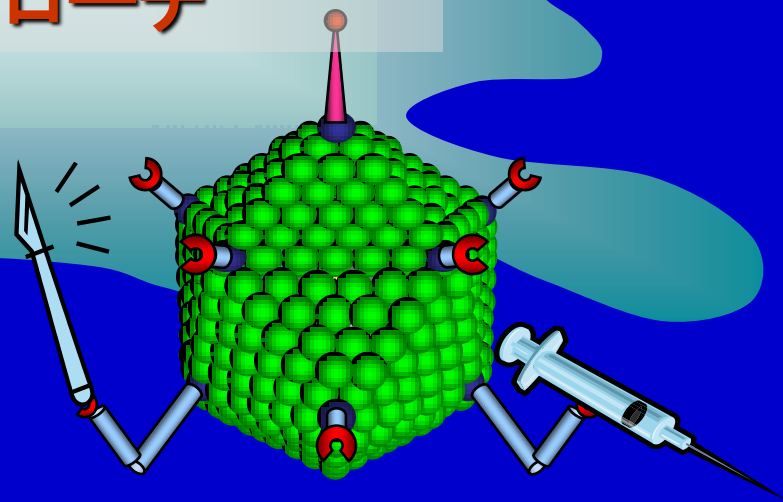


2009年7月2日
国際BioExpo



ナノバイオ標的医療の融合的創出拠点の形成

究極のがん治療遺伝子REIC/Dkk-3 魔法の弾丸アプローチ



岡山大学医歯薬学総合大学院
ナノバイオ標的医療イノベーションセンター
柏倉祐司

科学技術振興調整費 先端融合領域イノベーション創出拠点の形成

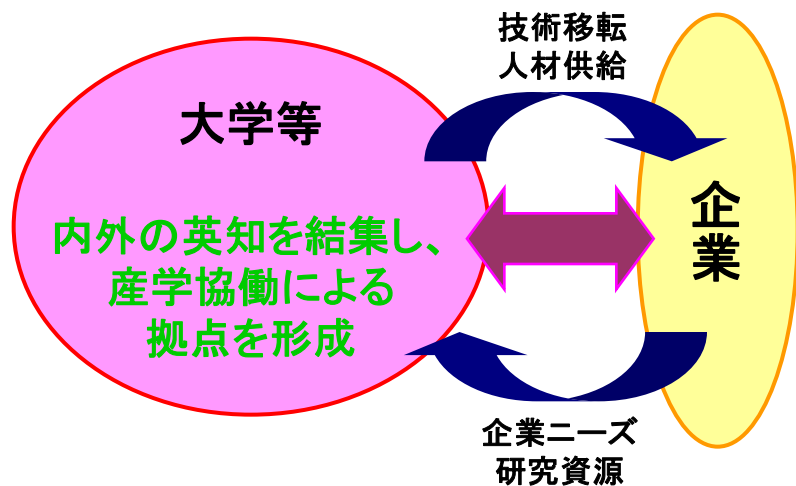
平成18年度より実施

目的: **イノベーションを創出し、次世代を担う研究者・技術者を育成する機能を備えたシステムを実現**することを通じ、**10～15年後に新たな産業の芽となる先端技術を確立**するため、**実用化を見据えた基礎的段階から、産学が協働して先端融合領域における研究開発を推進**

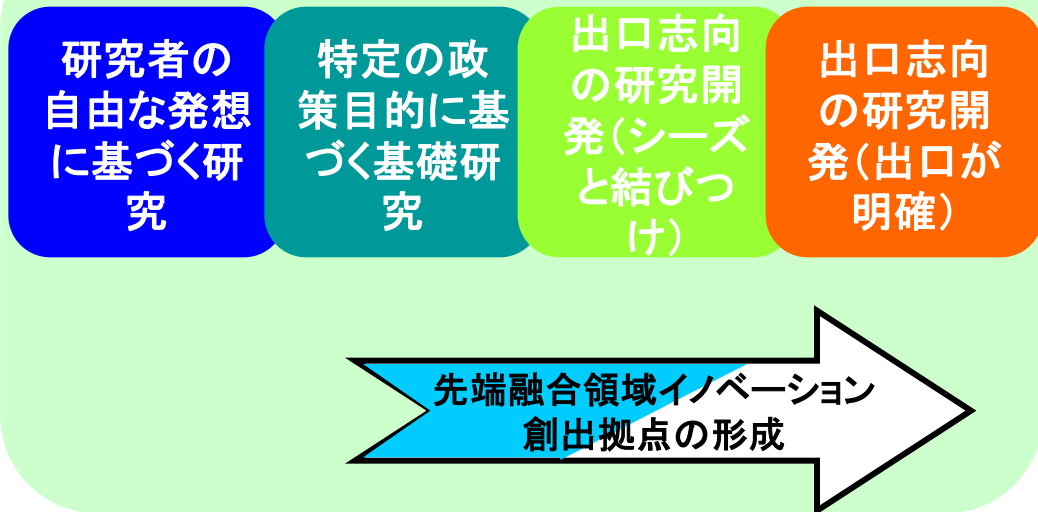
実施期間: 原則10年間

実施規模: 年間5～10億円程度(当初の3年間は2～5億円)
企業からも同等規模のコミットメントを獲得

大学と産業界が対等な立場で協働



基礎研究から研究開発までを一貫して推進



「先端融合領域イノベーション創出拠点の形成」採択課題

H.18年

| 提案課題名 | 提案機関 | 共同機関 |
|-----------------------------|-------------|---|
| 生体ゆらぎに学ぶ知的人工物と情報システム | 大阪大学 | オムロン(株)、日本電子(株)、日本通信電話(株)、ニプロ(株)、松下電器産業(株)、三菱重工業(株) |
| 高次世代イメージング先端テクノハブ | 京都大学 | キャノン(株) |
| 少子高齢社会と人を支えるIRT基盤の創出 | 東京大学 | トヨタ自動車(株)、オリンパス(株)、(株)セガ、凸版印刷(株)、(株)富士通研究所、松下電器産業(株)、三菱重工業(株) |
| ナノ量子情報エレクトロニクス連携研究拠点 | 東京大学 | シャープ(株)、日本電気(株)、(株)日立製作所、(株)富士通研究所 |
| ナノバイオ標的医療の融合的創出拠点の形成 | 岡山大学 | 日東電工(株)、(株)林原生物化学研究所、イーピーエス(株)、 効イ医科工業(株)、オンコリスバイオファーマ(株)、(株)ビークル、(株)バイオサイエンスリンク |
| 分析・診断医工学による予防早期医療の創成 | 名古屋大学 | 日本ガイシ(株)、オリンパス(株)、富士通(株)、伊藤忠商事(株) |
| 未来創薬・医療イノベーション拠点形成 | 北海道大学 | 塩野義製薬(株)、(株)日立製作所 |
| 半導体・バイオ融合集積化技術の構築 | 広島大学 | エルピーダメモリ(株) |
| 再生医療本格化のための最先端技術融合拠点 | 東京女子医科大学 | 大日本印刷(株)、(株)セルシード |

ナノバイオ標的医療の融合的創出拠点

人生80年時代の医療は
QOLを重視した低侵襲医療

悪いところを早めに診つけ
そこだけを優しく治す

融合的イノベーションとしての標的医療



融合
・異分野シーズ
(医歯薬学・自然科学)
・産学官
・BT, NT, IT
・MOT

岡山大学の提案概要(H.18)

- ① **産学連携学内特区の設置**
ナノバイオ標的医療イノベーションセンターの設置
- ② **がんに対する標的医療の開発**
高薬効・低副作用ナノバイオDDS キャリアの開発、融合的効果増強法の考案
- ③ **物理エネルギーの併用**
標的性と治療効果の向上
- ④ **生体分子イメージングの実現**
癌の転移や超早期診断、治療と評価への応用
- ⑤ **人材育成**
次世代を担う融合的バイオ研究者・技術者の育成

ナノバイオ標的医療の融合的創出拠点

人生80年時代の医療は
QOLを重視した低侵襲医療

悪いところを早めに診つけ
そこだけを優しく治す

融合的イノベーションとしての標的医療



融合

- ・異分野シーズ
(医歯薬学・自然科学)
- ・産学官
- ・BT, NT, IT
- ・MOT

がん医療イノベーション

- ・現在、日本人男性の2人に1人、
女性の3人に1人ががんになり、
3人に1人ががんで死亡
- ・**がんの2015年問題**
日本人の3人に2人ががんになり、
2人に1人ががんで死亡
- ・進行がん、多発転移がん、
再発がんは
既存治療で対処できず、
フレイクスルーが必須!

日本における遺伝子治療臨床研究と岡山大学の位置づけ

| | 実施施設 | 対象疾患 | 実施症例数 | 完遂 |
|-------------|-------------|-------------------------|------------------------------|----|
| 1995 | 北海道大学 | アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症 | 1 | |
| 1997 | ミドリ十字 | ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染症 | 0 | |
| 1998 | 東京大学医科学 | 腎がん | 4 | ○ |
| | 岡山大学 | | 9 | ○ |
| 2000 | 東京医科大学 | 非小細胞肺がん p53 | 3 | |
| | 東北大学 | | 2 | |
| | 東京慈恵会医科大学 | | 1 | |
| | 名古屋大学 | 悪性グリオーマ | 5 | |
| | がん研究会附属病院 | 乳がん [大量化学療法施行時の骨髄抑制防止] | 3 | |
| | 千葉大学 | 進行食道がん | 10 | ○ |
| | 岡山大学 | 前立腺がん HSV-tk | 9 | ○ |
| 2001 | 大阪大学 | 閉塞性動脈硬化症、バージャー病 | 22 | ○ |
| 2002 | 筑波大学 | 再発性白血病 [移植片対宿主病 (GVHD)] | 5 | |
| | 東京大学医科学研究所 | 神経芽腫 | 開始前に中止 | × |
| | 北海道大学 | ADA欠損症 | 2 | |
| | 東北大学 | X連鎖重症複合免疫不全症 (X-SCID) | 未実施 | × |
| | 神戸大学 | 前立腺がん HSV-tk | 6 | ○ |
| | 信州大学 | 悪性黒色腫 | 5 | ○ |
| 2003 | アンジェスMG | 閉塞性動脈硬化症、バージャー病 | 終了 | ○ |
| 2005 | 九州大学 | 閉塞性動脈硬化症、バージャー病 | 実施中 | |
| 2006 | 自治医科大学 | 進行期パーキンソン病 | 実施中 | |
| 2007 | 北里大学 | 再発ハイリスク限局性前立腺がん HSV-tk | 実施中 | |
| | タカラバイオ | 再発性白血病 | 確認申請承認 | |
| 2008 | 岡山大学 | 進行性前立腺がん IL-12 | 承認実施中 (2008. 5月13日より) | |



**岡山大学
支援**




**遺伝子治療
日本トップ
の実績**



**アジアの
遺伝子治療
の拠点へ**

魔法の治療遺伝子「REIC/Dkk-3」

Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3



究極のがん遺伝子医薬と 標的医療の創出

- ・がん細胞選択的細胞死の誘導
- ・抗がん免疫の活性化
- ・多種類のがんに幅広く適用
⇒がん予防のための遺伝子治療と
遺伝子・分子創薬への展開



全ての条件を満たす新規がん抑制遺伝子REIC

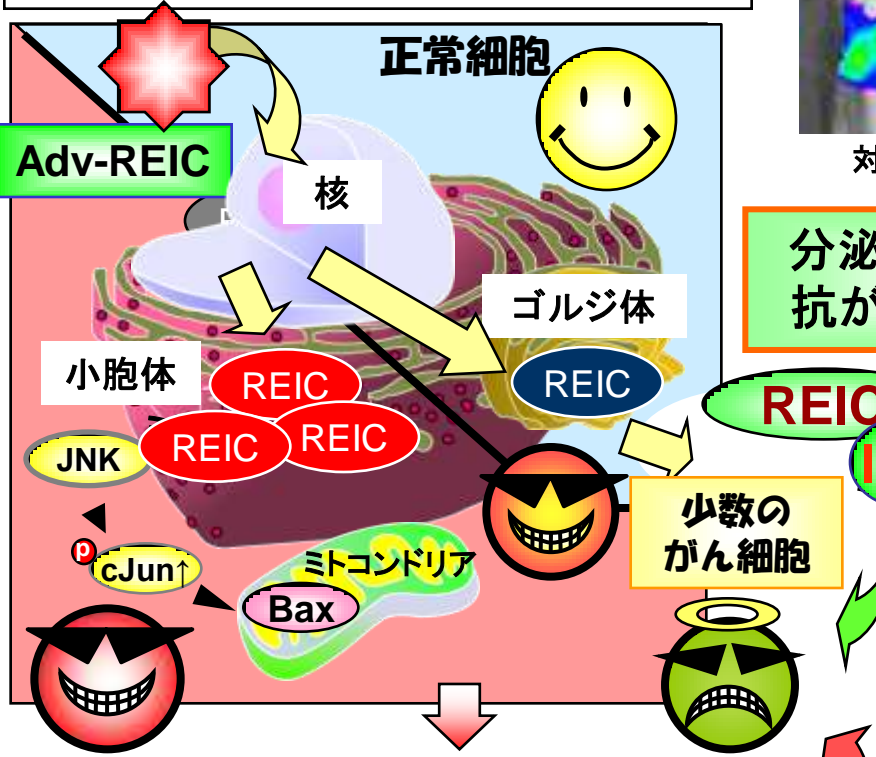
- ・基本特許: 特許第381382号, US11/434,813, EP00956811.4
- ・応用特許: ①PCT/JP2006/300411, ② PCT/JP2007/071170など6件

