

令和 6 年 6 月 23 日現在

機関番号：37303

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09363

研究課題名（和文）HASPINキナーゼ阻害剤の前立腺がん抑制に関する解析

研究課題名（英文）Study of HASPIN Kinase Inhibitors to Suppress Prostate Cancer

研究代表者

田中 宏光 (Hiromitsu, Tanaka)

長崎国際大学・薬学部・准教授

研究者番号：10263310

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）：Ser/ThrキナーゼHASPINの阻害剤が際立った副作用なくポリープの形成を抑えることが明らかにした。ここでは、前立腺がん疾患モデルマウスを用い、阻害剤の抗がん作用機序を分子レベルで理解することにより、EBMに則った副作用の少ない細胞のがん治療薬の確立を目指した。私たちは、複数のヒト前立腺がん細胞に対してHASPIN阻害剤が、がん細胞増殖を抑制することを明らかにした。また、天然有機化合物のクメストロールがHASPINの機能を阻害することが報告され、私たちはクメストロールを多くモヤシを開発し、マウスに経口摂取させ、がん増殖が抑制されることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HASPINは、様々な生物に保存されていることから、細胞増殖に重要な機能を果たしていると考えられる。今回の研究によって、HASPINの機能は正常な分化細胞では他の分子によって相補されるが、がん細胞のさかんな増殖には必須であることが明らかになった。また、HASPIN阻害剤の経口摂取によって、前立腺癌を含む様々ながん細胞の生体での増殖が抑制することが示された。さらに解析をつづけることは、Evidence-Based Medicineに則った副作用の少ないがん治療剤の開発につながるものと考えられる。本研究成果をもとに2件の国内特許を申請した。

研究成果の概要（英文）：HASPIN is a serine/threonine kinase that functions in cell division. We have demonstrated that HASPIN inhibitors suppress polyp formation without significant side effects. Here, we used a mouse model of prostate cancer disease to understand the anticancer mechanism of action of HASPIN inhibitors at the molecular level, aiming to establish a cancer treatment drug that acts on a new molecular target in cells with few side effects in accordance with evidence-based medicine. We have demonstrated that HASPIN inhibitors suppress cancer cell proliferation in multiple human prostate cancer cells. In addition, it has been reported that the natural organic compound coumestrol inhibits the function of HASPIN, so we developed bean sprouts with a high content of coumestrol and orally ingested them in mice, revealing that cancer proliferation was suppressed.

研究分野：Andrology

キーワード：HASPIN Aurora B 精子形成 ヒストンH3 リン酸化 細胞周期 モヤシ クメストロール

1. 研究開始当初の背景

細胞分裂期において安定した染色体分配は、アクチン、キネシン、チューブリン、ヒストン等々、様々な重要な分子が組織的に機能し、細胞内構造物を形成し、整然と進行する。これら分子複合体の形成調節に、Ser/Thr キナーゼが必須の役割を果たしている。中でも Aurora B は、微小管に付随し染色体の移動と分離に機能する。Aurora B の活性は複数の分子によって調節されており、また、HASPIN も Aurora B の機能を調節する重要な分子であることが報告された。細胞増殖の盛んな精細胞で強く発現する HASPIN は、細胞増殖の盛んな精細胞に特異的に発現することから同定された分子である。一方、最近になって、細胞分裂の盛んな体細胞においても、ヒストン H3 の Thr3 のリン酸化を通して細胞増殖に重要な役割を果たすことが明らかにされた。私たちは、HASPIN 遺伝子破壊マウスを作成し長年解析を進めてきたが、個体に特別なフェノタイプを観察することはできなかった。昨年、HASPIN が細胞分裂期に Aurora B の機能を調節する役割をもつ分子であることを考慮し、HASPIN が盛んに機能する精巣への放射線照射によって細胞に負荷を与え、KO マウスのフェノタイプを観察した。その結果、**野生型マウスでは障害がみられない微弱な放射線量においても、生殖細胞の増殖・分化に障害を観察した。**

