

令和 4 年 10 月 17 日現在

機関番号：82626

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14986

研究課題名(和文)再発のないがん治療薬の作用原理の究明

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanisms of a novel recurrent-resistant anticancer drug

研究代表者

栗崎 晃(Kurisasi, Akira)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・創薬基盤研究部門・上級主任研究員

研究者番号：60346616

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：すい臓がんは予後が悪い難治がんであり、進行するまで自覚症状が無く、早期発見が困難である。最近がんの再発には抗がん剤耐性のがん幹細胞の関与が示唆されており、がん幹細胞を標的とした治療の必要性が指摘されている。我々は、分化促進作用を有する化合物を探索し、in vitroですい臓がん幹細胞の自己制御機能を抑制する化合物を同定した。さらにすい臓がん細胞株を用いた担癌モデルマウスで腫瘍抑制効果を解析した結果、本薬剤投与で腫瘍の増殖が抑制された。現在複数のすい臓がん細胞株を用いて、この化合物の抗腫瘍活性の有効性の検証とその作用機序の解析を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

すい臓がんは進行するまで自覚症状が無いため、早期発見が困難であり、予後が非常に悪く5年生存率も非常に低いことが知られている。本研究では、これまでの増殖性の高いがん細胞に取り込まれてDNA合成を阻害する抗がん剤とは異なり、幹細胞を強制的に分化させる薬剤を利用した新たながん抑制方法を検討した。このような新たなアプローチを既存の抗がん剤と組み合わせることで、より効果が高い抗がん剤の開発が期待される。

研究成果の概要(英文)：Pancreatic cancer is well known as one of the most difficult cancers because of its asymptomatic nature and difficulty in early diagnosis. Recent studies suggested that cancer stem cells (CSCs) are involved in drug-resistance and hamper tumor therapy. Thus, CSC-focused therapy is getting important for effective anticancer strategy. We looked for small chemicals that show stem cell differentiation abilities and identified one of the compounds that can inhibit self-regulatory functions of pancreatic CSCs. Moreover, we analyzed in vivo anticancer effect of the compound using nude mice transplanted with pancreatic cancer cell lines and found anticancer effect of the compound. Currently, we are validating the effect of this compound using several different pancreatic cell lines and exploring the mechanisms of anticancer effect of this compound.

研究分野：幹細胞生物学

キーワード：がん 幹細胞 分化

1. 研究開始当初の背景

すい臓がんは、かなり進行するまで自覚症状が無く、早期発見が困難で、予後が非常に悪いがんである。すい臓がんに対する抗がん剤は、含フッ素ヌクレオシドのゲムシタピンが標準的な治療薬として使用されているが、生存期間の改善が見られるものの、ほとんどの患者はこれら薬剤に耐性のがんの再発により死亡し、5年生存率が7 - 8%と非常に低いことが知られている。近年、開発が進んでいる分子標的薬に関しては、がんの遺伝子変異等を調べて最適な分子標的薬投与することで、的確に治療効果を上がり延命効果がみられるものの、いずれ薬剤耐性がんによりこれらの抗がん剤が有効性を示せなくなる傾向がある。一方、近年多くのがんでがん幹細胞が抗がん剤耐性のがんの再発に関与していることが報告されており、がん幹細胞を標的とした新たな薬剤の必要性が指摘されている。

2. 研究の目的

我々はこれまでES細胞やiPS細胞などの多能性幹細胞の分化誘導研究を行ってきた。そこで本研究では、幹細胞の分化誘導化合物をヒントにして、すい臓がん幹細胞の自己複製能を抑制して分化誘導する低分子化合物を探索した。がん幹細胞マーカーの発現を抑制しうる化合物の有効性とその作用機序解析を目的とした。

3. 研究の方法

マウスES細胞を分化誘導する際に使用される様々な低分子や関連化合物候補から、がん幹細胞を含む細胞集団を分化させ、その増殖を抑制しうる化合物を探索するため、低接着ディッシュを用いたin vitro浮遊培養系でその細胞増殖抑制能を測定した。さらに、有望化合物について、がん幹細胞マーカーの発現抑制作用を定量的RT-PCRにより検証した。

