

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09513

研究課題名（和文）卵巣明細胞癌に対する機能性ナノ粒子を応用した新規治療法の開発

研究課題名（英文）Development of a Novel Therapy for Ovarian Clear Cell Carcinoma via Functional Nanoparticles

研究代表者

天野 創（Amano, Tsukuru）

滋賀医科大学・医学部・講師

研究者番号：20613467

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）：メソポーラスシリカナノ粒子のサイズコントロール手法を確立し径50nm程度のコア粒子にポリグリセロール修飾を行うことで優れた可溶性を持たせることに成功した。一方で、卵巣明細胞癌においてビタミンAの代謝酵素であるレチノールデヒドロゲナーゼ10（RDH10）が特異的に発現することを多数の臨床検体を用いた免疫染色とウエスタンブロットングにて明らかとした。さらにRDH10が、糖新生代謝酵素であるホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼPEPCK）を介して卵巣明細胞癌の細胞質内グリコーゲン貯留に大きく寄与し、癌細胞の幹細胞能獲得や治療抵抗性に関与していることを同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

化学療法抵抗性である卵巣明細胞癌に高発現し治療抵抗性に関与する新規分子（RDH10）を同定したことは今後の新規治療確立の土台となる成果であると考えられる。まさメソポーラスシリカナノ粒子のサイズをコントロールし可溶性を持たせる技術についても今後ドラッグデリバリーの分野で応用が期待できる。

研究成果の概要（英文）：We have established a size control method for mesoporous silica nanoparticles, and have succeeded in achieving excellent solubility by modifying polyglycerol on the core particles with a diameter of about 50 nm. On the other hand, we found that retinol dehydrogenase 10 (RDH10), an enzyme that metabolizes vitamin A, is specifically expressed in ovarian clear cell carcinoma by immunostaining and Western blotting using a large number of clinical samples. Furthermore, we identified that RDH10 contributes significantly to intracytoplasmic glycogen storage in ovarian clear cell carcinoma via phosphoenolpyruvate carboxykinase, a glycosylation synthase, and is involved in the acquisition of stem cell potential and resistance of cancer cells to therapy.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：卵巣明細胞癌

### 1. 研究開始当初の背景

本邦で比較的高頻度に見られる卵巣明細胞癌は、種々の化学療法に抵抗性であり特に再発・進行例で予後不良である。ゆえに既存の化学療法とは全く異なる機序の新規治療法確立が切望されている。卵巣明細胞癌では HNF1β の過剰発現による糖新生亢進やグリコーゲン貯留がストレス下での腫瘍生存に寄与し治療抵抗性の一つの要因であることが明らかとなっている。また申請者も卵巣明細胞癌に高発現する mitochondrial superoxide dismutase (SOD2; ミトコンドリア内で活性酸素種を代謝しストレス下においてミトコンドリア機能を維持する酵素) が予後不良因子であることを明らかとした。すなわち SOD2 高発現の卵巣明細胞癌は、低栄養、酸化ストレス下でもミトコンドリア機能を維持する性質が備わっており、治療抵抗性の一因となっている(Amano T et al. Cancer Biomark.2019)。これら卵巣明細胞癌に特徴的な性質は明らかになってきているが効果的な新規治療法の確立には至っていないのが現状である。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、既存の治療に抵抗性の卵巣明細胞癌に対する新規治療法を確立することである。本研究ではその手法として 1)卵巣明細胞癌に特異的な新規治療標的分子の同定し、2)卵巣明細胞癌に対する治療効果を高めるためにメソポーラスシリカナノ粒子による薬物送達を利用する。卵巣明細胞癌はその独自の分子生物学的特徴から既存治療に抵抗性であり、新規治療標的を同定しかつ効果的な薬物送達機構を確立することが必要であると考えている。

### 3. 研究の方法

#### 1) 卵巣明細胞癌に対する新規治療標的分子の同定

多くの癌腫においてがん幹細胞性に関与する RAB39A に着目し、卵巣明細胞癌において継続的な RAB39A 抑制下で、RNA-seq 転写解析により、増殖が抑制される細胞集団とそうでない細胞集団とを比較し卵巣明細胞癌の癌幹細胞性に寄与する新規治療標的分子候補を同定する

2) 1)で同定した分子が実際に卵巣明細胞癌の癌幹細胞性、治療抵抗性にどのように関与しているのかを、免疫染色、スフェア抑制実験、遺伝子導入により明らかとする。

3) 明らかとなった治療標的分子に基づいた治療法を考案、薬物送達については、メソポーラスシリカナノ粒子をサイズコントロールし、ポリグリセロール修飾を加え可溶性を持たせ、担体として利用する

4) メソポーラスシリカナノ粒子を利用した治療薬送達の効果を細胞実験及びゼノグラフトモデル動物実験で明らかとする。

### 4. 研究成果

研究期間を通して卵巣明細胞癌に対する新規治療を探索した。一方で、卵巣明細胞癌の新規治療標的分子同定に関するは順調に進行しビタミン A の代謝酵素であるレチノールデヒドロゲナーゼ 10 (RDH10) が特異的に発現することを多数の臨床検体を用いた免疫染色と明細胞癌細胞株を持用いたウエスタンブロッティングにて明らかとした(図 1)。