私たちは、マウス精子細胞特異的遺伝子群をクローニングし、その機能の解析を進めてきた。その中で、精子細胞で強く発現する核キナーゼ HASPIN 遺伝子を同定した。HASPIN は酵母からヒトさらに植物にまで保存され、Aurora B と協調し、細胞分裂の調節に重要な役割を果たすことが明らかにされた。HASPIN は、精細胞を含む細胞分裂の盛んな時期に貴重な役割をはたしている。HASPIN 破壊マウスの解析では、際立ったフェノタイプは観察されなかったが、HASPIN 特異的阻害剤を家族性大腸がん疾患モデルマウスに投与すると、正常細胞に異常は見られず、**家族性大腸がんの増殖が抑えられ、悪液質や生殖細胞の萎縮が回復することを見出した。** 昨年得られた HASPIN に関するこれらの研究成果から、HASPIN は、野生の環境においては、細胞分裂の盛んな細胞で Aurora B の機能を補完する必須な分子であると考えられる。最近になって、HASPIN 阻害剤が様々ながん細胞の増殖を抑制することが報告されてきた。前立腺がんの発見に関して、PSA マーカー診断、生検検査の技術が存在するが、前立腺がんは最近増加傾向にあり、今後がんの罹患者の 1 位になることが予想されており、より有効な抗がん剤の開発が望まれている。**本件研究では、前立腺がん培養細胞でその効果を明らかにした HASPIN 阻害剤について、すでに開発されている前立腺がん疾患モデルマウスを用いて、HASPIN 阻害剤の効果と副作用のない投薬法と作用の分子メカニズムを明らかにする。本研究の成果は、他のがんに対しても、HASPIN をターゲットにした新規の抗がん剤に関する重要知見をもたらす。**

2. 研究の目的

遺伝情報を正確に娘細胞に伝えるために、細胞分裂期において染色体分配は正確に行われることが必須である。染色体分配を調節する分子として Aurora B が重要な役割を果たしていることが明らかになった。**HASPIN 遺伝子を最初にクローニングし先だって解析を進める中で、HASPIN Ser/Thr キナーゼがサブファミリーを持たない一方で、真核生物全般にオーソログが保存されている生物に必須とされた遺伝子であることが明らかになった。** 私たちの最近の研究から、HASPIN は、真核生物の細胞分裂において、ストレス下での正確な染色体分配において必須なタンパク質であることが示唆された。細胞分裂期の染色体分配の分子メカニズムを理解するうえで、HASPIN を中心とした染色体分配の調節機構の解析は、国内外の多くの研究者によって遂行されている。**長年、HASPIN の解析を進めたてきた私たちの知見が、染色体分配の理解の研究に役立つことは間違いない。** また、私たちは、家族性大腸がんの疾患モデルマウスにおいて、HASPIN 阻害剤が際立った副作用なくポリープの形成を抑えること明らかにした。さらに**前立腺がん疾患モデルマウスを用い、この作用機序を分子レベルで理解することにより、Evidence-Based Medicine に則った副作用の少ない細胞の新しい分子ターゲットに作用するがん治療薬の確立につながるものである。**

3. 研究の方法

HASPIN は、分裂増殖の盛んな組織において発現が観察される Ser/Thr キナーゼである。特に、精巣の生殖細胞においては、非常に強く発現が観察される。

私たちは本研究において、次の 6 つの項目を検討する。

-1 KO マウスの精巣での遺伝子発現を DNA マイクロアレイで網羅的に解析し、さらに複数の

新規遺伝子の発現の変化をとらえたので、それらを含めて解析を進める。

-2 HASPIN の解析の過程で5種類以上のエピトープの異なる HASPIN 抗体を作成してきた。それらを用いて免疫沈降、LC-MAS 解析を進める。

-3 以前我々が用いた実績のあるプロテインアレイで (Tanaka et al., Genes Cells, 2020, Submitted) HASPIN とアフィニティーのある分子を同定し、HASPIN を含むタンパク質複合体、HASPIN と相互作用を示す分子を明らかにする。

