

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：32620  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2020～2023  
課題番号：20K07684  
研究課題名(和文) リードスルー療法による家族性大腸腺腫症における腫瘍抑制効果に関する基礎的研究  
  
研究課題名(英文) Basic Study on Tumor Suppression Effects of Read-Through Therapy in Familial Colorectal Adenomatosis  
  
研究代表者  
新井 正美 (Arai, Masami)  
  
順天堂大学・大学院医学研究科・教授  
  
研究者番号：20232027  
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：マクロライド系抗生剤は、病的なナンセンス変異のリードスルー(読み過ごし)を誘起する。この機序が遺伝性腫瘍の腫瘍抑制効果につながるか、家族性大腸腺腫症のモデルマウスを用いて検討を行った。  
QSTで作出した雌C3B6F1ApcMin/+マウスを用いて、マクロライド系抗生剤を低濃度、中濃度及び高濃度の3濃度をそれぞれ3週齢から連続飲水投与する群と無処置群の4群について解析した。その結果、マクロライド系抗生物質の効果として期間は限定的ではあるが、癌の数の減少と腺腫から腫瘍への悪性化の抑制を認めた。また高濃度の薬剤投与は、腸内細菌叢の多様性を減少させ、腫瘍の抑制効果は限定的であることも明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義  
遺伝性腫瘍には、がん発症リスク軽減のマネジメントとしてリスク低減手術や計画的なサーベイランスがある。しかし、大腸を全摘するなど手術侵襲は大きく、また臓器を喪失することによる有害事象も生じうる。また、期間限定的ではあっても手術の時期を遅らせることができれば受験期などへの影響を抑えることも期待でき、その社会的な意義は大きい。また有望なリードスルー化合物も見出されており、創薬にも繋がる可能性をもつ。

研究成果の概要(英文)：Macrolide antibiotics induce read-through of pathogenic nonsense mutations. We conducted the following investigation to determine whether this mechanism leads to a tumor suppressive effect on hereditary tumors using a mouse model of familial adenomatous polyposis. Using female C3B6F1ApcMin/+ mice, we analyzed four groups: three groups were continuously administered with different concentrations of macrolide antibiotics (low, medium, and high) in drinking water from 3 weeks of age, and an untreated group as a control. As a result, although the duration of treatment was limited, macrolide antibiotics reduced the number of cancers and suppressed the malignant transformation of adenomas into carcinomas. It was also revealed that highest-dose administration reduced altered the intestinal flora and had limited tumor suppressive effects.

研究分野：腫瘍診断および治療学関連

キーワード：ナンセンス変異 リードスルー療法 マクロライド系抗生剤 家族性大腸腺腫症 遺伝性腫瘍 APC遺伝子

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

遺伝性大腸癌の代表的疾患として、APC (Adenomatous Polyposis Coli) 遺伝子の変異を原因とする家族性大腸腺腫症(FAP)があり、FAP は消化管、特に大腸の全域に 100 個以上の腺腫性ポリープをびまん性に認める常染色体優性遺伝の疾患であり、60 歳ごろまでにはほぼ 100%大腸癌を発症すると言われている。FAP 患者に対する標準的ながん予防法は、がん罹患の可能性が高い大腸を 20 歳頃に全て外科的に切除する「予防的な大腸全摘術」が基本だが、これらの治療は患者の生活の質の悪化させることは避けられず、特に働き盛りの世代にとってライフスタイルへの影響が甚大である。そのため、FAP に対する外科的切除以外の治療法や、新規がん化学予防法の構築は早急な課題である。

FAP 患者の APC 遺伝子における生殖細胞系列バリエーション (germline mutation) のうち、ナンセンスバリエーションが原因のものは全体の約 42%にのぼるとされる。ナンセンスバリエーションとは、ある 1 つの塩基が別の塩基に置き換わり正常アミノ酸をコードしていたコドンが未熟終始コドンに変換される遺伝子突然変異であり、それにより不完全な蛋白が生成されたり mRNA 自体が分解されたりする。ナンセンス変異を有する FAP 患者においては、これらのバリエーションアレルではタンパク合成が途中で中断され、最終的に APC タンパクの正常な機能が完全に失活すると考えられる。