がん治療遺伝子の要件（固形がん遺伝子治療は遺伝子修復ではない！）

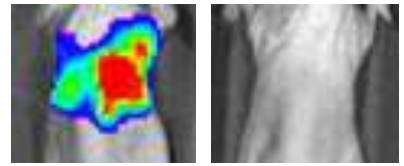
新規治療遺伝子 REIC/DKK3（がん選択的アポトーシス+抗がん免疫活性化+幅広い適用）

・REIC基本特許

特許第381382号, US11/434,813, EP00956811.4

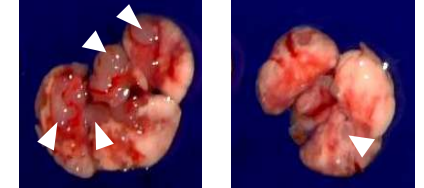


悪性中皮腫モデル



対照群 REIC治療群

前立腺がん肺転移モデル



対照群 REIC治療群

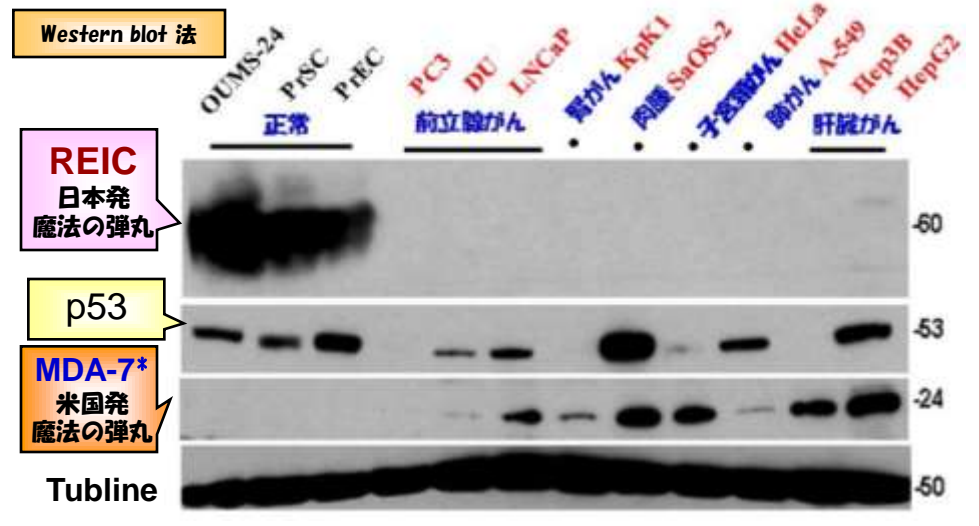
分泌型REICによる
抗がん免疫賦活化

・応用特許④ 特願2008-086516
REICタンパクによる抗がん免疫活性化作用

・応用特許③特願2007-287373
抗癌剤耐性癌に対する抗癌剤増強作用

・応用特許⑤ 特願2008-196857
新規悪性中皮腫治療剤及び免疫賦活化剤

REICと他のがん治療遺伝子との発現比較



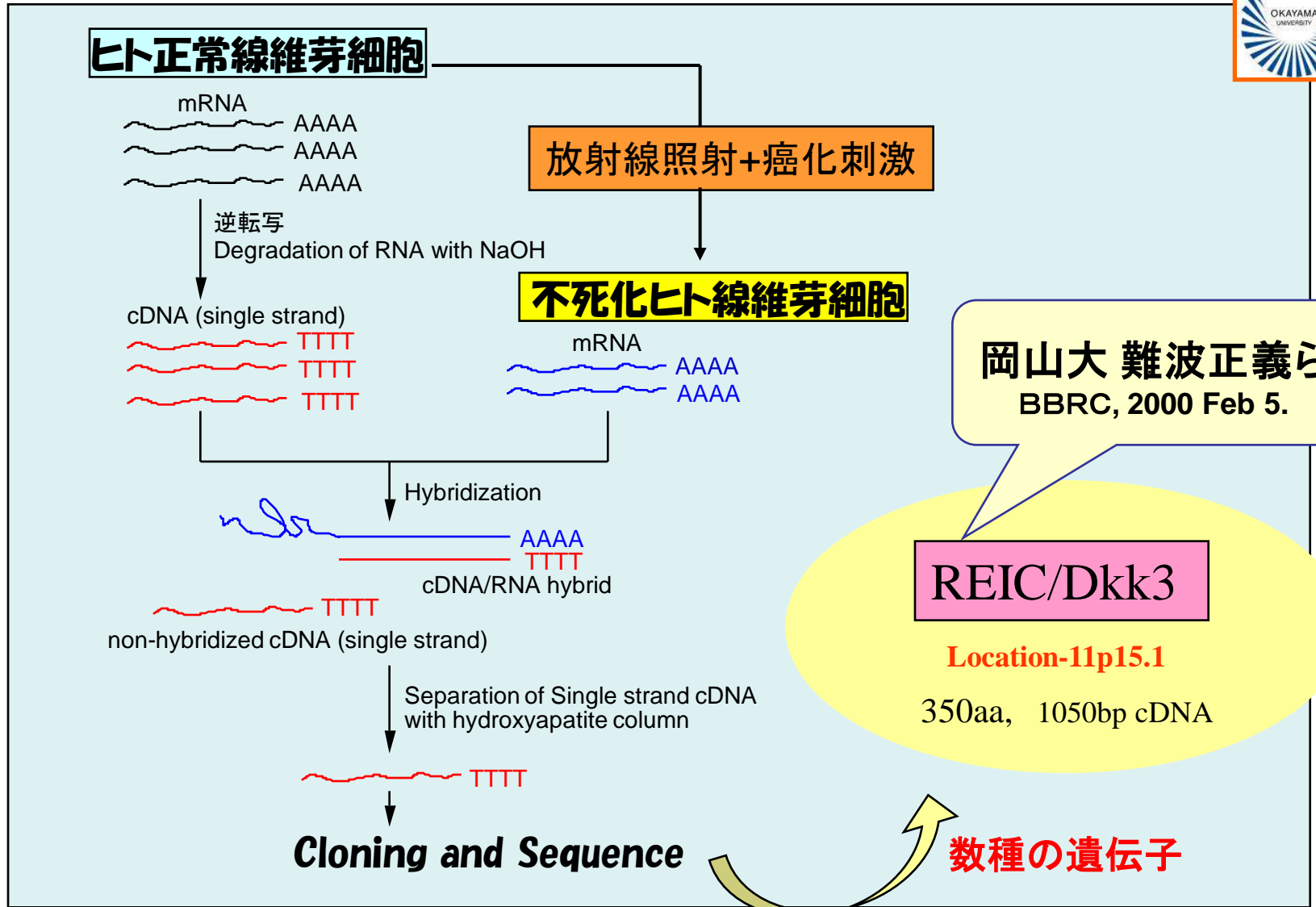
応用特許① PCT/JP2006/300411; ②PCT/JP2007/071170
①前立腺癌アポトーシス誘発剤; ②REIC断片によるがん治療薬

・応用特許⑤ 特願2008-196857
新規悪性中皮腫治療剤及び免疫賦活化剤

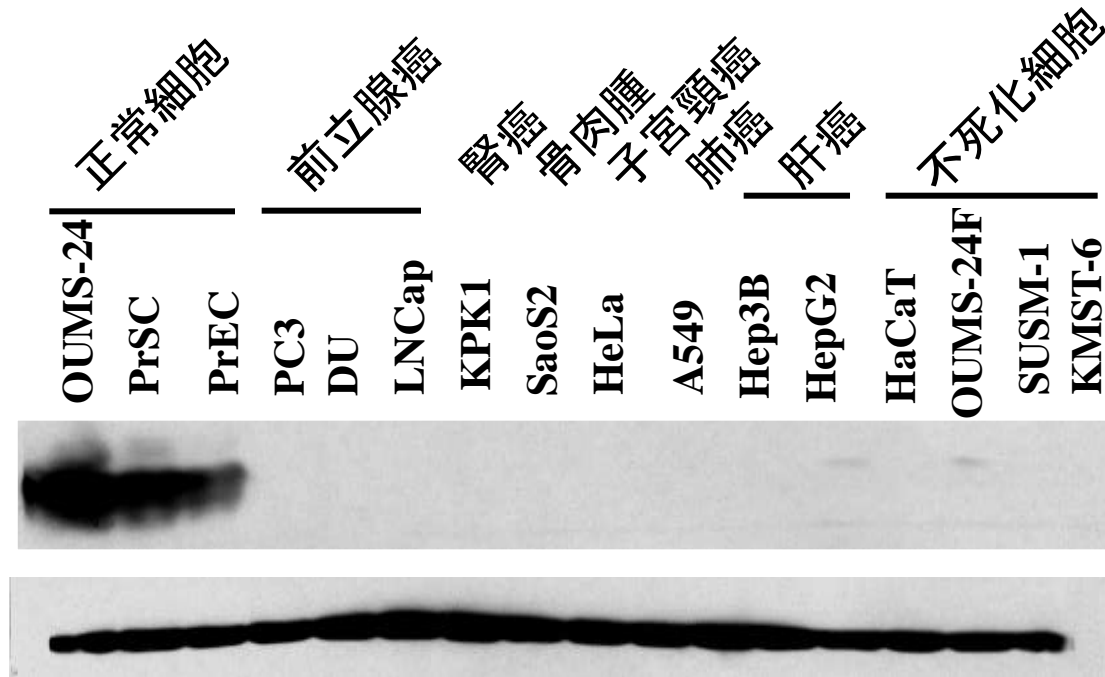
* Is MDA-7/IL-24 a "magic bullet" for cancer? Cancer Res. 2005. by Fisher PB

「REIC」は新規不死化関連遺伝子として発見された！

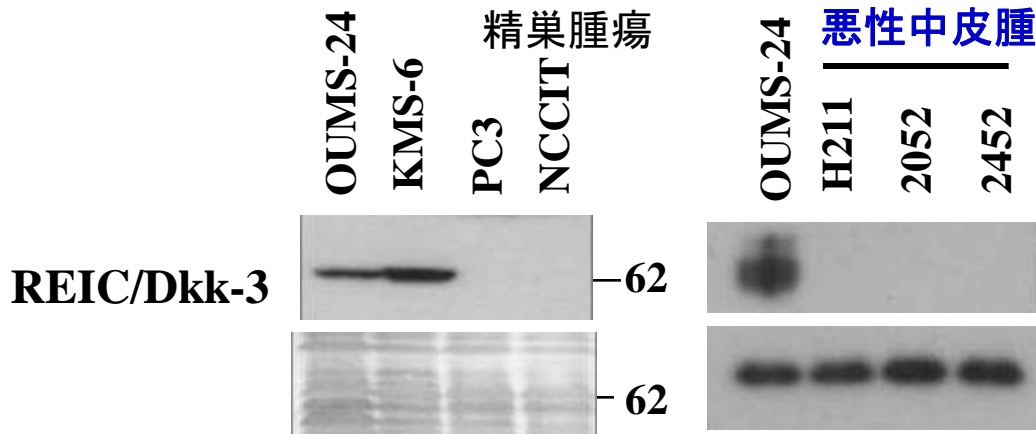
Subtractive Hybridization法



がん細胞でのREIC/Dkk-3の発現



| Frequency of gene abnormality in cancers (%) | |
|--|-------------|
| | P53 vs REIC |
| Lung Ca | 56 ≧ 63 |
| Renal Ca | 19 ≪ 88 |
| Prostate Ca | 30 ≪ 100 |
| MM | 0 ≪ 90 |



