

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K15975

研究課題名（和文）血管を標的とした抗がん剤耐性解除法の開発

研究課題名（英文）Lipid mediator induces the anti-cancer drug resistance in tumor endothelial cells

研究代表者

小林 幸司（Kobayashi, Koji）

東京大学・大学院農学生命科学研究科（農学部）・特任助教

研究者番号：40826484

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：抗がん剤はがんの治療に広く使用されるが、がんの耐性獲得が問題となっている。本研究では生理活性を持つ脂質が、がん血管細胞からの抗がん剤排出を促進することで、抗がん剤耐性を上昇させることを明らかにした。マウスモデルを用いた検討で、この脂質の合成酵素の阻害薬や受容体の阻害薬は、抗がん剤の効果を増強しマウスに移植したがんの成長を抑制することも証明された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんの耐性を解除することで、少ない量の抗がん剤で最大の薬効を発揮できると考えられる。そのため、抗がん剤耐性の解除法の研究は多く行われていたが、副作用や薬効に問題があるため実際に臨床で使用されているものはない。本研究では、脂質メディエーターの合成酵素を阻害することで抗がん剤の耐性が解除できることを示した。この合成酵素は末梢組織の中ではがんの血管の細胞に特異的に発現している。そのため、この酵素の阻害は、副作用が少ない抗がん剤の耐性を解除する新規の方法になる可能性が期待できる。

研究成果の概要（英文）：Anti-tumor drug is widely used for the treatment of various cancer. But tumor acquires drug resistance which significantly decreases the efficacy. In this study, I found that a lipid mediator stimulated the excretion of anti-tumor drug from tumor endothelial cells resulting in the acquisition of drug resistance. We also found that the inhibition of signaling pathway enhanced the effect of anti-tumor drug in mouse models.

研究分野：薬理学

キーワード：がん 血管 脂質メディエーター

1. 研究開始当初の背景

(1) 抗がん剤耐性の解除は新しい治療標的である

がんの治療は抗がん剤の投与によって行われている。しかし、抗がん剤は正常組織を傷害して強い副作用を引き起こす上に、長期間の投与によって耐性ができてしまう。抗がん剤耐性を解除できれば、副作用を軽減しつつ抗がん剤を長期間使用し続けることが可能であるため、新しい治療法の開発につながると考えられている。

(2) がんの血管に発現している PGDS は、がん血管の抗がん剤耐性の原因である

申請者の所属するグループでは、脂質メディエーターの一つであるプロスタグランジン D2 (PGD2) の合成酵素 (PGD synthase: PGDS) が、がん組織中の血管内皮細胞において特異的に高発現していることを明らかにした。また、培養細胞を用いた予備実験によって、PGDS の阻害薬の処置が内皮細胞の抗がん剤感受性を上昇させることを明らかにしている。これらの結果は、PGDS の阻害によって、がん血管の抗がん剤耐性が解除できることを示しており、PGDS の阻害剤と、既存の抗がん剤を併用することで、がんの血管を標的とした治療が行える可能性を示唆している。

2. 研究の目的

以上の背景に基づき、本研究では、がんの血管に特異的に発現している PGDS を阻害することで、がんの血管の抗がん剤耐性を解除し、がんの成長を抑制できるという仮説を証明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) PGDS 遺伝子ノックアウトマウスを用いた in vivo での抗がん剤耐性の検証

野生型、および PGDS のノックアウトマウスにがん細胞を移植し、抗がん剤の効果が増強されているかどうかを検証する。また、その時に、がん内の血管がどのように障害されているか検討する。

(2) 培養血管内皮細胞を用いた in vitro でのメカニズム解明

培養血管内皮細胞に PGDS の阻害薬と抗がん剤を処置し、その後どのような変化が生じるのかを解析し、PGDS 阻害がどのようなメカニズムで血管の抗がん剤耐性を解除し、がんの成長を抑制しているのか検討する。

