサーチオープニングセミナー, 福岡, 7/26, 2014.
 15. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く医学生物学の新天地: 90年来のがんの秘密を解き明かす. 第7回KAITEKI Forum, 東京, 7/8, 2014.
 16. 中山敬一: 全タンパク質の絶対定量によるがん代謝シフトの解明. 第14回日本蛋白質科学会年会, 横浜, 6/25, 2014.
 17. Nakayama, K.I.: FBXL12 targets ALDHs for degradation in trophoblast stem cells to induce differentiation. The 12th Stem Cell Research Symposium, Fukuoka, 5/31, 2014.
 18. 中山敬一: 次世代プロテオミクスと数理科学の融合が解き明かすがんの秘密. 生命科学系3分野がん・ゲノム・脳支援活動合同シンポジウム, 東京, 5/27, 2014.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願

発明の名称: 「癌の処置のための方法」
 発明者: 中山敬一、三森功士
 出願日: 2014年12月26日
 出願番号: 特願 2014-266001
 出願人: 国立大学法人九州大学
1. 実用新案登録

なし。
2. その他

なし。