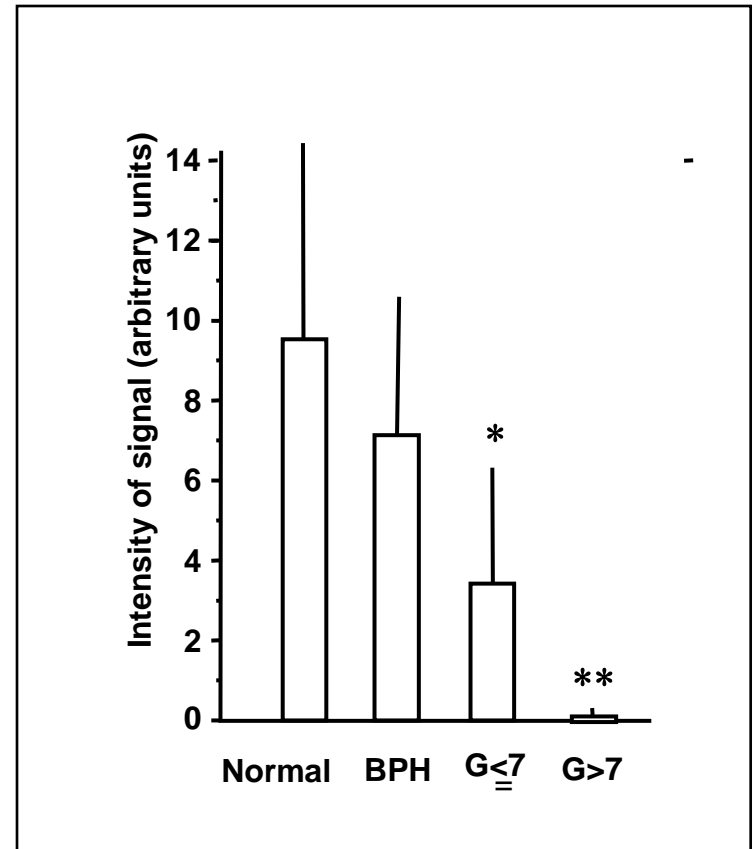
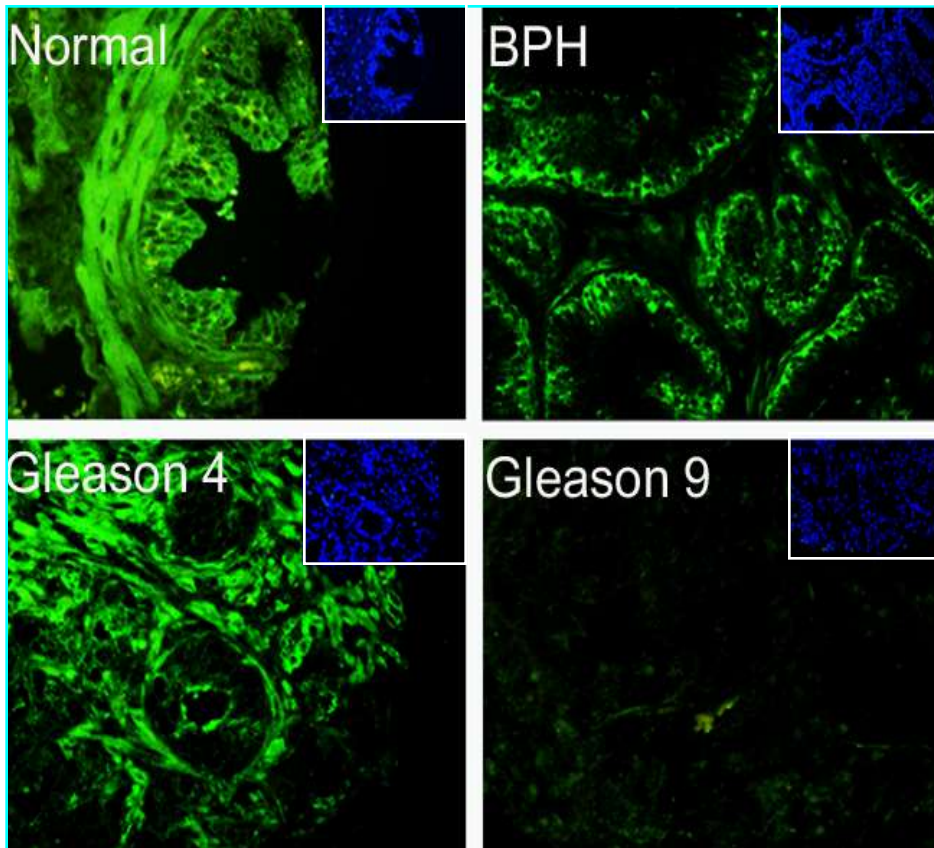
Loss of REIC expression can be found among wide variety of cancer cells, which means that REIC gene might be primitively involved in carcinogenesis in general and can be useful as a therapeutic gene for wide range of cancers.



前立腺がんにおける**REIC/Dkk-3**の発現

(Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf)

段階的に消失し悪性度の高いグリソン8-10では完全消失



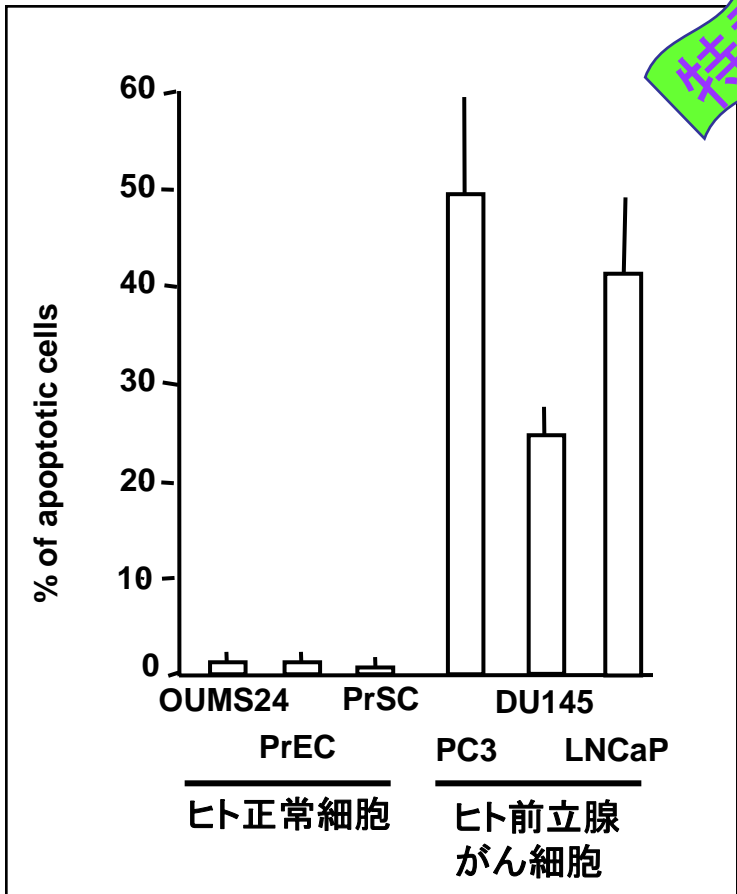
(Abarzua et al. Cancer Res. 2005)



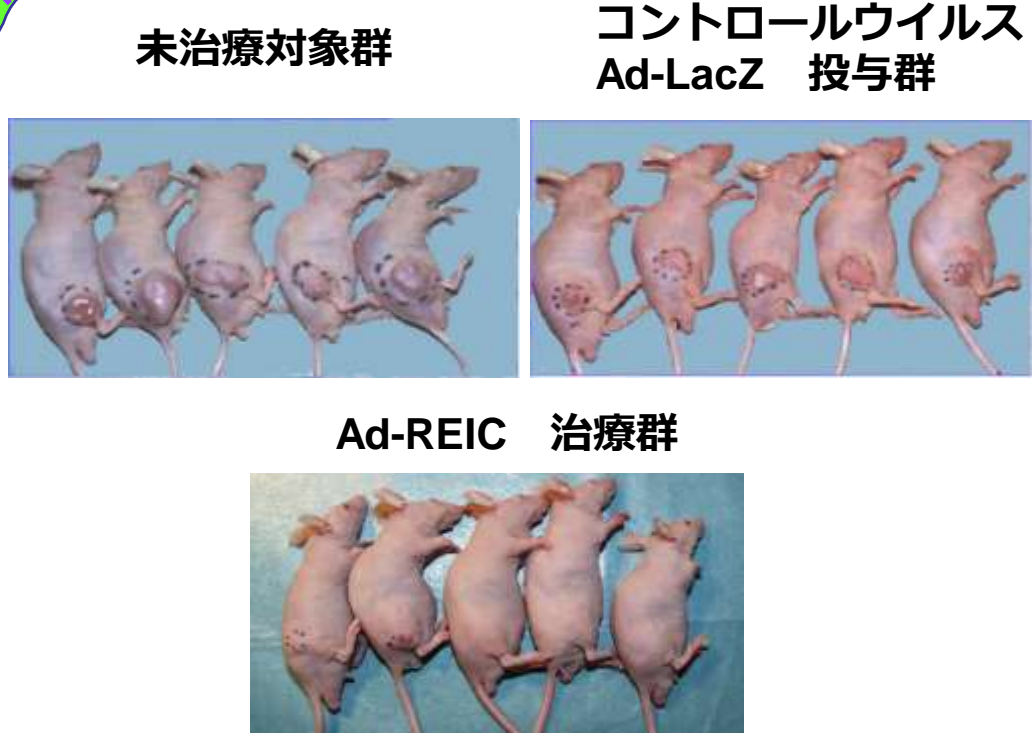
REIC強制発現による癌細胞選択的アポトーシス

-REIC遺伝子発現アデノウイルス (Ad-REIC)-

培養細胞



マウス皮下腫瘍



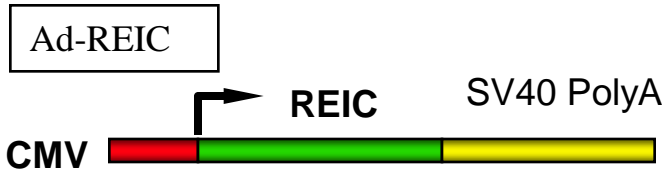
ヒト前立腺がん(PC3)ヌードマウス皮下腫瘍での効果

PrEC:前立腺上皮細胞, PrSC:前立腺間質細胞

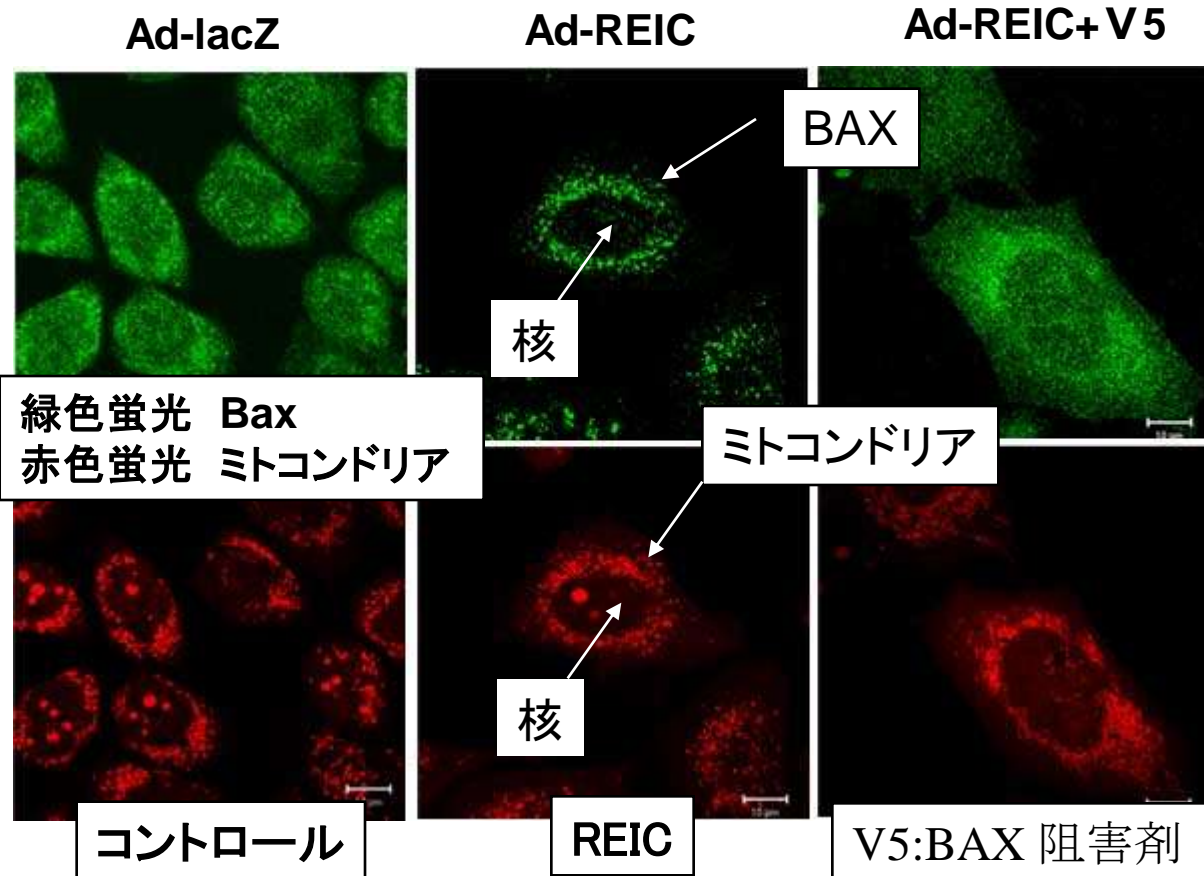
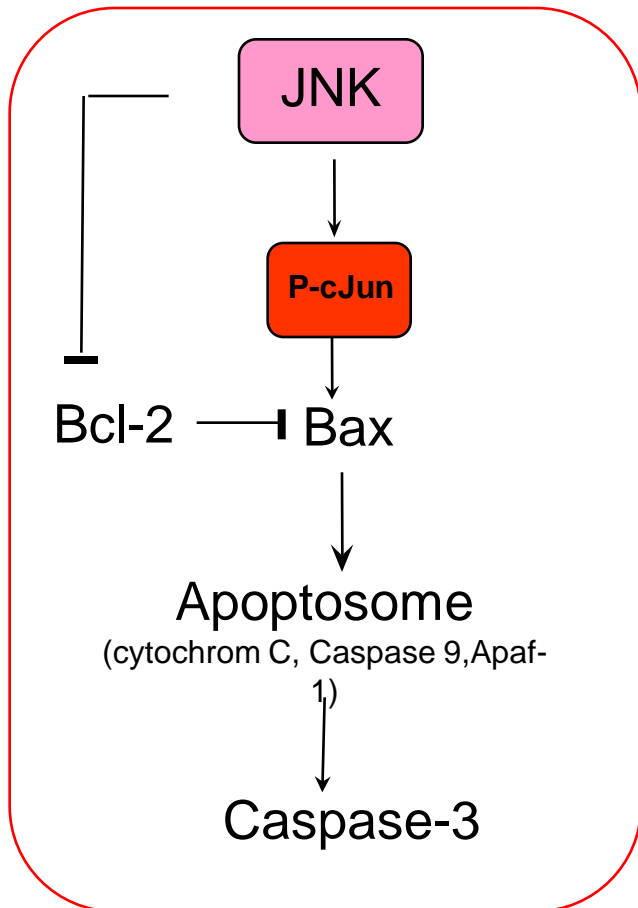
(Abarzua F et al. Cancer Res. 2005)

