

令和 2 年 7 月 2 日現在

機関番号：33920

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16820

研究課題名(和文)腎癌細胞におけるArtemisinin誘導体の抗腫瘍作用の検討

研究課題名(英文)Anticancer effect of artemisinin derivatives in renal cell carcinoma cells.

研究代表者

小林 郁生(Kobayashi, Ikuo)

愛知医科大学・医学部・助教

研究者番号：80620046

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円

研究成果の概要(和文)：1)Artemisinin誘導体であるDihydroartemisinin(DHA)、artesunate(ARTES)において腎細胞癌株への増殖抑制効果を確認した。2)Artesunateは腎細胞癌細胞周期においてG2 arrestを誘導していると考えられた。3)DHA, artesunateは腎細胞癌株においてアポトーシスを誘導することが示された。4)腎細胞癌株SKRC-7, 12, 17, 33, 59をヌードマウスへ皮下移植し、腫瘍モデルマウスの作成が可能であることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、artemisinin誘導体は、腎細胞癌細胞の増殖を抑制することが示された。これによって、腎細胞癌治療のひとつとして、artemisinin誘導体の使用の可能性が示唆された。artemisinin誘導体は、現在マラリア治療薬として使用されており、腎癌治療においても臨床的に使用しやすい可能性が考えられ、腎癌治療の発展に寄与する期待がある。

研究成果の概要(英文)：Administration of dihydroartemisinin and artesunate showed tumor growth suppression in all RCC cell lines. But artemisinin and deoxyartemisinin did not show growth suppression. Cell cycle analysis showed that cell cycle distribution after treatment by dihydroartemisinin or artesunate indicated a rise of percentage of cells in G2-M phase. SK-RC-7 cells treated with artesunate accumulated at the G2-M (45.4%) phase, compared with mock-treated cells (20.8%). Artesunate induced apoptosis on SK-RC-7 cells by the meaning of Annexin V analysis. Dihydroartemisinin and artesunate inhibited tumor proliferation of RCC cell lines. This study suggested that artemisinin derivatives could be an effective remedy to advanced RCC.

研究分野：腎細胞癌

キーワード：artemisinin 腎細胞癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

進行性腎細胞癌に対する薬物治療は、従来より行われてきたサイトカイン療法に替わり、分子標的薬が治療の中心となっている。現在までに種々の治療薬が使用され生存率の改善を認めているが、奏効率、副作用の面において依然厳しい状況である。現状においても、より効果的で、安全性の高い治療法の開発が望まれている。

2. 研究の目的

近年、抗マラリア薬として使用されている artemisinin の抗悪性腫瘍効果の報告が相次いでおり、泌尿器科系悪性腫瘍に対する効果も期待できる。本研究では、腎癌細胞に対する artemisinin (誘導体) の抗腫瘍効果と細胞障害の機序を明らかにすることで、腎細胞癌に対する新たな治療法の開発を目的としている。

3. 研究の方法

・平成 29 年度計画

Artemisinin 誘導体の腎癌細胞株における増殖抑制効果の確認

Artemisinin 誘導体をヒト腎癌細胞株に作用させることで、腫瘍細胞の増殖抑制効果が得られるかを検討する。プレートで incubate した腎癌細胞株において artemisinin (ART)、dihydroartemisinin (DHA)、deoxyartemisinin (DOX)、artesinate (ARTES) をそれぞれ種々の濃度で加え、WST-1 assay にて増殖抑制効果を検討する。先行実験にて腎細胞癌株 5 種類 (SKRC-7, 12, 17, 33, 59) において増殖抑制効果を確認できている。(前述)

サイクリン関連分子の発現、Rb 関連分子への影響の確認

種々の腎癌細胞株において artemisinin 誘導体にて処理した細胞からタンパクを抽出し、western blotting にて解析する。Rb のリン酸化への影響を確認し、解析対象として p16、p27、Rb、pRb、CKD1/2/4/6/7、CDC25A、Cyclin B/D/E を予定している。腎細胞癌に対する分子細胞学的な影響を明らかにする目的で行う。これらの実験に必要なタンパク、プライマー、抗体等はすでに準備済である。

細胞周期への影響、DNA ヒストグラムの確認

腎癌細胞株への artemisinin 誘導体の cell cycle への影響を確認する。薬剤追加下で 24 時間培養を行い、処理した細胞を Flow cytometry にて PI 染色を行い調べる。Cell cycle における arrest の有無を確認する。

腎癌細胞株のアポトーシス誘導の確認

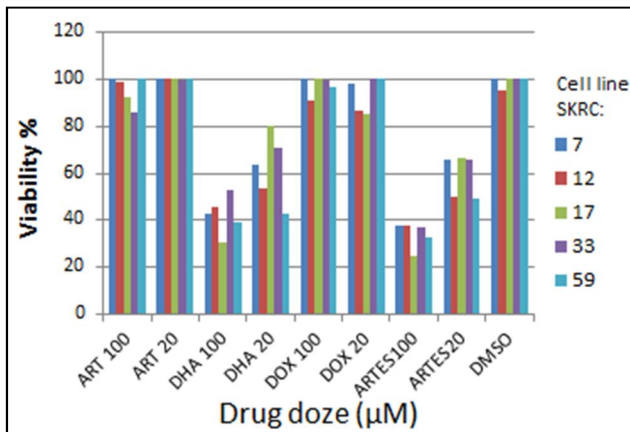
前述において細胞増殖抑制、Rb のリン酸化が抑制されたことによる G2 arrest が確認されれば、アポトーシスの誘導が予想される。そのため以下の方法でアポトーシスの確認をする。

