

令和 2 年 7 月 3 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10975

研究課題名(和文) プリスチメリンを用いた新規骨肉腫治療薬の開発

研究課題名(英文) Development of a novel therapeutic drug for osteosarcoma using pristimerin

研究代表者

寺内 竜 (Terauchi, Ryu)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：20575154

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：他のがんと比較して、骨・軟部肉腫に対する確立した治療法はなく、新しい治療薬が必要とされています。プリステメリン(PM)は、乳房や前立腺などのさまざまな癌に対して抗腫瘍効果があると報告されています。この研究の目的は、ヒト骨肉腫細胞に対するPMの抗腫瘍効果を評価することでした。ヒト骨肉腫細胞株であるMNNGおよび143Bを用いて、細胞増殖抑制効果、アポトーシス誘導能を有し、Akt経路を介して作用することを示しました。また、in vivoでも抗腫瘍効果を有することを示しました。この研究の結果は、PMがヒト骨肉腫の成長を阻害し、この疾患の新しい治療薬になる可能性があることを明らかにしました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、プリステメリン(以下、PM)の抗腫瘍効果の検討を、in vitroおよびin vivoで行った。In vitroで、PMは肉腫細胞に対しては濃度依存性に抗腫瘍効果を認め、正常細胞における影響は低値であった。また、in vivoにおいても、抗腫瘍効果を認めつつ、マウスの体重や肝機能へは明らかな影響を及ぼさなかった。このことから、PMは低濃度で十分な抗腫瘍効果を有し、なおかつ副作用の少ない理想的な薬剤であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：There are very few treatments for musculoskeletal tumors, compared to other cancers; thus, novel therapeutic drugs are needed. Pristimerin (PM) reportedly has antitumor effects on various cancers, such as of the breast and prostate. The purpose of this study was to evaluate the antitumor effects of PM on human osteosarcoma cells. Treatment of the human osteosarcoma cell lines, MNNG and 143B, with PM led to a dose-dependent decrease in cell viability. The effects of PM on apoptosis were evaluated with the Annexin V/propidium iodide assay and analysis of caspases 3, 8, and 9 activities. Western blot analysis showed that PM caused a decrease in the expression of Akt, mTOR, and NF- κ B. The volumes and weights of human osteosarcoma xenografts decreased significantly with PM treatment. The results of this study revealed that PM can inhibit human osteosarcoma growth in vitro and in vivo, and may be a novel therapeutic agent for the disease.

研究分野：運動器機能再生外科(整形外科)

キーワード：プリステメリン アポトーシス 骨肉腫 細胞増殖抑制効果

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

骨肉腫は骨原発の悪性腫瘍の代表的な疾患であり、希少がん分類される。治療は化学療法と手術療法を組み合わせを行い、術前後に施行する化学療法の奏効率が生命予後に大きく影響する。しかし骨肉腫に対する抗がん剤の種類は少なく、副作用も強い。このため既存の薬剤に対して抵抗性を有する症例や、高齢発症で副作用のために減量や中止を余儀なくされる症例においては、治療の選択に難渋する。近年、天然有機化合物由来の薬剤が注目を浴びており、プリステチメリンもその1つである。

2. 研究の目的

プリステチメリン(以下、PM)は、肉腫細胞に対して選択的に高い抗腫瘍効果をもつと考えられ、植物からの抽出成分である。本研究の目的は骨肉腫に対するプリステチメリンの抗腫瘍効果を検証し、治療効果と安全性を兼ね備えた新規がん治療薬開発の礎を築くことである。

3. 研究の方法

今回の研究ではヒト骨肉腫細胞株(MNNG、143B)を用いて、PMの抗腫瘍効果を検討した。

PMの細胞増殖抑制効果をRealTime-glo MT cell Viability assayで測定した。

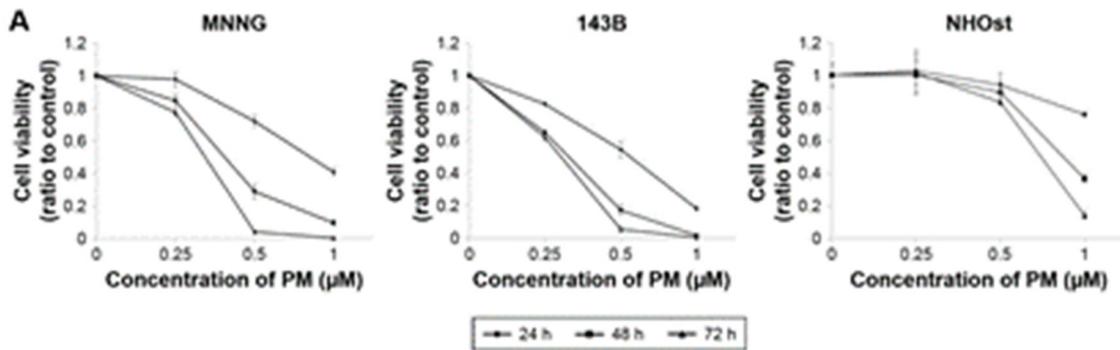
PMのアポトーシス誘導能を、Annexin V/PI staining assay、Caspase assayで検討した。