REIC強制発現による癌細胞選択的アポトーシス

Cancer Res.2005



REICの強制発現によるアポトーシス誘導のメカニズム
 Baxのミトコンドリア移行⇒ミトコンドリア由来アポトーシス経路の活性化

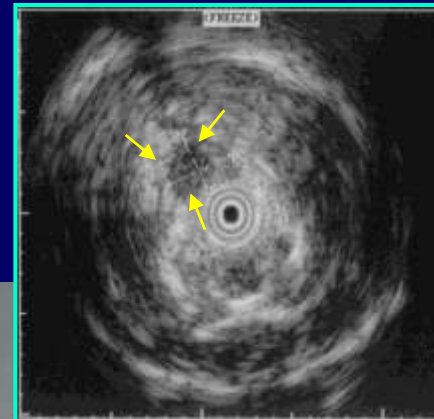
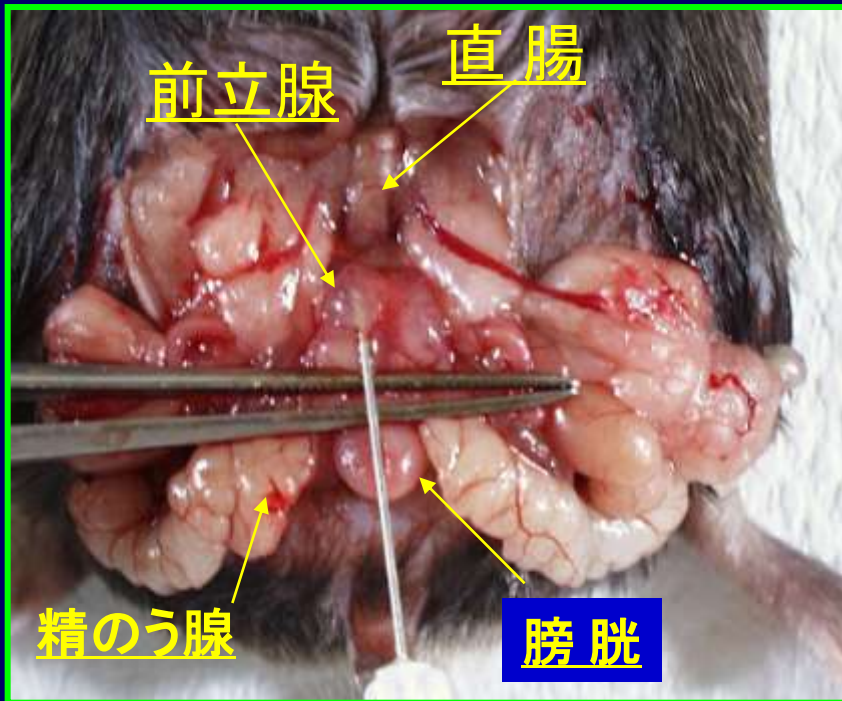


マウス前立腺がん同所性モデルと経直腸超音波評価

正常の免疫能を保有し、前立腺がん固有の環境での実験

経直腸超音波によるモニタリング

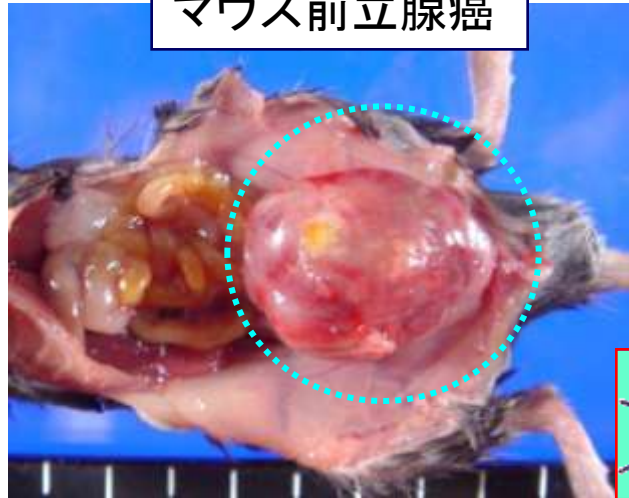
マウス前立腺がん細胞 (RM9)



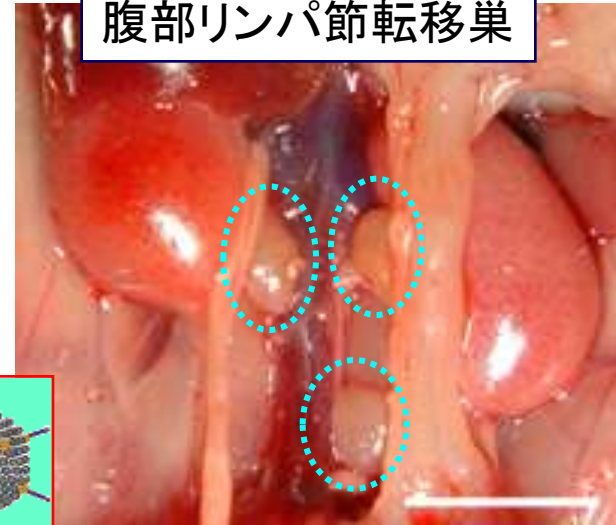
(Kusaka et al, The Prostate. 47:118, 2001)

前立腺癌同所性モデルマウスで、 前立腺癌の縮小効果と転移抑制効果を確認

マウス前立腺癌



腹部リンパ節転移巣

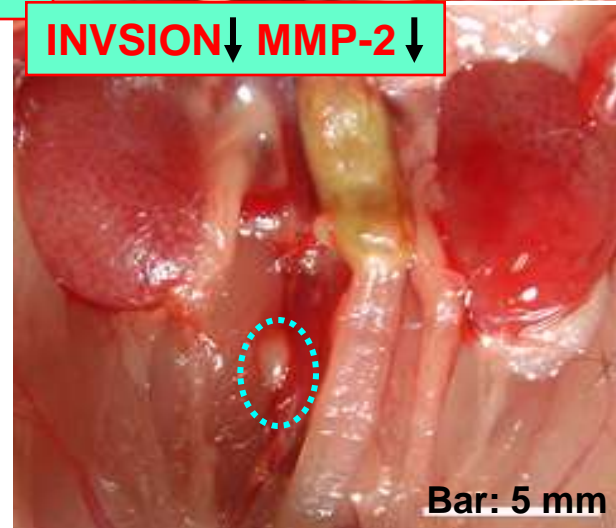


Ad-LacZ
(コントロール群)

APOPTOSIS

INVSION ↓ MMP-2 ↓

Ad-mREIC
(治療群)



Scale: 5 mm

Bar: 5 mm

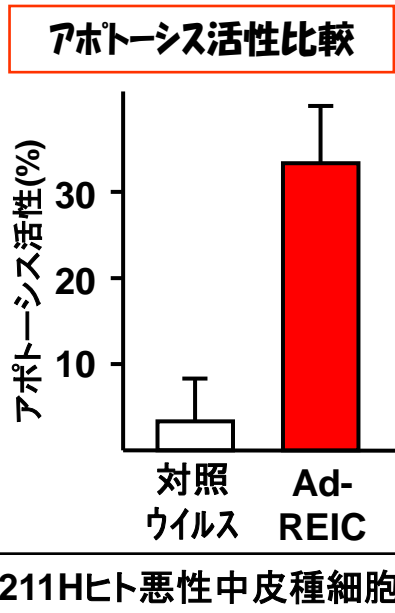
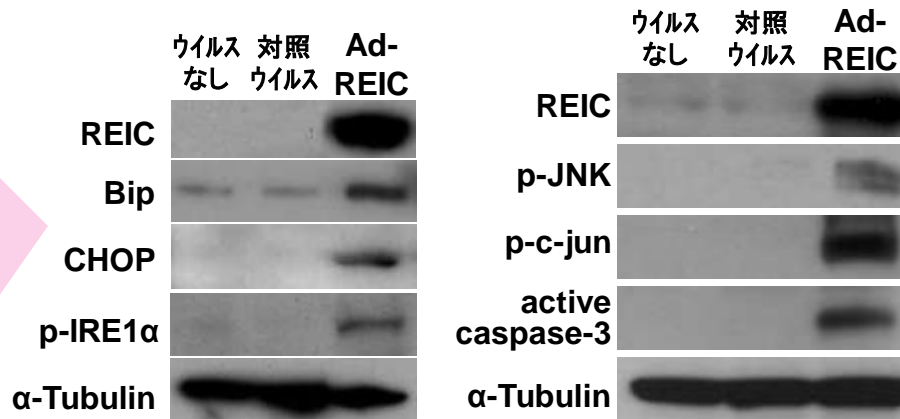
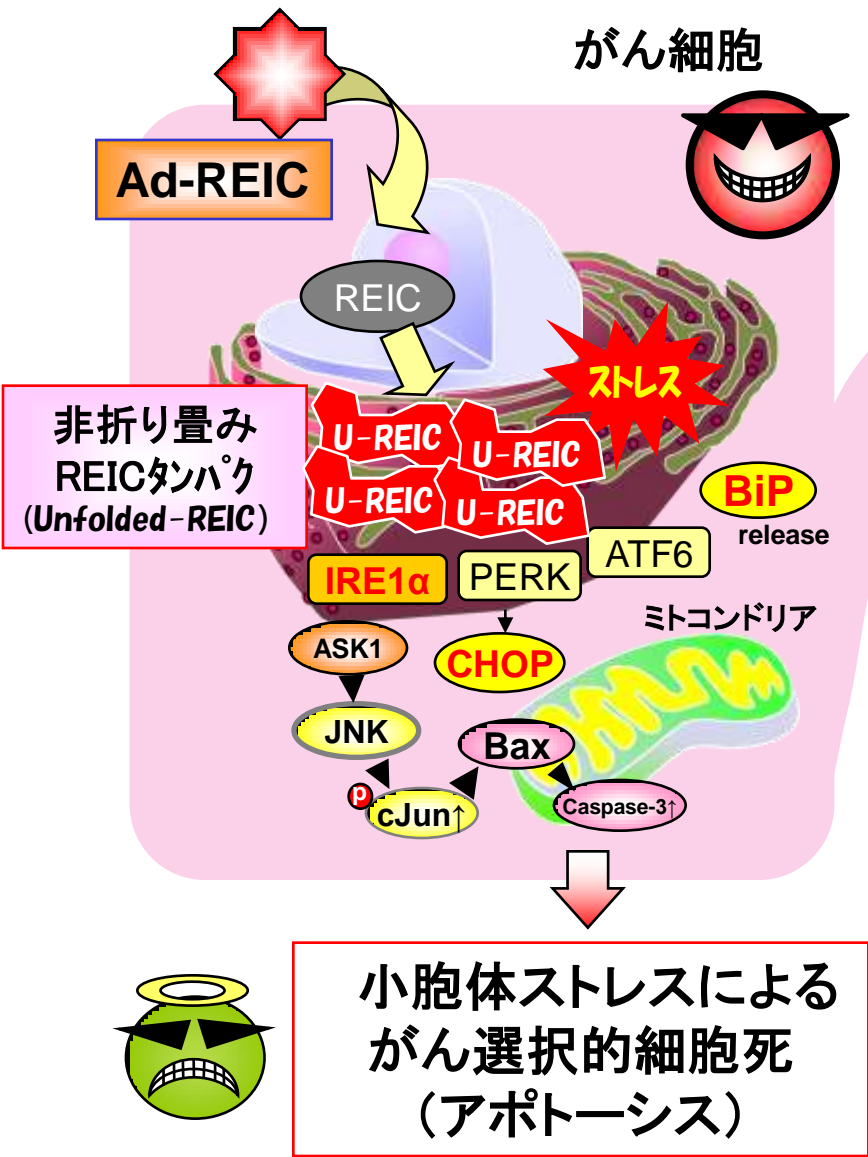
(Edamura et al, Cancer Gene Therapy. 14:765, 2007)

REIC遺伝子発現アデノウイルス(Ad-REIC)による悪性中皮腫治療

(Kashiwakura, Y. et. al. *Cancer Res.* 2008 68:8333-41)

●小胞体ストレスによるアポトーシス誘導

●Ad-REICによる小胞体ストレスマーカーの上昇およびアポトーシス誘導 (211H細胞)



Ad-REIC

がん選択的アポトーシスと抗がん免疫の活性化

感受性がん細胞

正常細胞

抵抗性がん細胞

非折り畳み
REICタンパク
(unfolded REIC)

