

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18091

研究課題名（和文）蛍光X線分析による銅の分布分析と銅輸送体がもたらす白金製剤抵抗性機序の解明

研究課題名（英文）Analysis of copper distribution by X-ray fluorescence analysis and platinum preparation resistance mechanism by copper transporters

研究代表者

堀岡 宏平（HORIOKA, Kohei）

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：10783699

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：Oxaliplatinは大腸癌治療におけるkey drugだが、薬剤耐性が問題となっている。本研究は、薬剤の腫瘍内動態やその動態において銅輸送体が果たす役割を、蛍光X線分析を用いて解明することで、治療反応性の予測や耐性獲得機序を明らかにすることを目的として開始された。大型放射光施設；SPring-8を利用し蛍光X線分析を用いて、腫瘍組織内での生体内必須元素の分布の可視化、定量化を行った。腫瘍組織内分布の主成分分析では、銅のみが治療有効例では無効例と比較し分布が異なる傾向を示し、治療効果のあった群では白金と正の相関を、治療反応不良群では白金と負の相関を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、蛍光X線分析という工学的アプローチを用いて、oxaliplatinを投与した大腸癌の腫瘍組織中の銅の局所かつ微量な分布を可視化することで、抗癌剤の腫瘍内動態や銅輸送体の役割を明らかにする手掛かりとなった。

今後も工学及び薬学に携わる研究者とも連携し、臨床情報や抗腫瘍効果との関連を調査することで、oxaliplatinを用いた化学療法に対する個々の治療反応性を予測し、さらには耐性獲得の機序の解明を引き続き試みる。本研究の成果は白金錯体系抗腫瘍薬の治療効果の改善や副作用の軽減につながるものと期待される。

研究成果の概要（英文）：Oxaliplatin is a key drug in the treatment of colorectal cancer, but drug resistance is a problem. The purpose of this study is to elucidate the intratumoral dynamics of drugs and the role of copper transporters in their dynamics by using fluorescent X-ray analysis to predict therapeutic responsiveness and elucidate the mechanism of resistance. The distribution of essential elements in the living body in the tumor tissue could be visualized and quantified by using fluorescent X-ray analysis using SPring-8. In the principal component analysis of the distribution in the tumor tissue, only copper tended to have a different distribution in the treatment-effective cases than in the ineffective cases, and the group with therapeutic effect showed a positive correlation with platinum, and the group with poor therapeutic response showed a negative correlation with platinum.

研究分野：医歯薬学

キーワード：大腸癌 白金製剤 治療抵抗性 oxaliplatin 銅輸送体 蛍光X線分析 SPring-8

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

白金錯体系抗悪性腫瘍薬は様々な癌種に対する抗腫瘍薬剤であり、作用機序はDNA塩基との架橋形成によるDNA合成阻害、蛋白合成阻害と考えられている。進行再発大腸癌に対しoxaliplatinを加えたFOLFOX療法で有意な生存期間の延長を達成し(de Gramont A, J Clin Oncol, 2000)、術後補助化学療法においても無病生存期間を有意に延長することが示され(Andre T, New Eng J Med, 2004)、oxaliplatinは大腸癌治療における主要薬剤の一つとなっている。しかしながら、FOLFOX療法の奏効率は50%程度であり(Goldenberg RM, J Clin Oncol, 2004)、十分な治療効率とは言えず薬剤耐性が問題となっている。

現時点ではoxaliplatinを用いた化学療法に対する治療反応性を予測する確実な手段は明らかにされておらず、有効性と安全性の高い化学療法を実現するためにも、最適な治療選択のための抗腫瘍薬剤耐性機序の解明が必要とされている。しかしながら、様々な手法を用いた研究が行われているにもかかわらず薬物自体の腫瘍組織内での局所の微小分布を明らかにすることは非常に難しい。また、白金製剤の薬効発現のためには腫瘍細胞内への薬剤送達・蓄積が重要(Klein AV, Chem Rev, 2009)とされており、近年