FITC 標識した Annexin V をプレートに投与し、FACS で解析する。

4. 研究成果

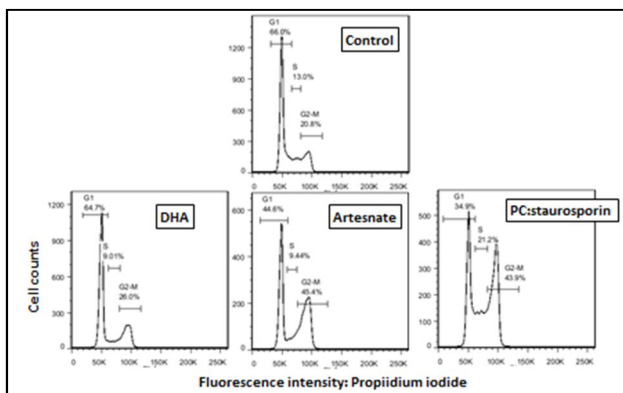
1). Artemisinin 誘導体の腎癌細胞株における増殖抑制効果の確認

Artemisinin 誘導体をヒト腎癌細胞株に作用させることで、腫瘍細胞の増殖抑制効果が得られるかを検討した。プレートで incubate した腎癌細胞株 5 種類 (SKRC-7,12,17,33,59) において artemisinin(ART)、dihydroartemisinin(DHA)、deoxyartemisinin(DOX)、artesinate(ARTES)をそれぞれ種々の濃度で加え、WST-1 assay にて増殖抑制効果を検討した。DHA と ARTES において増殖抑制効果を確認できた。



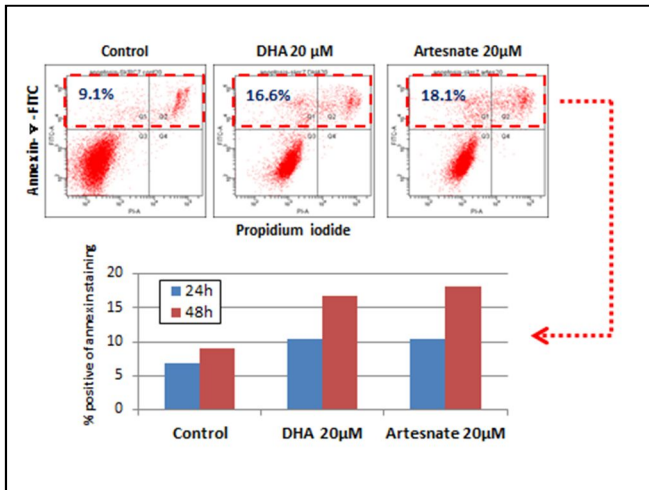
2).細胞周期への影響、DNA ヒストグラムの確認

腎癌細胞株への artemisinin 誘導体の cell cycle への影響を確認した。薬剤投与下で 24 時間培養を行い、処理した細胞を Flow cytometry にて PI 染色を行い調べ、腎癌細胞の cell cycle における影響を確認した。Artesinate において G2/M 期の増加を認め、腎細胞癌細胞周期において G2 arrest を誘導していると考えられた。



3).腎癌細胞株のアポトーシス誘導の確認

FITC 標識した Annexin V をプレートに投与し、FACS で解析した。DHA, artesinate は腎細胞癌株においてアポトーシスを誘導することが示された。



4). 腎癌細胞株のヌードマウスへの移植方法の確立

腎細胞癌株 SKRC-7, 12, 17, 33, 59 をヌードマウスへ皮下移植し、腫瘍モデルマウスの作成が可能であることを確認した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小林郁生、吉川 和宏、村松 洋行、梶川 圭史、西川 源也、渡邊 将人、金尾 健人、鈴木 進、中村 小源太、住友 誠
2. 発表標題 腎癌細胞におけるArtemisinin誘導体の抗腫瘍作用の検討
3. 学会等名 泌尿器分子細胞研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林郁生、吉川 和宏、村松 洋行、梶川 圭史、西川 源也、渡邊 将人、金尾 健人、鈴木 進、中村 小源太、住友 誠
2. 発表標題 腎癌細胞に対するArtemisinin誘導体の抗腫瘍作用の検討
3. 学会等名 第106回泌尿器科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林郁生、吉川 和宏、村松 洋行、梶川 圭史、西川 源也、渡邊 将人、金尾 健人、鈴木 進、中村 小源太、住友 誠
2. 発表標題 腎癌細胞におけるArtemisinin誘導体の抗腫瘍作用の検討
3. 学会等名 泌尿器分子細胞研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林郁生、吉川 和宏、村松 洋行、梶川 圭史、西川 源也、渡邊 将人、金尾 健人、鈴木 進、中村 小源太、住友 誠
2. 発表標題 腎癌細胞に対するArtemisinin誘導体の抗腫瘍作用の検討
3. 学会等名 第106回泌尿器科学会総会
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
--	---------------------------	-----------------------	----