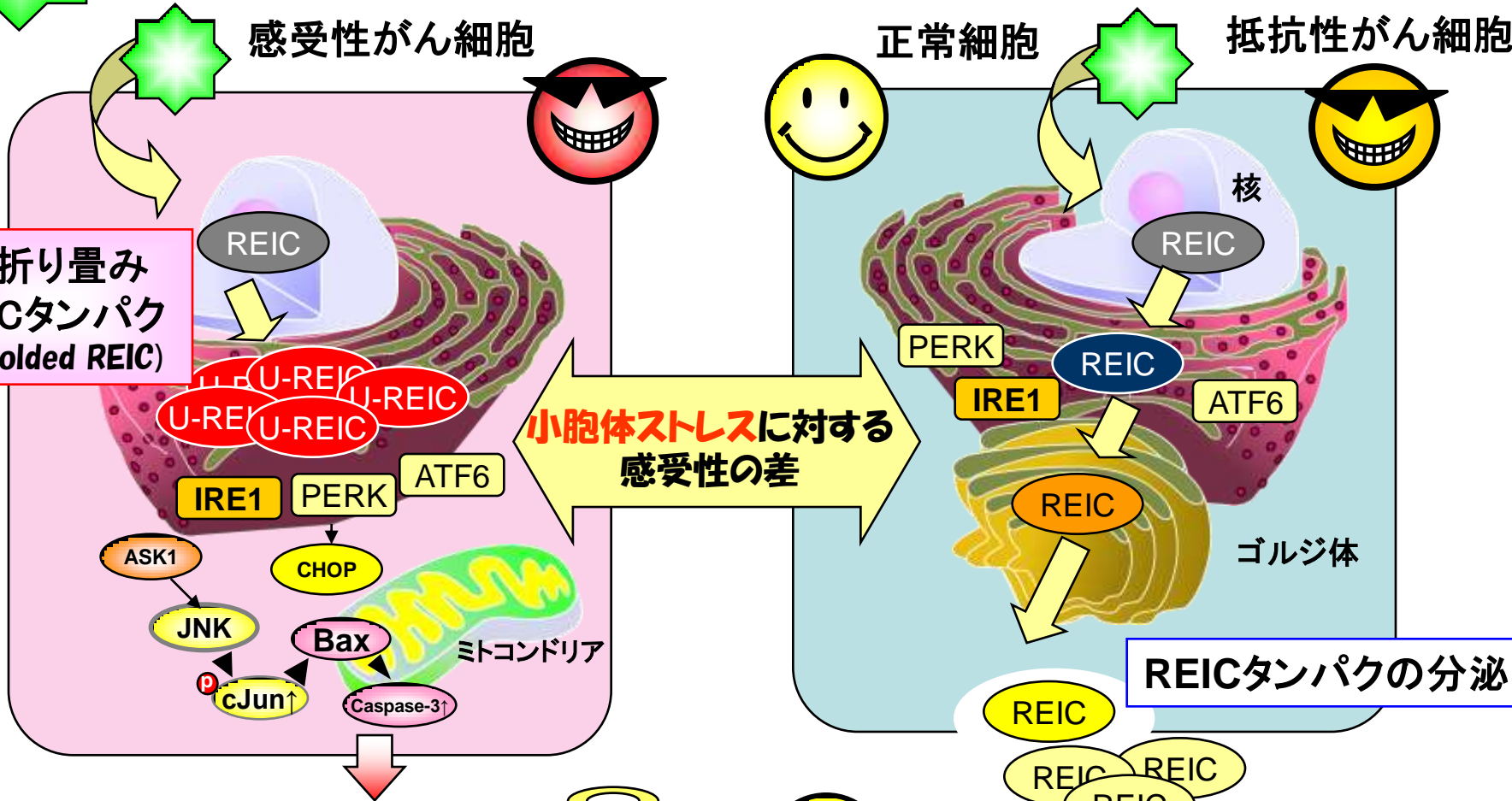
小胞体ストレスに対する
感受性の差

REICタンパクの分泌

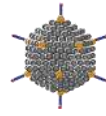
小胞体ストレスによる
がん選択的アポトーシス

抗がん免疫活性化作用

前立腺癌細胞のアポトーシス誘発剤
特願2005-073807, PCT/JP2006/300411

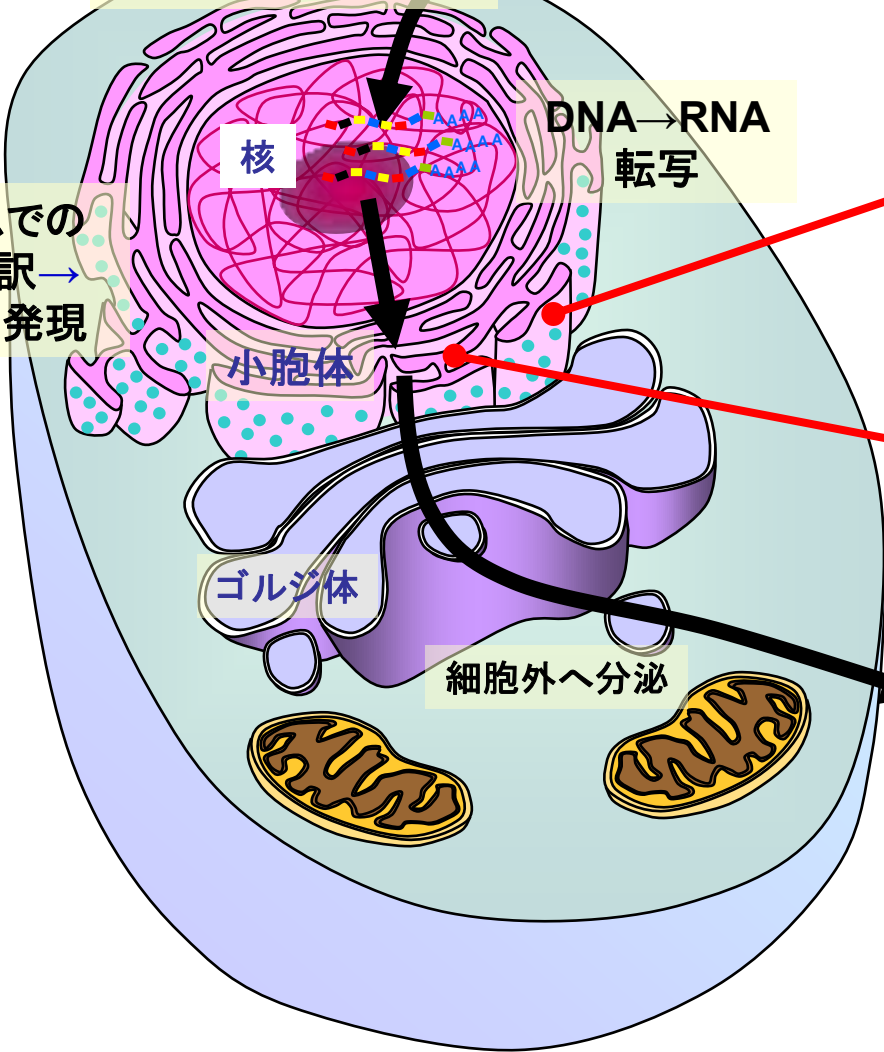


REIC遺伝子強制発現によるREICタンパク質の細胞内動態



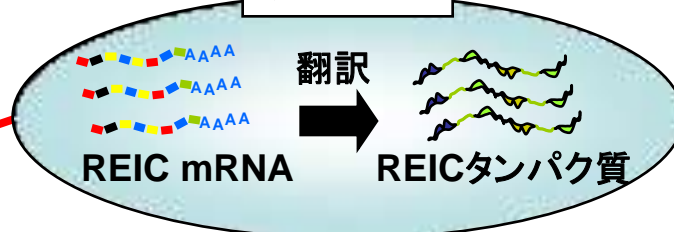
アデノウイルス等による
REIC遺伝子強制発現

REIC遺伝子(DNA)
核内導入

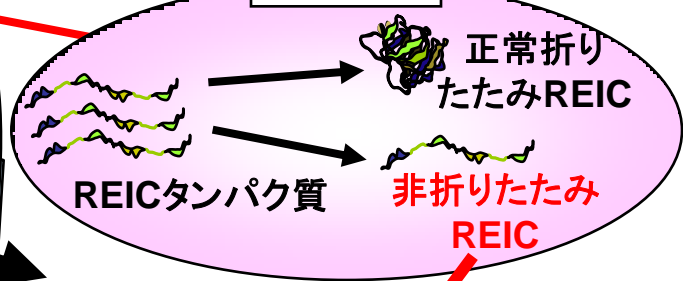


リボゾームでの
RNAの翻訳→
タンパク質発現

リボゾーム

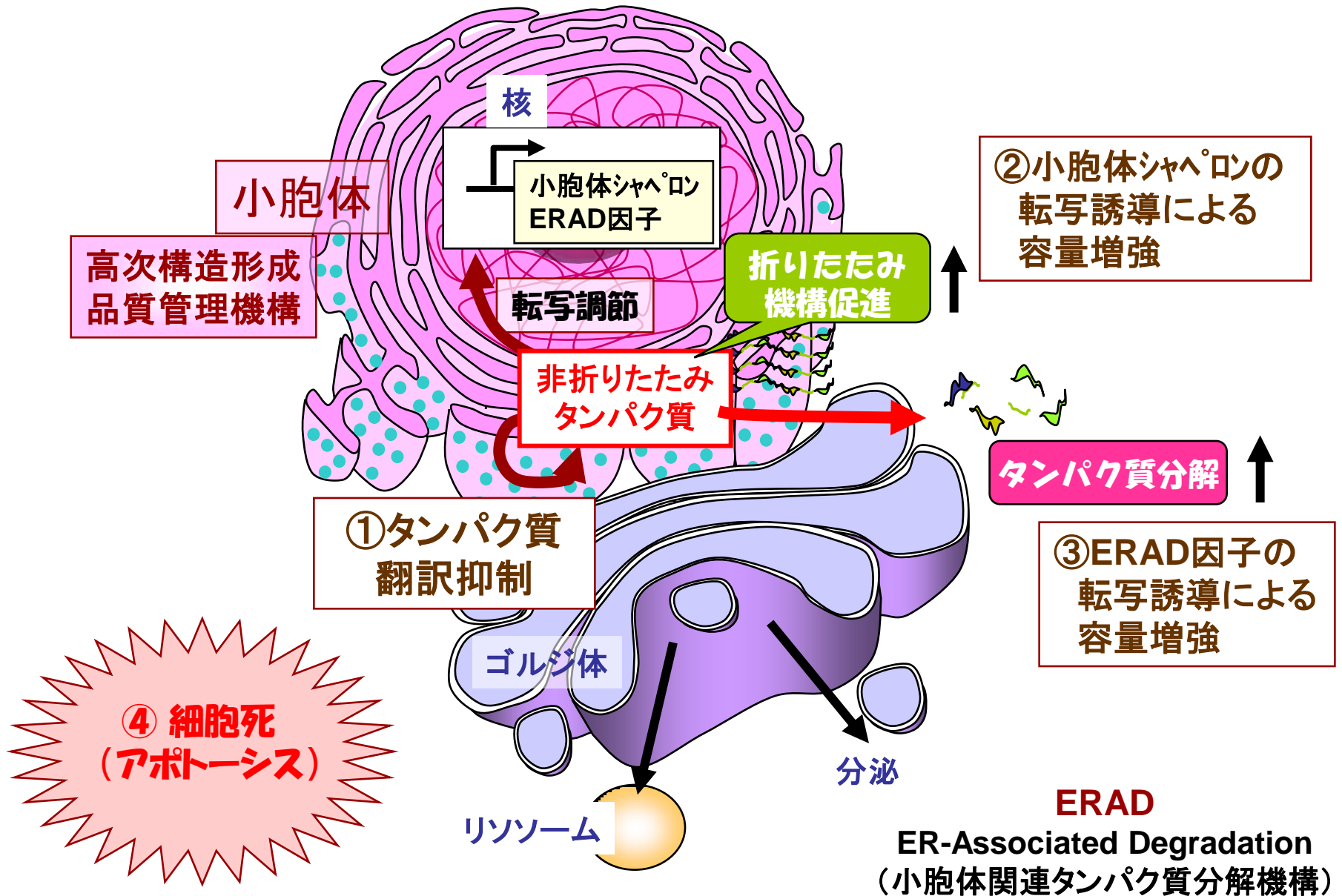


小胞体内



小胞体
ストレス

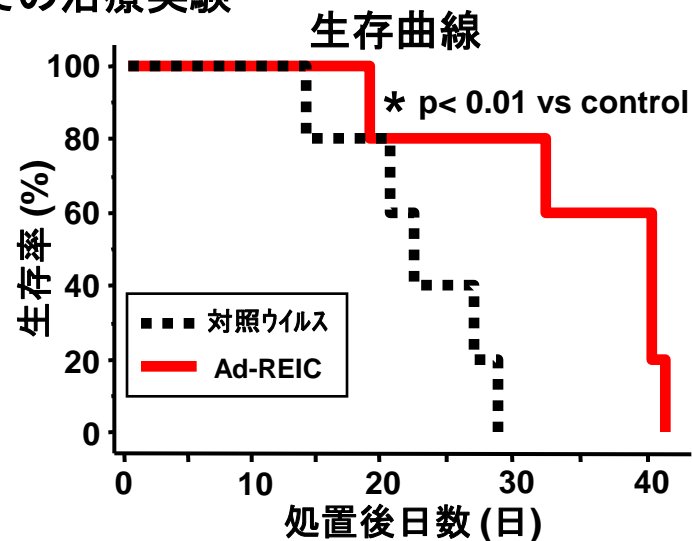
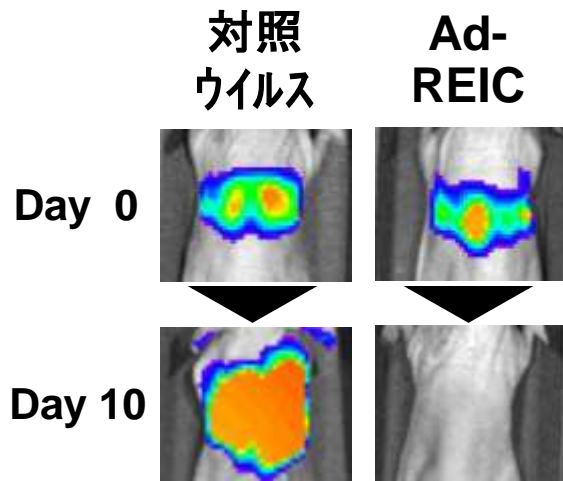
小胞体ストレス応答の概要