ナンセンス変異により通常の塩基が別の塩基に置き換わったことで生じた未熟終始コドンに対して、それを読み過ごす(リードスルー)ことが可能になれば、翻訳が中断せず正常な停止コドンに向かってすすみ、完全長のタンパク質が生成される。リードスルー作用を誘導することで正常機能を有する蛋白質分子の発現を回復させ、症状の改善を目指す治療法をリードスルー療法という。

### 2. 研究の目的

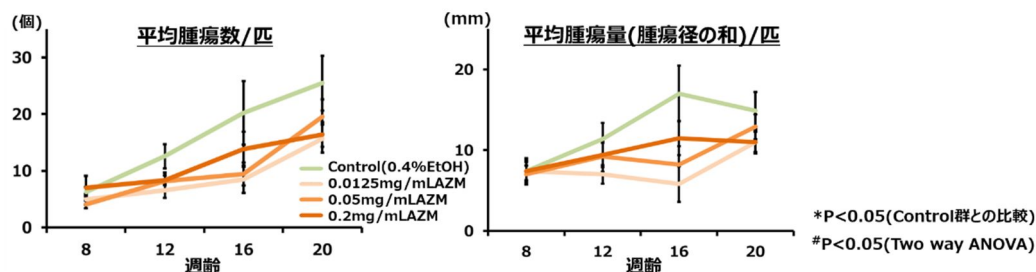
生殖細胞系列のナンセンス変異に対してアミノグリコシド系、マクロライド系薬剤やその類似物質は、タンパク合成における翻訳過程で病的な未熟終止コドンを読み飛ばす(リードスルー)ことにより、完全長のタンパク質を発現させることが知られている。この作用は一部の非腫瘍性遺伝性疾患の治療薬に合成化合物として応用されているものの、遺伝性腫瘍への有効性は明らかになっていない。本研究では、Apc 遺伝子にナンセンス変異を有する家族性大腸腺腫症のモデルマウスである Apc<sup>Min/+</sup>マウスを用いて、マクロライド系薬剤アジスロマイシン(AZM)の腸腫瘍に対するがん化学予防効果の検証を目的とした。

### 3. 研究の方法

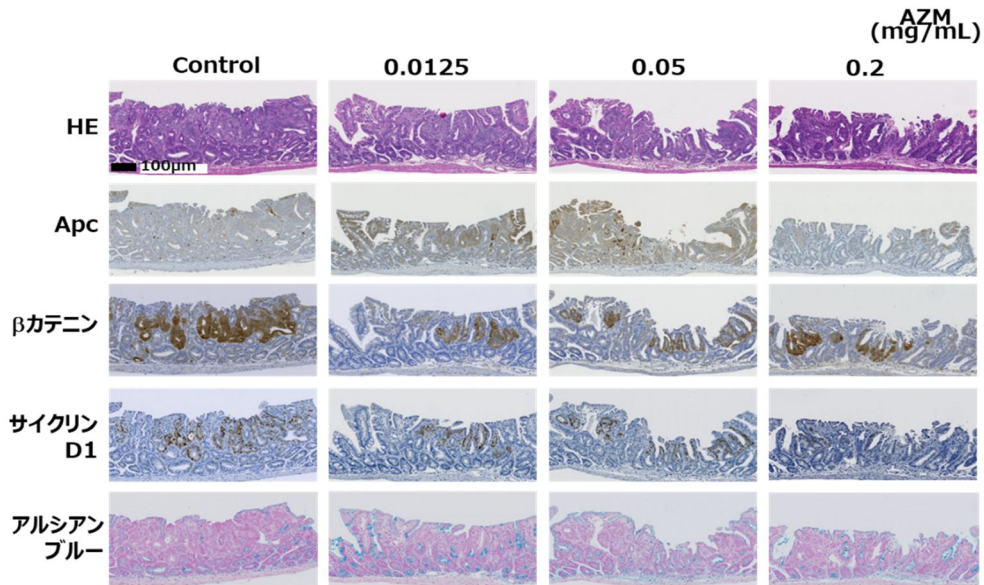
使用したマウスは、オリジナルの C57BL/6J Apc<sup>Min/+</sup>雄マウスと野生型の C3H/HeJ 雌マウスの交配により作出した。このマウスは、オリジナルマウスよりも寿命が延長し、腸腫瘍の多段階発癌過程の病理解析が可能である。C3B6F1 Apc<sup>Min/+</sup>マウス計 100 匹を 0.0125、0.05、0.2mg/mL の AZM を投与する群と、溶媒用エタノールを含む滅菌水を投与する control 群の計 4 群に分けて、離乳後 3 週齢から連日飲料水に混ぜて投与した。投与中は体重測定及び一般的観察を行い、8、12、16、最大 20 週齢で安楽死させ、解剖を行った。AZM の消化管腫瘍抑制効果を、腫瘍数やサイズの計測、病理組織学的解析、免疫組織学的解析、腸内細菌叢の解析により評価した。