-4 HASPIN はマウスにおいて SDS-PAGE ウェスタンブロッティングで抗体が HASPIN を認識できないほど SUMO 化されているが、脱 SUMO 化によって、容易に認識することを突き止めた。そこで、HASPIN の SUMO 化による機能調節についても解析を進める。

-5 KO マウスの放射性感受性について、どのような分子機構で生体におよぶ放射線障害を補償するのかについて、HASPIN 関連分子に対する抗体などを用いた分子生物学手法によって、HASPIN を中心に細胞の恒常性維持の機構を明らかにする。

-1 HASPIN 阻害剤が、前立腺がん細胞を含む様々ながん細胞の増殖を阻害することが示されている。また、ヌードマウスを用いた複数のがん細胞の担癌移植実験において、がん細胞の増殖が阻害されることが国内外の複数の研究者によって報告されている。そこで、前立腺がん疾患モデルマウスを用い、HASPIN 阻害剤の効果について解析を進める。

4. 研究成果

HASPIN は、様々な生物に保存されていることから、細胞増殖に重要な機能を果たしていると考えられる。今回の研究によって、HASPIN の機能は正常な分化細胞では他の分子によって相補されるが、さかんな増殖を示すさまざまながん細胞には必須であることが明らかになった。この間、HASPIN 阻害剤が前立腺癌を含む様々ながん細胞の増殖を抑制することが培養細胞の系で示され、また天然に存在する低分子化合物クメストロールが HASPIN を阻害することが示された。それらの結果をもとに、私たちはクメストロールを多く含む野菜を探索し、豆モヤシに多く含まれることを明らかにし、クメストロールを多く含む豆モヤシの栽培法を確立した。さらに、クメストロールを多く含む豆モヤシの粉末を作製し、家族性大腸癌疾患モデルマウス (APC^{min/+}) 経口摂取させ、大腸癌が抑制されることを明らかにした。現在、前立腺癌疾患モデルマウスに豆モヤシ粉の経口摂取の効果解析中である。HASPIN 阻害剤クメストロールを多く含む豆モヤシの効果についての分子レベルでの詳細な解析は、Evidence-Based Medicine に則った副作用の少ないがん治療剤の開発につながるものと考えられる。

5. 研究成果に関する追加情報

現在研究成果を国際科学雑誌に投稿、査読中。

登録中

〔産業財産権〕

○特許出願状況

1. 名称：男性機能低下症治療剤、テストステロン値の増加を促進、または、男性性機能低下の発症抑制するための薬剤。発明者：田中宏光、権利者：田中宏光

出願年月日：R6/4/18、国内外の別：PCT 予定

2. 名称：大腸癌治療剤、ポリープの増加や悪液質の発症を抑制するための薬剤。

発明者：田中宏光、権利者：九州文化学園、出願年月日：R6/4/18、国内外の別：PCT 予定

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 5件 / うち国際共著 5件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 田中宏光	4. 巻 38
2. 論文標題 HASPINを標的にした大腸がんを抑制する低分子化合物	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 66-69
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -

1. 著者名 田中宏光	4. 巻 5
2. 論文標題 HASPINキナーゼを阻害する低分子化合物の抗がん効果	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Precision Medicine	6. 最初と最後の頁 77-79
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -

1. 著者名 田中宏光	4. 巻 11
2. 論文標題 HASPINを阻害する低分子化合物のがん抑制効果	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 別冊BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 108-111
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -

1. 著者名 田中宏光	4. 巻 21
2. 論文標題 精子細胞特異的に発現するイントロンレス遺伝子について	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 長崎国際大学論叢	6. 最初と最後の頁 157-162
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -

1. 著者名 田中宏光 嘉数圭祐	4. 巻 7
2. 論文標題 HASPIN天然阻害剤を含むモヤシの経口摂取によるアルツハイマー抑制効果	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Precision Medicine	6. 最初と最後の頁 238-241
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 Tanaka H, Matsushita H, Tokuhiko K, Fukunari A, Ando Y	4. 巻 12
2. 論文標題 Ingestion of Soybean Sprouts Containing a HASPIN Inhibitor Improves Condition in a Mouse Model of Alzheimer's Disease	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biology (Basel)	6. 最初と最後の頁 320
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biology12020320	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 該当する