REIC遺伝子発現アデノウイルス(Ad-REIC)による悪性中皮腫治療

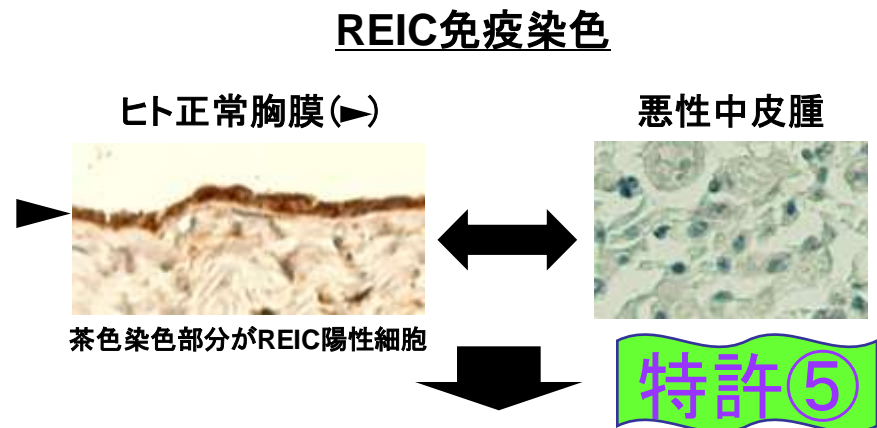
(Kashiwakura, Y. et. al. *Cancer Res.* 2008 68:8333-41)

●Ad-REIC投与による悪性中皮腫同所性モデルマウスでの治療実験

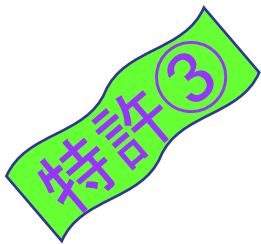


●ヒト悪性中皮腫組織においてREICの発現は高率に低下

| REIC発現 \ 悪性中皮腫 / 正常胸膜 | 悪性中皮腫 | 正常胸膜 |
|-----------------------|--------------------|-----------|
| (+++) | 0 | 5 |
| (++) | 0 | 4 |
| (+) | 4 | 1 |
| (-) | 31 | 0 |
| Negative/ Total (%) | 31/35 (89%) | 0/10 (0%) |



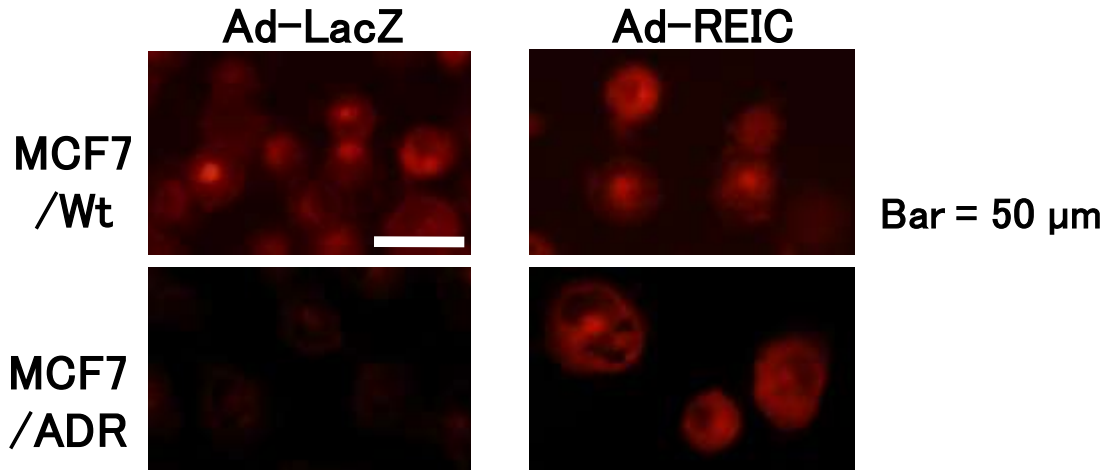
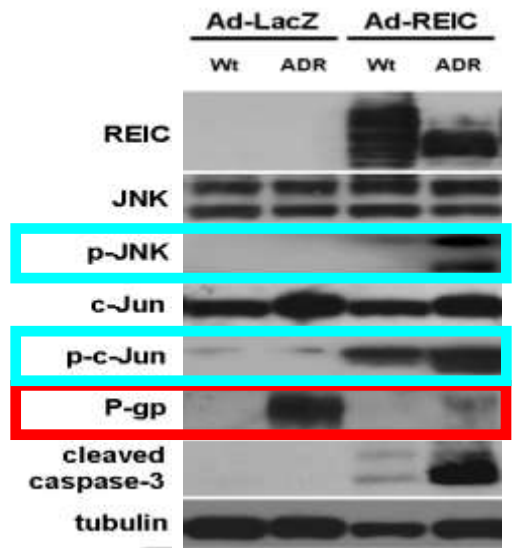
臨床応用性の確認



Ad-REICの薬剤感受性増強効果

Ad-REIC剤のin vitroの投与による抗がん剤アドリアマイシン耐性乳がん細胞株MCF7/ADRの抗がん剤耐性減弱

・応用特許③特願2007-287373
抗癌剤耐性癌に対する抗癌剤増強作用



細胞内のアドリアマイシン(赤色)の蓄積

抗がん剤排出ポンプ
P-糖タンパク質(gp)



抗がん剤が効かない → 抗がん剤が効く!!



REIC強制発現に伴った小胞体ストレスにより、JNKとc-Junが活性化され、P-糖タンパク質の発現が減少、細胞におけるアドリアマイシンの排出機能が低下し、結果として、アドリアマイシンがより低濃度でがん細胞死を導くことになったと考えられる。

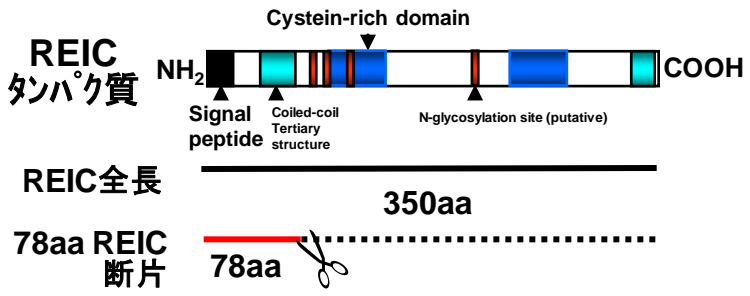
特許②

REIC遺伝子断片による前立腺がん細胞アポトーシス誘導

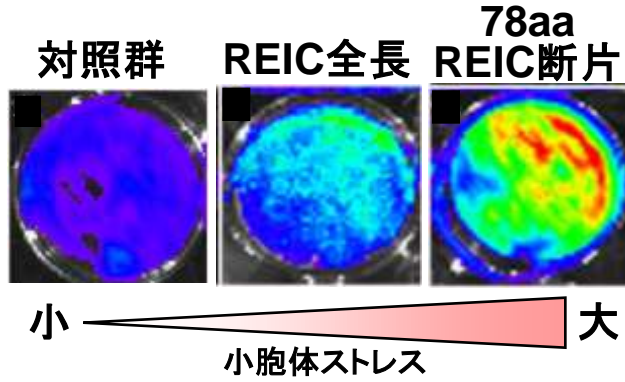
生分解性ポリマー「CarriGene」とREIC断片の最適化複合体による遺伝子医薬の開発

(Abarzua, F. et. al. *BBRC*. 2008 375:614)

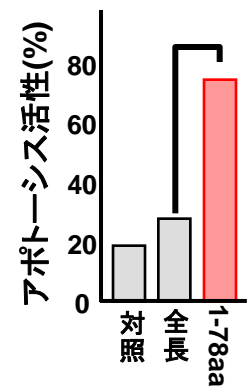
●断片化REICによる小胞体ストレス上昇とアポトーシス活性の増強



小胞体ストレス活性測定

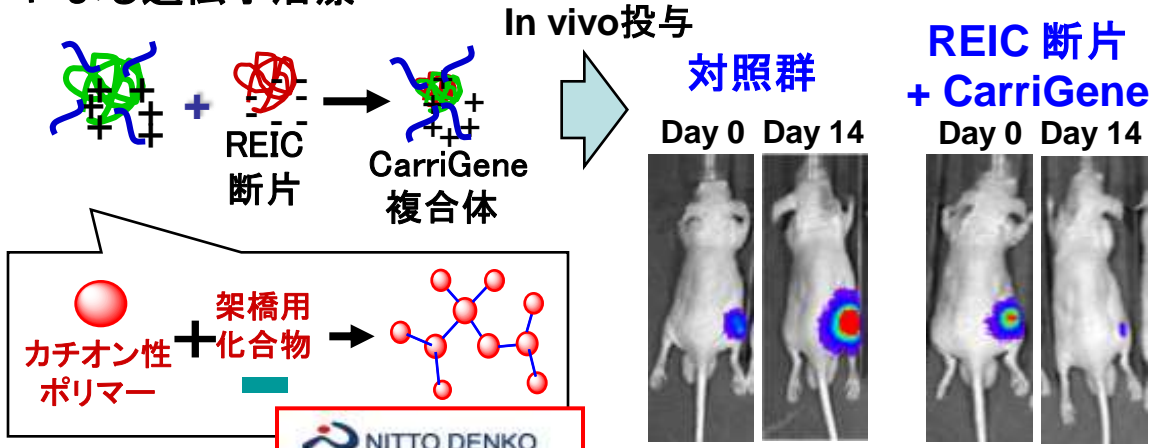


アポトーシス活性比較



REIC遺伝子N末端78アミノ酸 (1-78REIC)が小胞体ストレスによるアポトーシスを顕著に誘導

●生分解性ポリマー『CarriGene』とREIC断片複合体による遺伝子治療



REIC断片によって、より強力に小胞体ストレスおよびアポトーシスを誘導

CarriGene+REIC断片投与群で有意に腫瘍縮小

次世代非ウイルスベクターによる新規遺伝子医薬の臨床開発を推進

応用特許②PCT/JP2007/071170
②REIC断片によるがん治療薬

ヒト前立腺がん細胞株(PC-3)



Ad-REIC

がん選択的アポトーシスと抗がん免疫の活性化

感受性がん細胞

正常細胞

抵抗性がん細胞

非折り畳み
REICタンパク
(unfolded REIC)