4. 研究成果

(1) PGDS の遺伝子欠損は in vivo で抗がん剤の耐性を解除した

PGDS ノックアウトマウスにマウスの肺がん細胞を移植し、ヒトの臨床で一般的に使用される抗がん剤であるドキソルビシンを処置すると、野生型マウスと比べてがんの成長が顕著に抑制された。がん組織中の血管を免疫染色によって観察したところ、野生型マウスではドキソルビシンの処置の有無にかかわらず血管ががん内に存在したが、PGDS ノックアウトマウスではドキソルビシンの処置によって血管が大きく減少した。また、血管内皮細胞のアポトーシスが増加していることもわかった。

(2) PGDS の阻害は血管内皮細胞内の抗がん剤の濃度を増加させた

ヒトの培養血管内皮細胞にがん細胞の上清を処置することで、がん内皮細胞モデルを in vitro で確立した。この細胞は通常の細胞と比べてドキソルビシンに対する耐性が高かった

が、これは PGDS の阻害薬の処置によって解除された。また、フローサイトメトリーによる自家蛍光の評価によって、PGDS の阻害薬の処置は内皮細胞内のドキソルビシン濃度を上昇させることが分かった。さらに、がん内皮細胞モデルでは、通常の細胞と比べて薬剤を細胞外に排出するトランスポーターの発現が増加し、これは PGDS の阻害薬の処置によって解除されることも明らかにした

(3) PGDS-PGD2 シグナルは核内受容体を活性化することで薬剤トランスポーターの発現を増加させた

PGD2 の受容体である DP 受容体や CRTH2 受容体の阻害薬は培養内皮細胞のドキソルビシン耐性に影響を及ぼさなかった。しかし、PGD2 の分解産物が結合する核内受容体 PPAR の阻害薬の処置によって、内皮細胞のドキソルビシン耐性や、薬剤トランスポーターの発現が顕著に抑制された。

(4) PGDS の阻害薬の投与はマウスに投与した抗がん剤の効果を増強させた。

野生型マウスにがん細胞を移植し、PGDS 阻害薬とドキソルビシンを投与したところ、ドキソルビシン単独投与に比べてがんの成長が抑制された。しかし、これらの阻害薬は毒性が高く、ヒトの臨床に用いられるようなものではない。そこで、東京大学創薬機構の協力のもと、PGDS 阻害作用を示す化合物を探索したところ、細胞における活性を示した 6 種類の化合物が得られた。

以上の結果により、PGDS が PGD2-PPAR 経路を活性化し、がん内皮細胞の薬剤トランスポーターの発現を増加させることで、がん内皮細胞からの抗がん剤排出を促進していること、また、PGDS の阻害がこれらの経路を抑制することでがん内皮細胞の抗がん剤耐性を抑制し、抗がん剤の効果を増強させることが分かった。現在、これらの報告を論文にまとめ投稿中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Miyazaki Yusuke, Kobayashi Koji, Matsushita Seiji, Shimizu Naoyuki, Murata Takahisa | 4. 巻 149 |
| 2. 論文標題 An assessment of the spontaneous locomotor activity of BALB/c mice | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences | 6. 最初と最後の頁 46 ~ 52 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2022.03.001 | 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 - |
| 1. 著者名 Sakamoto Naoaki, Kobayashi Koji, Yamamoto Teruko, Masuko Sakura, Yamamoto Masahito, Murata Takahisa | 4. 巻 16 |
| 2. 論文標題 Automated Grooming Detection of Mouse by Three-Dimensional Convolutional Neural Network | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers in Behavioral Neuroscience | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnbeh.2022.797860 | 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 - |
| 1. 著者名 Miyata Kana, Horikami Daiki, Tachibana Yuri, Yamamoto Teruko, Nakamura Tatsuro, Kobayashi Koji, Murata Takahisa | 4. 巻 36 |
| 2. 論文標題 15 hydroxy eicosadienoic acid is an exacerbating factor for nasal congestion in mice | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 The FASEB Journal | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.202101305R | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Nagata Nanae, Hamasaki Yuta, Inagaki Shinichiro, Nakamura Tatsuro, Horikami Daiki, Yamamoto Hanada Kiwako, Inuzuka Yusuke, Shimosawa Tatsuo, Kobayashi Koji, Narita Masami, Ohya Yukihiro, Murata Takahisa | 4. 巻 35 |
| 2. 論文標題 Urinary lipid profile of atopic dermatitis in murine model and human patients | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 The FASEB Journal | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.202100828R | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 Kobayashi Koji, Ashina Kohei, Derouiche Sandra, Hamabata Taiki, Nakamura Tatsuro, Nagata Nanae, Takenouchi Shinya, Tominaga Makoto, Murata Takahisa | 4. 巻 35 |
| 2. 論文標題 5,6 dihydroxy 8Z,11Z,14Z,17Z eicosatetraenoic acid accelerates the healing of colitis by inhibiting transient receptor potential vanilloid 4 mediated signaling | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 The FASEB Journal | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.201903207RRR | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------|
| 1. 著者名 Koji Kobayashi, Seiji Matsushita, Naoyuki Shimizu, Sakura Masuko, Masahito Yamamoto, and Takahisa Murata | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Automated detection of mouse scratching behaviour using convolutional recurrent neural network | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 658 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-79965-w | 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 - |