また、すい臓がんを免疫不全マウスの皮下に移植した担癌モデルマウスに候補化合物を1か月程度投与し、腫瘍増殖抑制効果やがん幹細胞マーカー発現抑制効果を検証した。

4. 研究成果

我々の同定した候補化合物は、すい臓がん細胞株L3.6pl細胞を用いた低接着ディッシュによるin vitro浮遊培養系で μM オーダーの濃度で実際に足場非依存的な細胞塊形成を抑制し、ALDH1やCD133等のがん幹細胞マーカーの発現抑制を示すことを確認した。また、この細胞株をヌードマウス皮下に移植して作製した担癌マウスに、本化合物を1ヶ月程度投与したところ、コントロール群と比較して細胞増殖を顕著に抑制した。この際、腫瘍形成時に見られる体重減少はコントロール群と比較して緩やかであることが観察された。さらに腫瘍組織を免疫蛍光染色により観察してみたところ、本候補薬剤投与により、CD31陽性の血管内皮細胞の減少、Ki67陽性の増殖性細胞の減少、さらにcleaved caspase3陽性のアポトーシス細胞の増加が観察されたことから、血管新生の抑制や細胞増殖の抑制により腫瘍形成が抑制されることが示唆された。また、腫瘍におけるALDH1やCD133等のがん幹細胞マーカーの発現についてもフローサイトメトリーによる解析から発現低下傾向にあることが確認された。以上の結果から、本候補化合物はin vivoにおいても腫瘍抑制効果を示し、がん幹細胞に対しても有効性を示す可能性が示唆された。次に、既存薬である増殖性細胞に取り込まれてDNA複製作用を示す含フッ素ヌクレオシドであるゲムシタピンとの併用効果についてin vitroの浮遊培養系とin vivoのヌードマウス皮下移植モデルで検証した。その結果、本候補化合物は、ゲムシタピンの腫瘍抑制効果をさらに増強する有意な腫瘍抑制効果を有することが確認された。

次に、本候補化合物の作用機序について知見を得るため、がん幹細胞を含むと考えられる in vitro 浮遊培養系で本化合物を投与し、経時的にサンプリングして RNA を調製してマイクロアレイ解析を行い、その結果のバイオインフォマティクス解析を行っている。

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 4 件)

○ Identification of novel proteins differentially expressed in pluripotent embryonic stem cells and differentiated cells. Enomoto K, Watanabe-Susaki K, Kowno M, Takada H, Intoh A, Yamanaka Y, Hirano H, Sugino H, Asashima M, Kurisasi A. J Med Invest. 2015 62(3-4):130-136.

○ Lipase member H frequently overexpressed in human esophageal adenocarcinomas. Ishimine H, Zhou R, Sumitomo K, Ito Y, Seki Y, Yoshida Y, Kurisasi A. Tumour Biol. 2016 37(2):2075-2081.

○ Emerging roles of nucleolar and ribosomal proteins in cancer, development, and aging. Takada H, Kurisasi A. Cell Mol Life Sci. 2015 72(21):4015-4025.

○ Generation of stomach tissue from mouse embryonic stem cells. Noguchi TK, Ninomiya N, Sekine M, Komazaki S, Wang PC, Asashima M, Kurisasi A. Nat Cell Biol. 2015 17(8):984-993.

[学会発表](計 6 件)

○ 栗崎 晃 ミニ胃組織オーガノイドを用

いた創薬応用 バイオジャパン 2016 口頭発表(横浜)2016年10月

○ Takada H, Kida Y, Kurisasi A. Spheroid culture condition optimally expands angiogenic cells of adipose tissue-derived stromal vascular fraction 第14回国際幹細胞生物学会ポスター発表(サンフランシスコ)2016年6月

○ 栗崎 晃、山川哲生、久保陽子、大高真奈美、中西真人 樹立法の違いによるヒト iPS 細胞の品質と分化への影響 第89回日本組織培養学会総会 シンポジウム 口頭発表(大阪)2016年5月

○ 栗崎 晃 E S細胞を用いた胃組織の分化誘導 武田薬品工業主催 第2回 H Pylori 陰性時代の課題を探る シンポジウム 特別講演(京都)2015年11月28日

○ Noguchi TK, Ninomiya N, Wang PC, Asashima M, Kurisasi A. Generation of stomach tissue from mouse embryonic stem cells. 第13回国際幹細胞生物学会ポスター発表(ストックホルム)2015年6月

○ Kurisasi A. Stem cell regulation and differentiation Special LICR-IMBIM Tumor Biology Seminar 口頭発表(ウプサラ、スウェーデン)2015年6月

[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：

取得年月日：

取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

〔その他〕

ホームページ等

<https://unit.aist.go.jp/brd/jp/groups/scerg/scerg.html>

6．研究組織

(1)研究代表者

栗崎 晃 (Akira Kurisaki)

産業技術総合研究所・創薬基盤研究部門・上級主任研究員

研究者番号：60346616

(2)研究分担者

高田仁実 (Hitomi Takada)

産業技術総合研究所・創薬基盤研究部門・研究員

研究者番号：80641068

(3)連携研究者

(4)研究協力者