小胞体ストレスに対する
感受性の差

REICタンパクの分泌

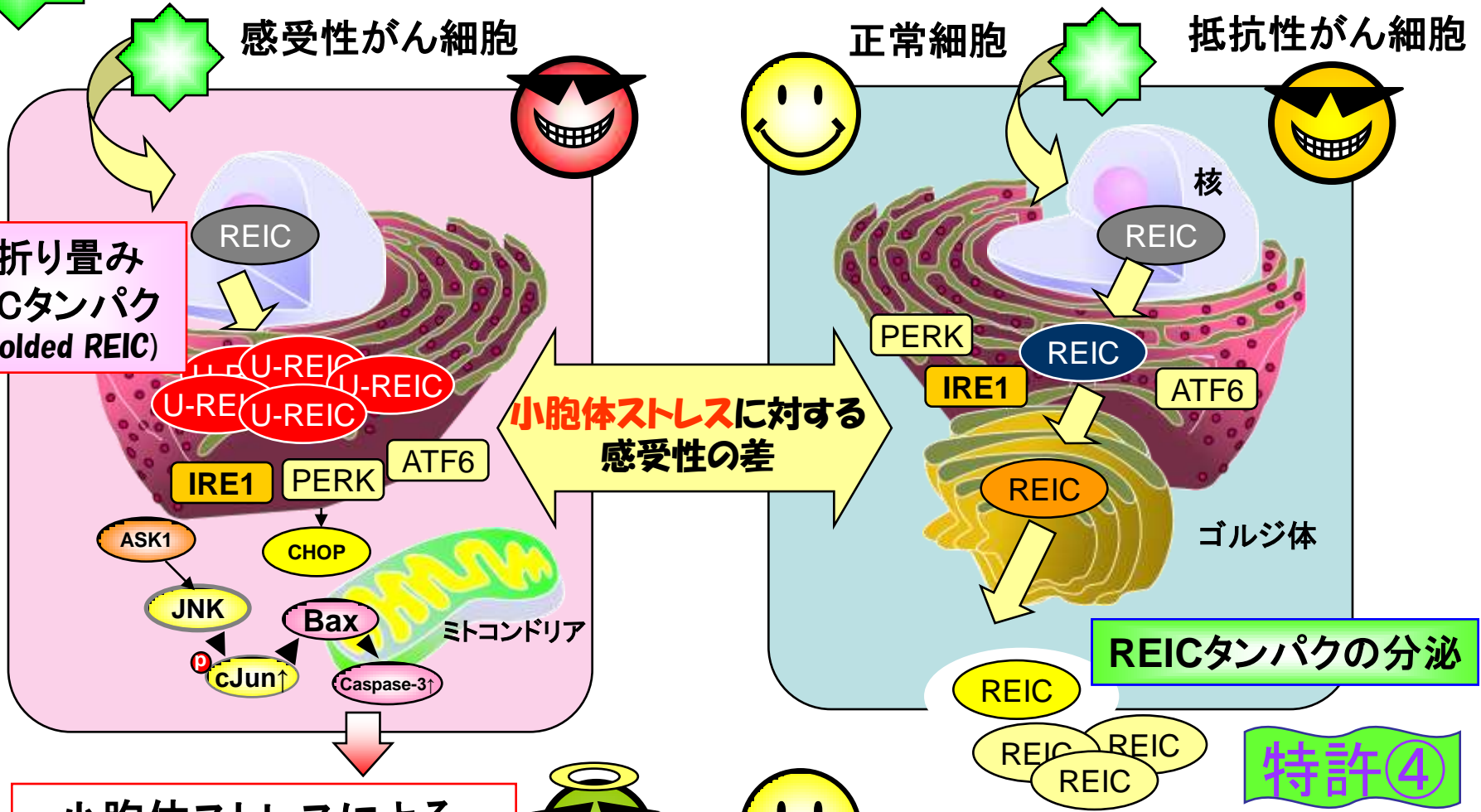
小胞体ストレスによる
がん選択的アポトーシス

抗がん免疫活性化作用

前立腺癌細胞のアポトーシス誘発剤
特願2005-073807, PCT/JP2006/300411

単球から樹状細胞様分化を誘導し、抗癌免疫活性を高める
癌の治療又は予防のための医薬組成物 特願2008-086516

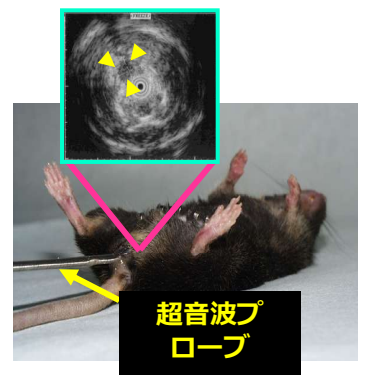
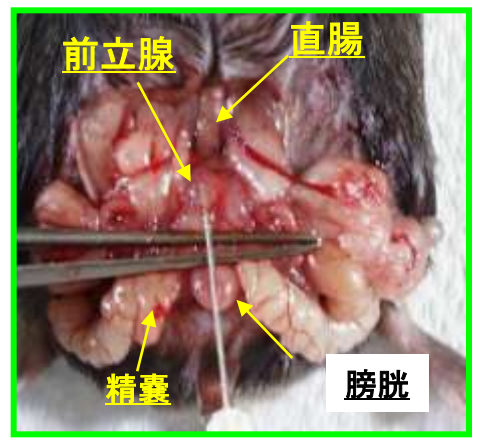
特許④



特許④

マウス前立腺がん同所性(同時性肺転移)モデル REIC遺伝子発現アデノウイルス(Ad-REIC)による遺伝子治療

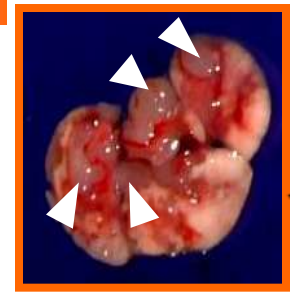
マウス前立腺がん同所性モデル



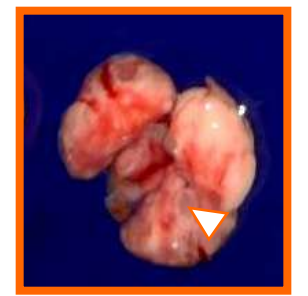
経直腸的超音波

RM9細胞(マウス由来)移植前立腺癌

肺転移巣



対照群

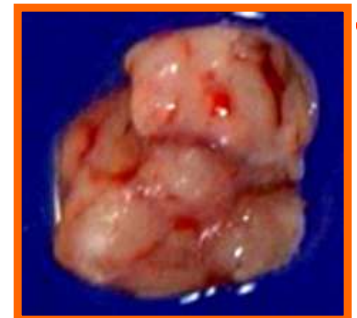


REIC治療群

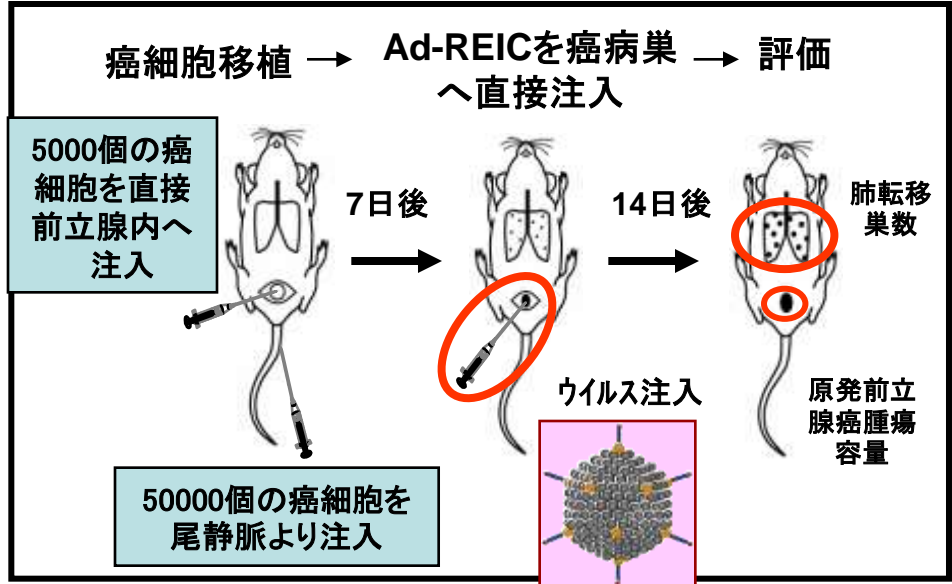
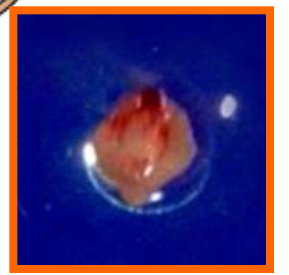
全身性の
抗がん免疫
活性化



直接的抗がん作用
+
隣接がん細胞への
波及効果
(バイスタンダー効果)



前立腺がん原発巣

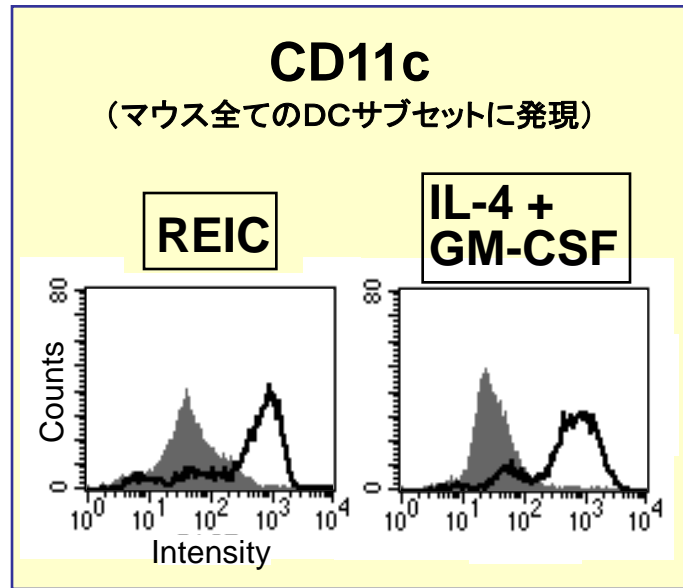
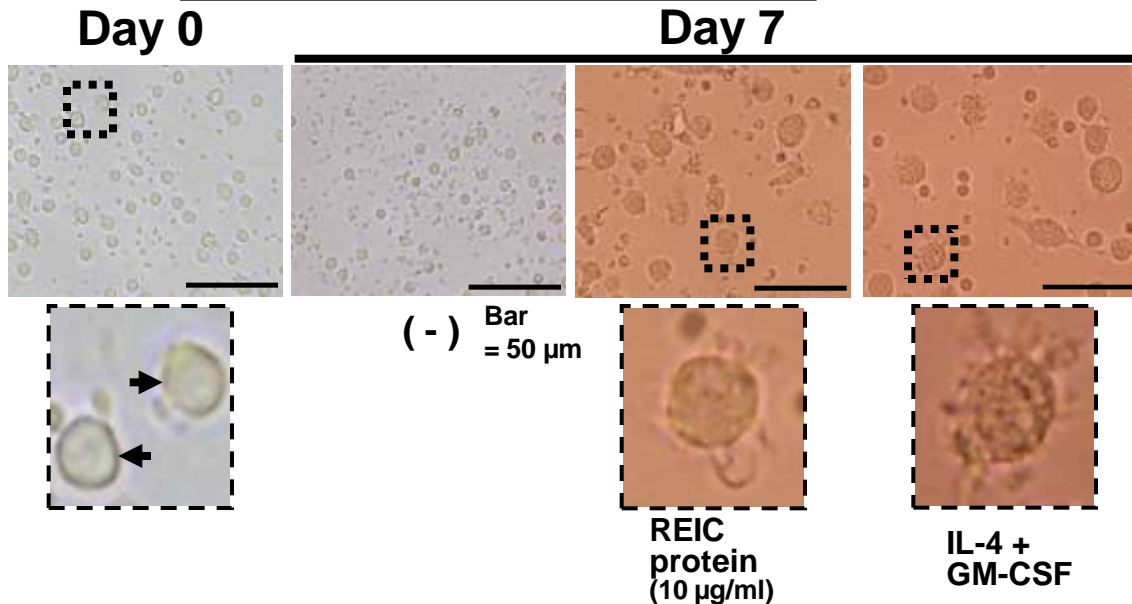


特許④

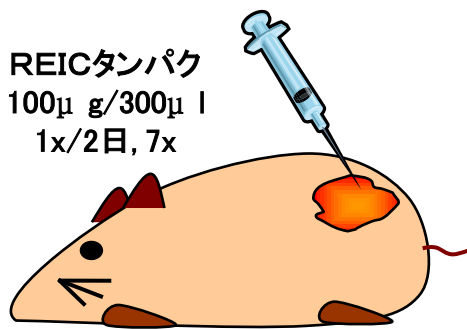
精製REICタンパク質の抗がん免疫活性化作用

樹状細胞様細胞の分化誘導

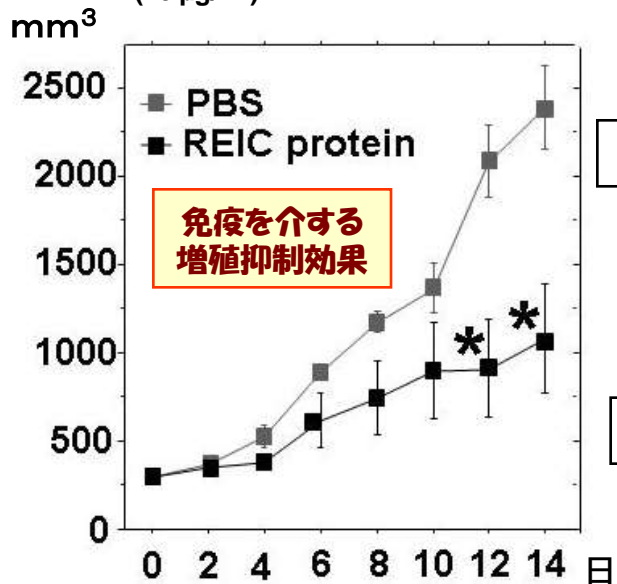
(Watanabe et. al. Int J Oncol. 2008, in press)



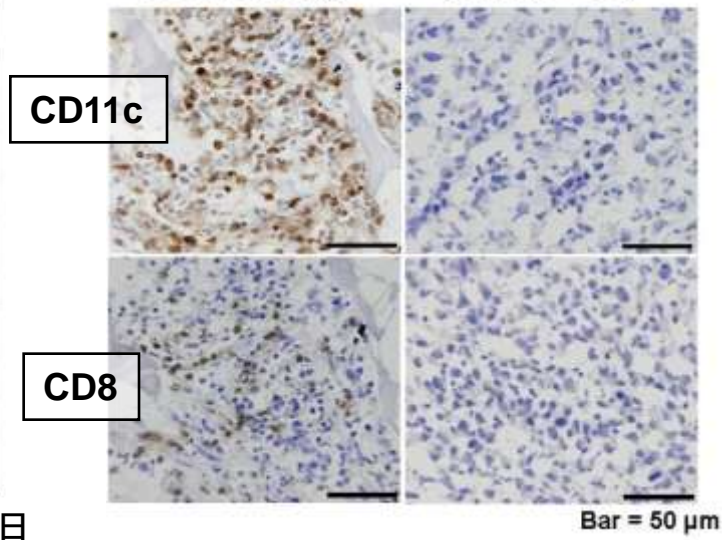
直接的抗腫瘍効果



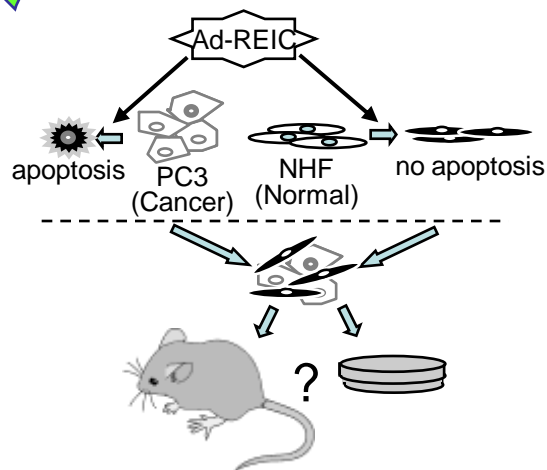
マウス前立腺がん細胞RM7
接種後7日目の皮下腫瘍



タンパク治療 対象(PBS)