PMのシグナル伝達経路への作用をWestern blot assayで評価した。

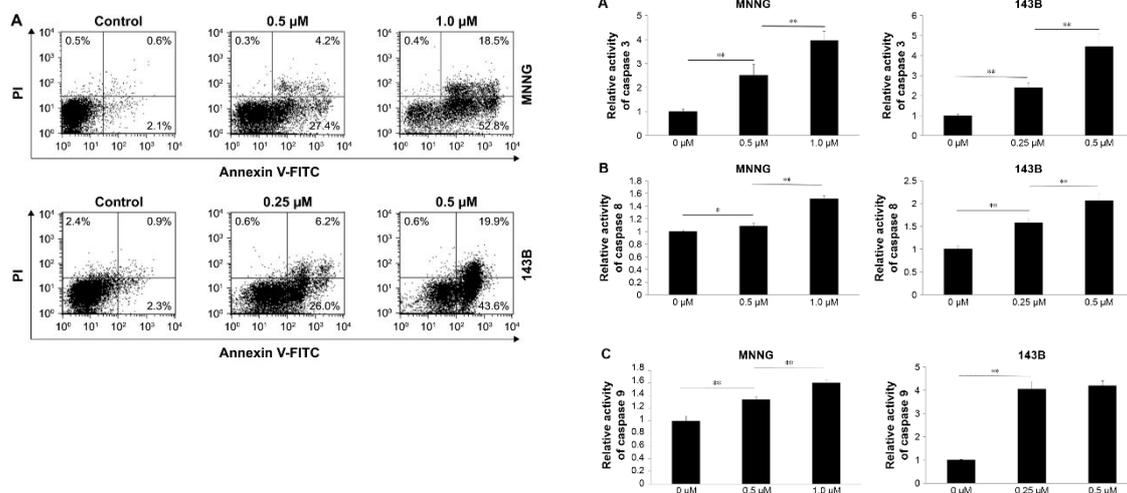
ヌードマウスを用いて、in vivoにおけるPMの抗腫瘍効果の検討を行った。

4. 研究成果

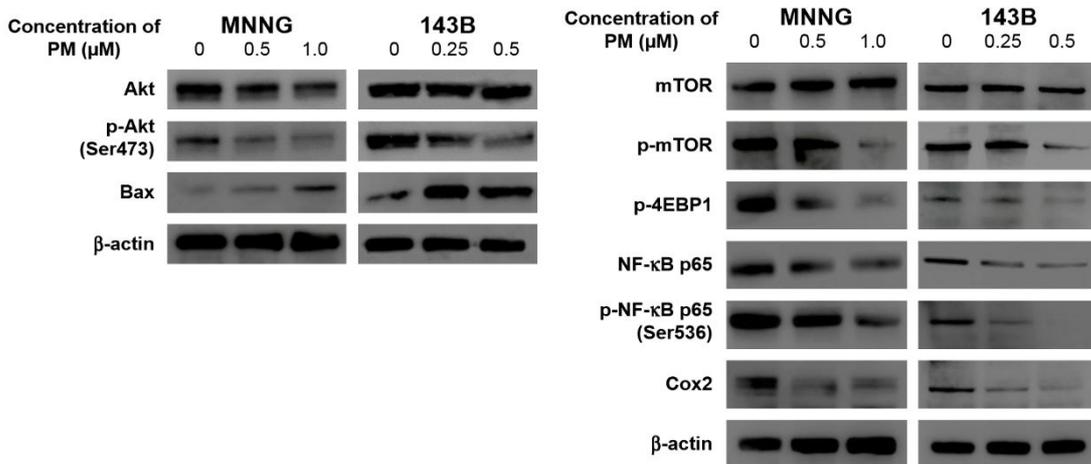
PMは濃度・時間依存性に、ヒト骨肉腫細胞に対して細胞増殖抑制効果を認めた。正常骨芽細胞(NHOst)への影響は低値であった。