| | |
|--|----------------------|
| 1. 著者名 Koji Kobayashi, Kohei Ashina, Sandra Derouiche, Taiki Hamabata, Tatsuro Nakamura, Nanae Nagata, Shinya Takenouchi, Makoto Tominaga, and Takahisa Murata | 4. 巻 35 |
| 2. 論文標題 5,6-dihydroxy-8Z,11Z,14Z,17Z-eicosatetraenoic acid accelerates the healing of colitis by inhibiting transient receptor potential vanilloid 4-mediated signaling | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 FASEB Journal | 6. 最初と最後の頁 e21238 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.201903207RRR | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Kobayashi Koji, Shimizu Naoyuki, Matsushita Seiji, Murata Takahisa | 4. 巻 143 |
| 2. 論文標題 The assessment of mouse spontaneous locomotor activity using motion picture | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences | 6. 最初と最後の頁 83 ~ 88 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2020.02.003 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 小林幸司、松下誠司、清水直行、益子櫻、山本雅人、村田幸久 |
| 2. 発表標題 人工知能を使ったマウスのひっかき行動の自動検出法 |
| 3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|------------------------------------|
| 1. 発表者名 小林唯、宮崎悠介、大森啓介、小林幸司、村田幸久 |
| 2. 発表標題 PGD2はがん血管内皮細胞の薬剤耐性を強化する |
| 3. 学会等名 第62回脂質生化学会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 小林唯、中村達朗、米澤智洋、金学正、篠崎達也、小林幸司、前田真吾、村田幸久 |
| 2. 発表標題 猫の尿中脂質代謝産物のプロファイル |
| 3. 学会等名 第163回 日本獣医学会学術集会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 小林幸司、松下誠司、清水直行、益子櫻、山本雅人、村田幸久 |
| 2. 発表標題 畳み込みニューラルネットワークを使ったマウスひっかき行動の自動検出法の開発 |
| 3. 学会等名 第163回 日本獣医学会学術集会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 小林 唯、宮崎 悠介、大森 啓介、小林 幸司、村田 幸久 |
| 2. 発表標題 L-PGDSはがん血管内皮細胞の薬剤感受性を低下させる |
| 3. 学会等名 第162回日本獣医学会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 小林 唯、宮崎 悠介、大森 啓介、小林 幸司、村田 幸久 |
| 2. 発表標題 L-PGDSはがん血管内皮細胞の薬剤感受性を低下させる |
| 3. 学会等名 第140回薬理学会関東部会 |
| 4. 発表年 2019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 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|