1. 著者名 Tanaka H, Tokuhiko K	4. 巻 24
2. 論文標題 A Haspin promoter element induces tissue-specific methylation of a transcription region and the regulation of gene expression in mouse ova	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell J	6. 最初と最後の頁 552-554
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.22074/cellj.2022.8444	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 該当する

1. 著者名 Tanaka H, Nishida-Fukuda H, Wada M, Tokuhiko K, Matsushita H, Ando Y	4. 巻 24
2. 論文標題 Inhibitory Effect of the HASPIN Inhibitor CHR-6494 on BxPC-3-Luc, A Luciferase-Expressing Pancreatic Cancer Cell Line	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell J	6. 最初と最後の頁 212-214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.22074/cellj.2022.7796	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 該当する

1. 著者名 Ohta T, Uto T, Shoyama Y, Sakyiamah MM, Appiah AA, Tanaka H	4. 巻 21
2. 論文標題 In vitro fertilization using sperm activated by ML-2-3 isolated from Morinda lucida Bentham leaves	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Reprod Med Biol	6. 最初と最後の頁 e12455
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/rmb2.12455	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 該当する

1. 著者名 Tanaka H, Fukuda NH, Wada M, Tokuhiko K., Matsushita H, Ando Y.	4. 巻 24
2. 論文標題 Inhibitory Effect Of HASPIN Inhibitor CHR-6494 On Pancreatic Cancer Cell BxPC-3-Luc.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Journal	6. 最初と最後の頁 212-214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 該当する

1. 著者名 田中宏光	4. 巻 48
2. 論文標題 HASPINを標的にしたがん抑制低分子化合物	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 3-4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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5件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 田中宏光 他17名
2. 発表標題 生殖細胞を特異的に認識するモノクローナル抗体TRA98の抗原同定とその機能の解析
3. 学会等名 日本アンドロロジー学会第40回学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松山俊介、小川真奈、徳淵翔、田中宏光
2. 発表標題 HASPINに作用する低分子化合物のがん抑制効果の解析
3. 学会等名 日本薬学会九州支部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松山俊介 小川真奈、徳淵翔、山本花奈、田中宏光
2. 発表標題 ヒト大腸がんモデルApcMin/+マウスのポリープの発生、生殖機能不全及び悪液質は、HASPIN阻害剤クメストロールを多く含むもやしの経口摂取により抑制される
3. 学会等名 日本アンドロロジー学会第40回学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 HASPINを阻害するクメストロールを多く含む豆モヤシの経口摂取によって、アルツハイマー病モデルマウスの認知症発症は抑制される
2. 発表標題 田中宏光、松下博昭、太田智絵、福成温、徳弘圭造、嘉数圭祐
3. 学会等名 日本薬学会144回年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 田中宏光
2. 発表標題 大学発ベンチャー“佐世保食品工房”のふるさと納税対象品モヤシ粉“クメフル
3. 学会等名 地域産品を用いた創薬開発と6次産業化シンポジウム～山口から世界へ 基調講演（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 編集：荒牧弘範、鹿志毛信弘.	4. 発行年 2021年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 320
3. 書名 分子生物学 - 創薬・テラーメイド医療に向けて - 改訂第3版	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 薬剤及びアルツハイマー型認知症予防薬・治療薬	発明者 Hiromitsu Tanaka	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願 2 0 2 3 - 3 8 2 3	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

<p>栄養素増やした豆モヤシ アルツハイマー発症を抑制 長崎国際大・田中准教授ら効果証明 https://www.nagasaki-np.co.jp/kijis/?kijid=1000220420666785792</p> <p>長崎国際大学 アルツハイマー病予防に向けた最先端研究に迫る (NHK) https://www.nhk.or.jp/nagasaki/lreport/article/002/19/</p>

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	藤田 和利 (Kazutoshi Fujita) (50636181)	近畿大学・医学部・准教授 (34419)	
研究分担者	福原 慎一郎 (Shinichiro Fukuhara) (20609870)	大阪大学・大学院医学系研究科・准教授 (14401)	

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