銅流入輸送体(Copper transporter: CTR1, CTR2)(Howell SB, Mol Pharmacol, 2010)や銅排出輸送体(copper-transporting ATPase: ATP7A, ATP7B)(Samimi G, Clin Cancer Res, 2003)が白金製剤の抵抗性に寄与すると報告されているが、その機序に関しては不明である。

### 2. 研究の目的

代表者は、白金製剤を含む化学療法を行ったヒトの癌切除組織に対して蛍光X線分析を行うことで、腫瘍組織内における白金や生体内必須金属元素の局所の微量な分布を可視化し、腫瘍組織中の薬物動態や細胞活性の変化を明らかにすることを目的に研究を行っている。それにより、白金製剤を用いた化学療法に対する個々の治療反応性を予測する手法の確立と、耐性獲得の機序の解明につながるものと期待される。

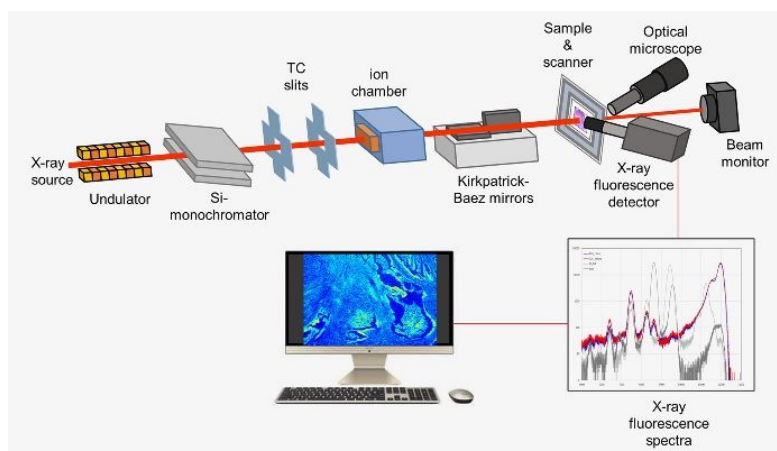
蛍光X線分析という工学的なアプローチを用いてヒトの切除組織中に含まれる極微量元素の局在分布を可視化する、という手法に、過去に類似した研究はないが、蛍光X線分析に関しては、工学や考古学分野ではこれまで多く行なわれており、その手法も確立されている。さらに近年、白金系抗腫瘍薬のDDS化医薬品開発のための基盤技術の確立を目的として、蛍光X線分析による腫瘍組織内での動態追跡が行なわれつつある。しかしながら、これまで実際に白金錯体系抗腫瘍薬を投与した悪性腫瘍組織中における金属の分布を観察し、その動態を明らかにした報告例は無く、本研究が初の試みとなる。本研究は、治療効果の異なる組織中の薬物動態を工学的手法で得られた銅のスペクトルから明らかにすることで、銅関連輸送体がもたらす治療反応性や耐性獲得機序を解明することを目的とし、研究を行った。

### 3. 研究の方法

代表者はこれまでに、大型放射光施設；SPring-8を利用し工学領域でしばしば用いられる蛍光X線分析技術を用いて、ヒト大腸癌組織における白金製剤の分布の分析に努めてきた。