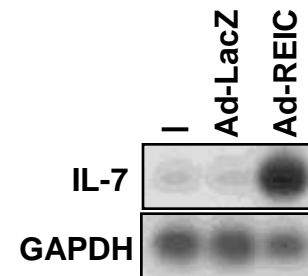
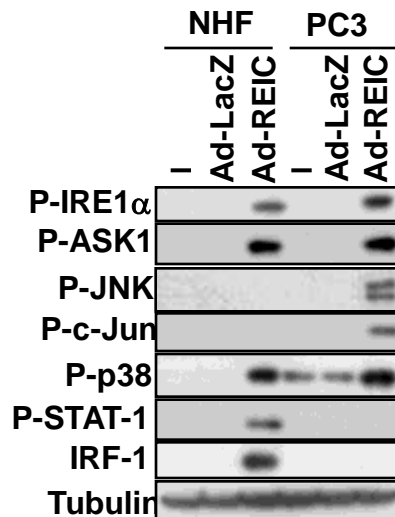
REICによる抗がん免疫賦活化作用 (IL-7を介する新しい機序)



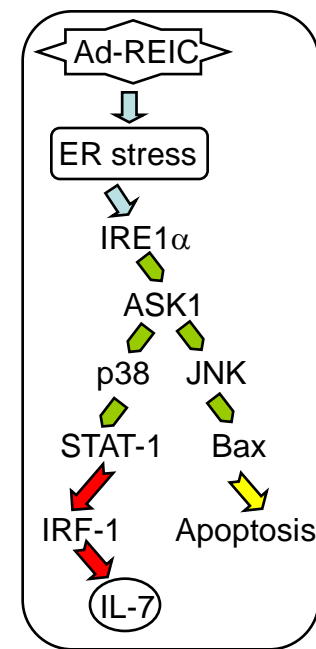
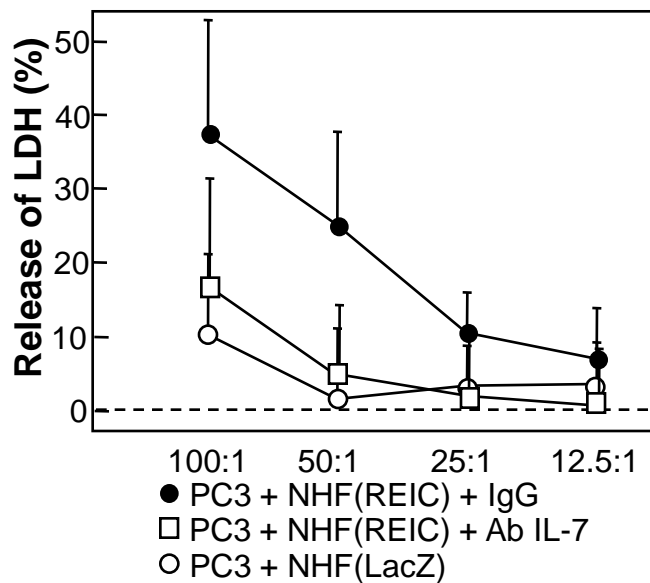
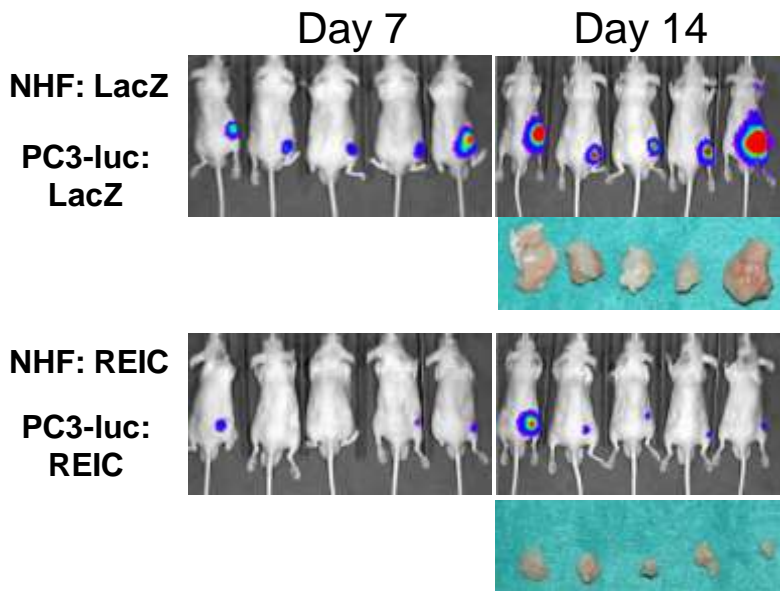
PC3 + NHF(Ad-LacZ)



PC3 + NHF(Ad-REIC)



| IL-7 pg/10 ⁴ cells/48hr | |
|------------------------------------|-----|
| NHF | < 5 |
| NHF+Ad-LacZ | < 5 |
| NHF+Ad-REIC | 35 |



Ad-REIC

がん選択的アポトーシスと抗がん免疫の活性化

感受性がん細胞

正常細胞

抵抗性がん細胞

非折り畳み
REICタンパク
(unfolded REIC)

小胞体ストレスに対する
感受性の差

REICタンパクの分泌

小胞体ストレスによる
がん選択的アポトーシス

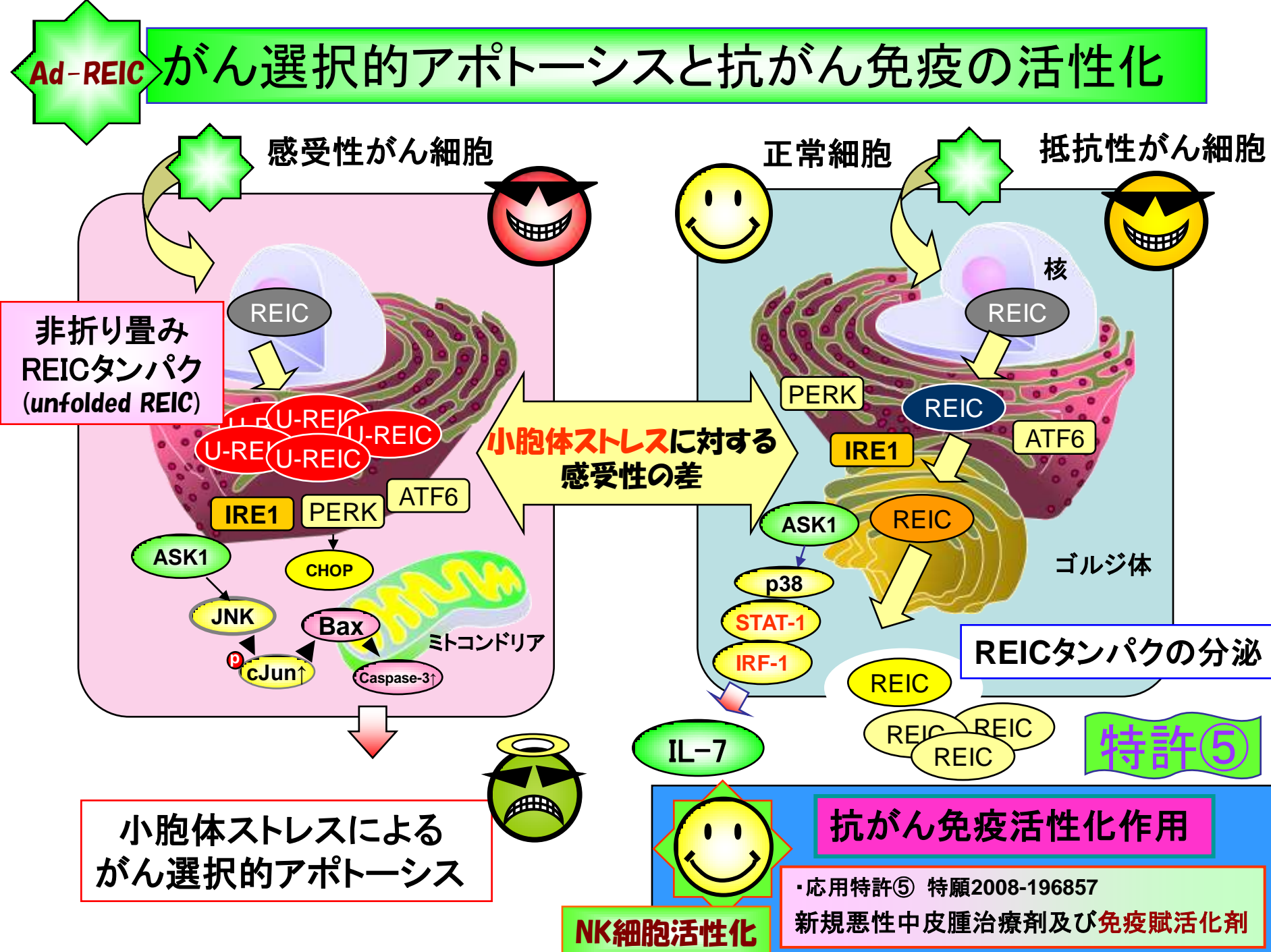
抗がん免疫活性化作用

NK細胞活性化

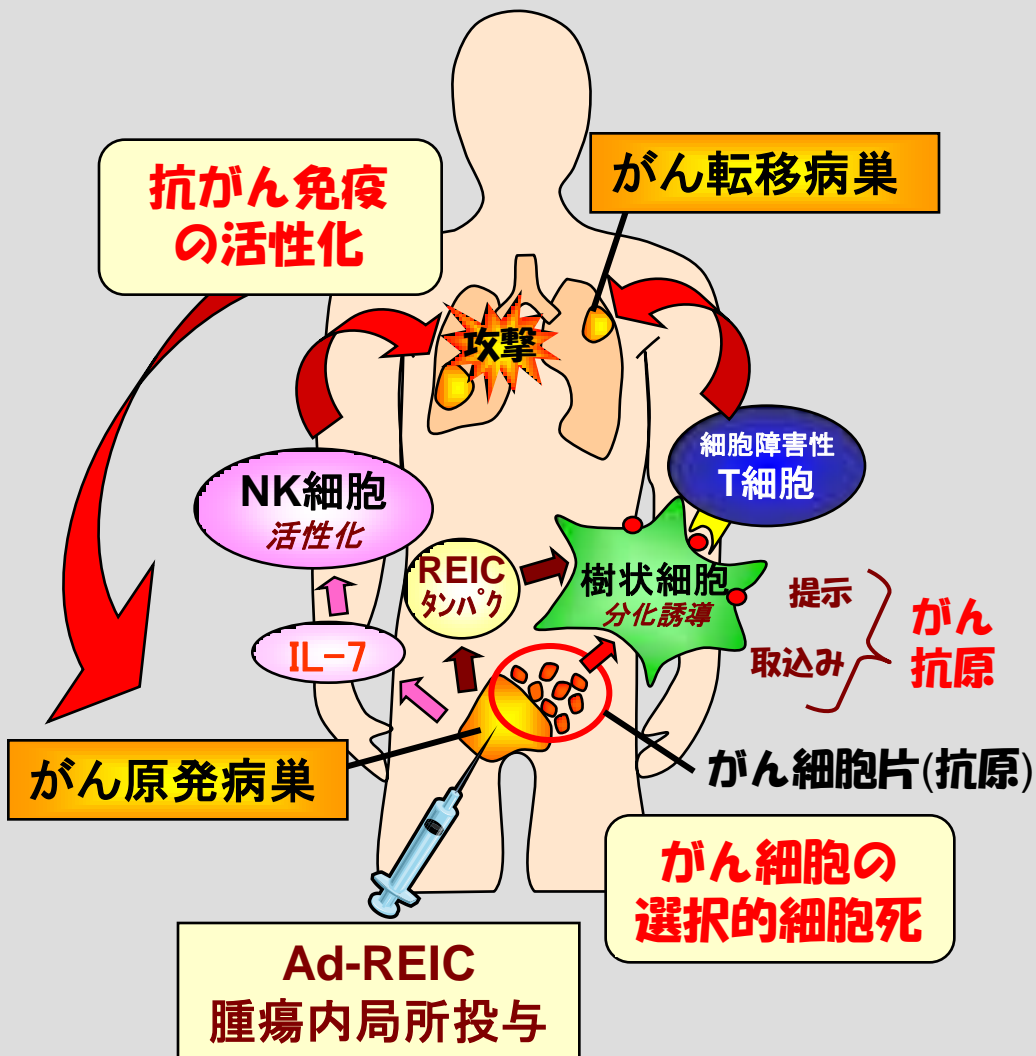
・応用特許⑤ 特願2008-196857

新規悪性中皮腫治療剤及び免疫賦活化剤

特許⑤



「夢のがん治療遺伝子REIC」 作用メカニズム



●がん細胞の選択的細胞死

⇒大量のがん細胞のアポトーシスが、がん抗原の自己免疫系への最良の提示法となる。

●細胞障害性T細胞(CTL)の誘導

⇒REICタンパクの樹状細胞分化誘導能が、がん細胞を攻撃するCTLの誘導における最適環境を構築する。

●NK(ナチュラルキラー)細胞の活性化

⇒NK細胞が、CTLで攻撃できないがん細胞を殺傷する。

悪性中皮腫、ホルモン抵抗性前立腺がんなど
現在治療法が確立されていない多くの
固形がんに対する革新的医療としての
遺伝子医薬*を実現する可能性が極めて高い!

*ヒト遺伝子の改変や組換えとは関係のない標的医薬!

がん治療のパラダイムシフトを目指す 革新的標的医療の創造

- ・がん細胞選択的細胞死の誘導
- ・抗がん免疫の活性化
- ・多種類のがんに幅広く適用
⇒がん予防のための遺伝子治療と
遺伝子・分子創薬への展開



Ad-REIC

御清聴ありがとうございました



REIC/Dkk-3
protein

1-78REIC +
CarriGene

魔法弾丸REIC/Dkk-3
⇒多数の実用的特許と豊かな将来性