### 4. 研究成果

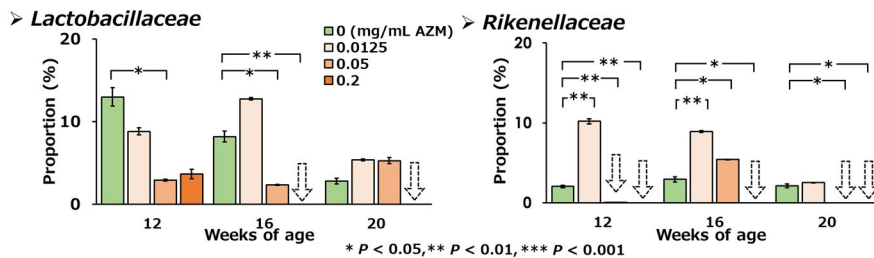
実験期間を通して、4 群全てで有意な体重減少を認めなかった。12、16、20 週齢において、全ての AZM 投与群の平均腫瘍数は、control 群よりも少ない傾向にあり、腫瘍径の和についても同様であった。その効果は濃度と逆相関の関係にあり、0.0125mg/mL AZM 投与群で最も大きかった。



病理学的解析で腺腫と腺癌の割合をみると、control 群と比較して全ての AZM 投与群で腺癌の割合が低い傾向にあった。腫瘍抑制効果のメカニズム探索のため、Apc 蛋白やその他 WNT シグナル関連蛋白の発現を免疫組織化学染色で確認したところ、特に 0.0125 と 0.05mg/mL AZM 投与群で C 末端を有する Apc の発現が増加し、カテニンや cyclin D1 の発現が減少した。



一方で AZM は、その抗菌作用から腸内細菌叢の多様性を減少させてしまう働きがあった。その中でも、Lactobacillaceae や Rikenellaceae といった発癌の抑制と関連性のある族が 0.0125mg/mL AZM 投与群で保持され、高濃度で減少する傾向が認められた。