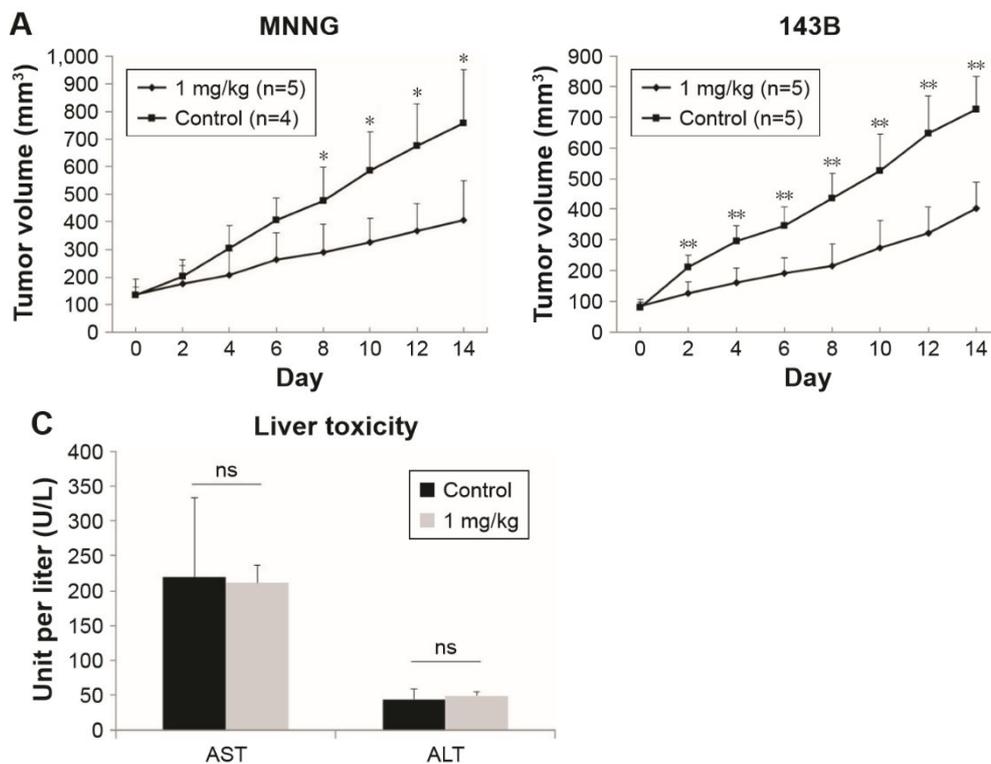
PMは濃度依存性に、骨肉腫細胞に対してアポトーシスを誘導した。また、Caspase経路のうち、上流(Caspase-8,9)および下流(Caspase-3)の両方で、濃度依存性に活性化させた。



PM は Akt、mTOR よび NF- κ B のリン酸化を抑制し、mTOR の下流にある 4EBP1、NF- κ B の下流にある Cox2 の発現も抑制した。また、アポトーシス促進因子である Bax の発現を増加させ、アポトーシス抑制因子である Bcl-2 の発現を低下させた。



in vivo において PM は腫瘍体積の増大を有意に抑制した。また、肝機能異常も認めなかった。



PM は、*in vitro* および *in vivo* の両方で抗腫瘍効果を認めた。PM は、アポトーシスを誘導することで細胞増殖抑制効果を呈すると考え、それには Akt 経路およびカスパーゼ経路が関わっていると考えられる。PM は、正常細胞への影響が少なく、低用量で十分な抗腫瘍効果を認めたことから、今後臨床応用できる可能性があると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Mori Y, Shirai T, Terauchi R, Tsuchida S, Mizoshiri N, Hayashi D,	4. 巻 10
2. 論文標題 Antitumor effects of pristimerin on human osteosarcoma cells in vitro and in vivo.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 OncoTargets and Therapy	6. 最初と最後の頁 5703-5710
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2147/OTT.S150071.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 林 大智, 白井寿治, 寺内 竜, 土田真嗣, 溝尻直毅, 森 裕貴, 勝山祐誠, 新井祐志, 松田 修, 久保俊一
2. 発表標題 天然有機化合物であるプリステメリンの骨肉腫細胞に対する抗腫瘍効果
3. 学会等名 日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 林 大智, 白井寿治, 寺内 竜, 土田真嗣, 溝尻直毅, 森 裕貴, 勝山祐誠, 新井祐志, 松田 修, 久保俊一
2. 発表標題 天然有機化合物であるプリステメリンの線維肉腫細胞に対する抗腫瘍効果
3. 学会等名 日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Daichi Hayashi, Toshiharu Shirai, Ryu Terauchi, Shinji Tsuchida, Naoki Mizoshiri, Yuki Mori, Yuji Arai, Osam Mazda, Toshikazu Kubo
2. 発表標題 Efficacy of pristimerin for soft tissue sarcoma in vitro and in vivo study
3. 学会等名 ORS 2019 Annual Meeting（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森 裕貴, 白井寿治, 寺内 竜, 土田真嗣, 溝尻直毅, 新井祐志, 松田 修, 久保俊一
2. 発表標題 天然有機化合物であるプリステメリンの骨肉腫細胞株に対する抗腫瘍効果の検討
3. 学会等名 第32回 日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Mori Y, Shirai T, Terauchi R, Tsuchida S, Mizoshiri N, Hayashi D, Yuji A, Mazda O, Kubo T
2. 発表標題 Antitumor effects of pristimerin on human osteosarcoma cells in vitro and in vivo
3. 学会等名 ORS 2018 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	白井 寿治 (Shirai Toshiharu) (20397186)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授 (24303)	
研究分担者	新井 祐志 (Arai Yuji) (50347449)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授 (24303)	