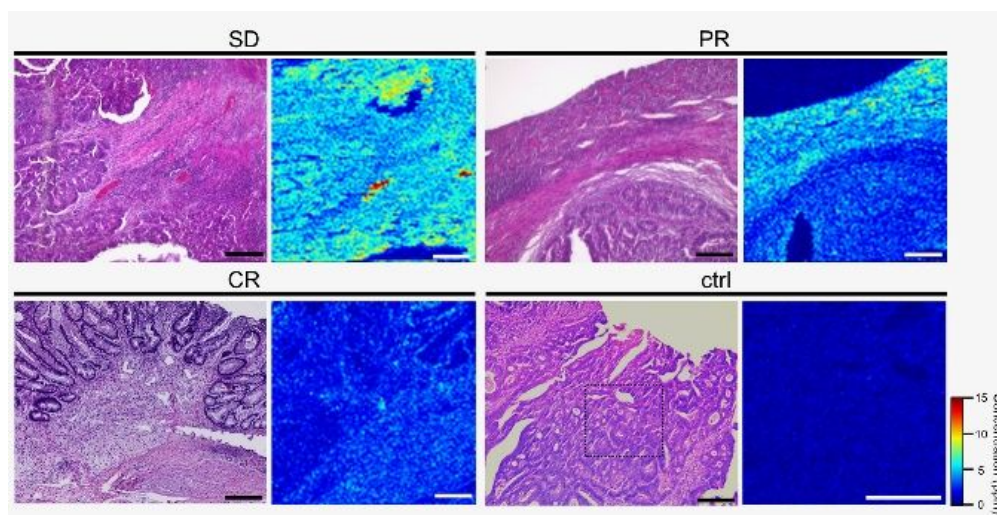
同様の技術を用い、腫瘍組織内での銅をはじめとする白金以外の生体内必須元素の分布の可視化、定量化を試みる。定量化が可能となった際には各微量元素の腫瘍組織内分布に関して解析を行い、治療効果と銅の分布の傾向を検討する。

さらには、ヒトの大腸癌組織の微小環境を再現した3Dモデルやマウスモデルの作成に着手し、白金製剤抵抗性に寄与する輸送体の同定や、癌微小環境における銅輸送体の発現を評価して、銅輸送体とoxaliplatin耐性の関連を明らかにする。

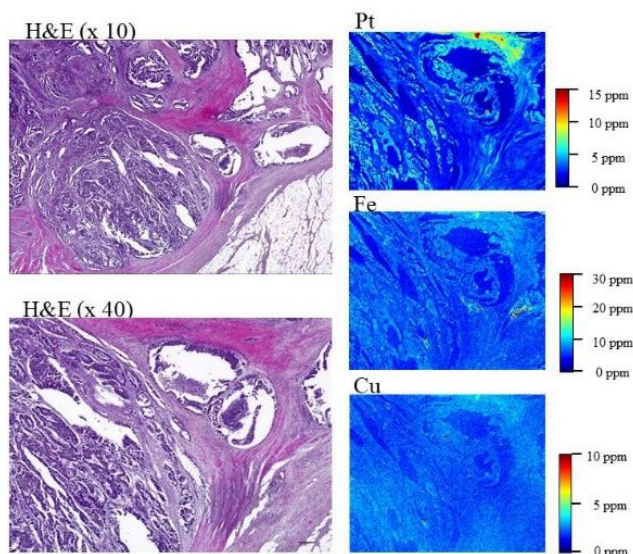


#### 4. 研究成果

SPring-8 を利用し蛍光 X 線分析技術を用いて、ヒト大腸癌組織における白金製剤の分布の分析を行った。その結果、oxaliplatin を含む術前化学療法後に外科的切除を行った大腸癌症例においては、治療効果の高い症例では腫瘍の変性部分に、一方、治療効果の乏しい症例においては腫瘍内の間質部分に、それぞれ白金の集積を認めることを明らかにした。



同様の技術を用い、腫瘍組織内での銅をはじめとする白金以外の生体内必須元素の分布の可視化、定量化を行った。本研究の発案の契機となった各微量元素の腫瘍組織内分布に関しての主成分分析では、治療有効例では無効例と比較して、銅の分布のみが異なる傾向を示すことが示唆され、それぞれの相関関係を評価したところ、銅は治療効果のあった群では白金と正の相関( $r = 0.701$ )を示し、治療反応不良群では白金と負の相関( $r = -0.504$ )を示した。しかし多変量解析では、銅濃度と化学療法の効果との間に有意な相関関係は確認できなかった。



今後は、当初計画していたヒトの大腸癌組織の微小環境を再現した 3D モデルやマウスモデルの作成に努めるとともに、白金製剤抵抗性に寄与する輸送体の同定や、癌微小環境における同輸送体の発現を評価し、銅輸送体と oxaliplatin 耐性の関連を明らかにする方針である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------