本研究の結果から、AZM がそのリードスルー作用により腫瘍の発生だけでなく、腺腫から腺癌への腫瘍の進行も抑制することが初めて示唆された。一方で、高濃度かつ長期の AZM の投与は腸内細菌叢を変化させ、腫瘍抑制効果の減弱につながった可能性がある。AZM のがん化学予防効果は、リードスルー効果と抗菌効果のバランスにより決定すると考えられる。今後の臨床応用に向けて、抗生物質の投与期間と腸内細菌叢への影響、がん予防効果の関係の更なる検証が必要である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 YOKOMIZO SHINYA, NISHIMURA MAYUMI, MORIOKA TAKAMITSU, ENZAKA UTAKO, TSURUOKA CHIZURU, SHANG YI, NISHIMURA YUKIKO, INOUE KAZUMASA, FUKUSHI MASAHIRO, IMAOKA TATSUHIKO, KAKINUMA SHIZUKO, SHIMADA YOSHIYA	4. 巻 36
2. 論文標題 Environmental Enrichment Increases Radiation-induced Apoptosis Not Spontaneous Apoptosis in Mouse Intestinal Crypt Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 In Vivo	6. 最初と最後の頁 618 ~ 627
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/invivo.12745	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 Ryoko Semba, Yoshiya Horimoto, Atsushi Arakawa, Yoko Edahiro, Tomoiku Takaku, Kotaro Iijima, Mitsue Saito	4. 巻 Sep-Dec;13(3)
2. 論文標題 Difficulty Diagnosing a Brain Tumor during Clinical Maintenance of a Complete Response to anti-HER2 Treatments for Metastatic Breast Cancer: A Case Report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Case Reports in Oncology	6. 最初と最後の頁 1311-1316
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000511051	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 佐々木律子、堀本義哉、仙波遼子、村上郁、新井正美、齊藤光江	4. 巻 第20巻
2. 論文標題 70歳台の遺伝性乳癌卵巣癌症候群患者に対側リスク低減乳房切除術を施行した一例	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 遺伝性腫瘍	6. 最初と最後の頁 p52-55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18976/jsht.20.3_168	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 Semba R, Morioka T, Yanagihara H, Suzuki K, Tachibana H, Hamoya T, Horimoto Y, Imaoka T, Saito M, Kakinuma S, Arai M.	4. 巻 164
2. 論文標題 Azithromycin induces read-through of the nonsense Apc allele and prevents intestinal tumorigenesis in C3B6F1 ApcMin/+ mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biomed Pharmacother .	6. 最初と最後の頁 1- 11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biopha.2023.114968	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7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 仙波遼子、森岡孝満、柳原啓見、鈴木健之、柿沼志津子、堀本義哉、新井正美、齊藤光江
2. 発表標題 マクロライド系抗生剤のマウス消化管腫瘍抑制効果に関する検討
3. 学会等名 第28回がん予防学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 仙波遼子、森岡孝満、柳原啓見、鈴木健之、柿沼志津子、堀本義哉、新井正美、齊藤光江
2. 発表標題 マクロライド系抗生剤のマウス消化管腫瘍に対するがん化学予防効果
3. 学会等名 第27回 日本遺伝性腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森岡孝満、砂押正章、柳原啓見、仙波遼子、武内健大、柿沼志津子
2. 発表標題 カロリー制限による放射線誘発消化管腫瘍に対する予防効果の検証
3. 学会等名 第28回がん予防学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柳原啓見、森岡孝満、小川真里、鈴木智達、神長輝一、五十嵐龍治、阿部浩之、大島武、今岡達彦、柿沼志津子
2. 発表標題 量子センサーによる発がん機序解明研究 ～ナノ量子センサーの腫瘍内動態～
3. 学会等名 量子生命科学先端フォーラム 2021冬の研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柿沼志津子
2. 発表標題 マウスでは突然変異説が当てはまる場合もある : 放射線はゲノム変異を起こしてがん発生を早期化する
3. 学会等名 第58回アイソトープ・放射線研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 仙波遼子、鹿内彩菜、小室優子、石塚由美子、明神真由、魚森俊喬、氷室貴規、村上郁、崔賢美、堀本義哉、飯島耕太郎、中井克也、齊藤光江
2. 発表標題 術前化学療法としてのdose-dense療法の有効性と安全性について
3. 学会等名 第28回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 仙波遼子、森岡孝満、柳原啓見、鈴木健之、柿沼志津子、堀本義哉、新井正美、齊藤光江
2. 発表標題 マクロライド系抗生剤のマウス消化管腫瘍に対するがん化学予防効果
3. 学会等名 第27回日本遺伝性腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2021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	柿沼 志津子  (Kakinuma Shizuko)  (20392219)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所・副所長(任常)    (82502)	

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
---------	---------