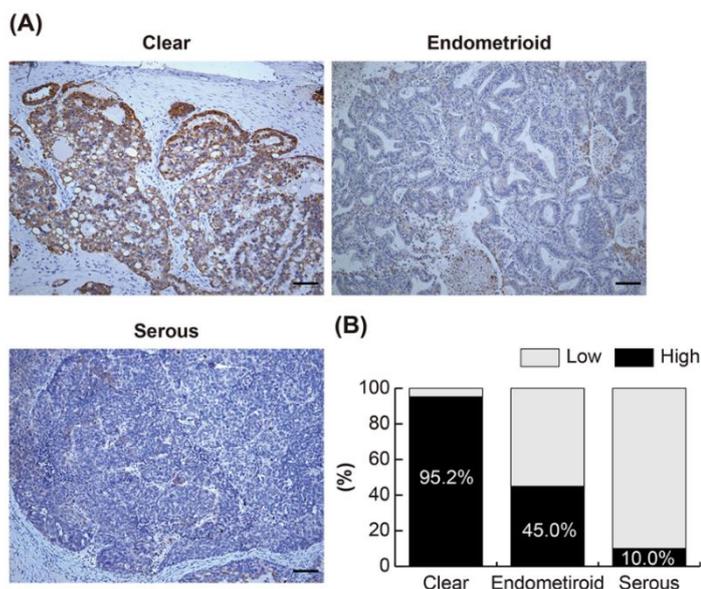


図 1

さらに RDH10 が、糖新生代謝酵素であるホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ PEPCK) を介して卵巣明細胞癌の細胞質内グリコーゲン貯留に大きく寄与し、癌細胞の幹細胞能獲得や治療抵抗性に関与していることを RNA 干渉を用いた RDH10 阻害細胞株に対する PAS 染色やスフェア形成実験 (図 2)、ウェスタンブロットティング (図 3) 等を行い明らかとした (下図)。さらに PEPCK 阻害剤を用いた PEPCK の抑制によって卵巣明細胞癌の細胞質内グリコーゲン貯留が低下することも明らかとした。

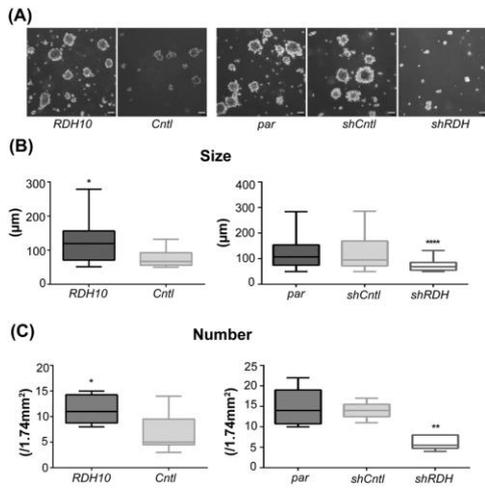


図 2

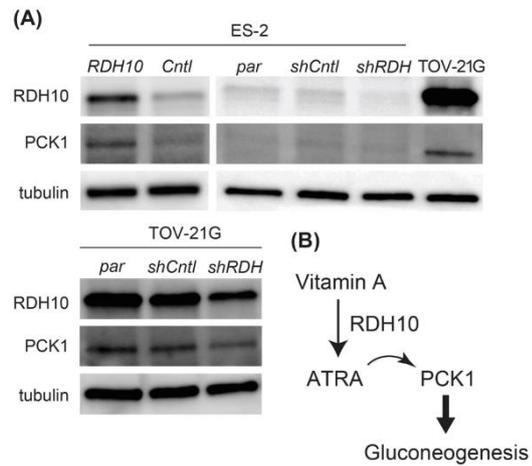


図 3

これらの研究の成果については、論文を執筆し cancer biomarker 誌に掲載された。  
 一方でメソポーラスシリカナノ粒子による薬物送達に関する研究については、メソポーラスシリカナノ粒子のサイズコントロール手法を確立し (図 4) 径 50nm 程度のコア粒子にポリグリセロール修飾を行うことで優れた可溶性を持たせることに成功した (図 5) がメソポーラスシリカナノ粒子への薬剤担持は新型コロナによる海外への渡航中止により研究協力者の来日が不可能となった影響で大幅に遅れ現在再開継続中である。

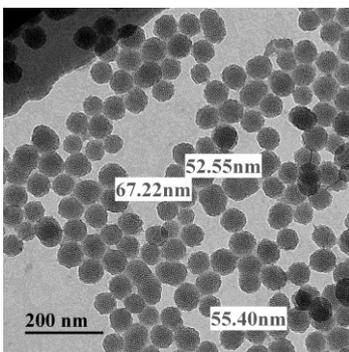


図 4

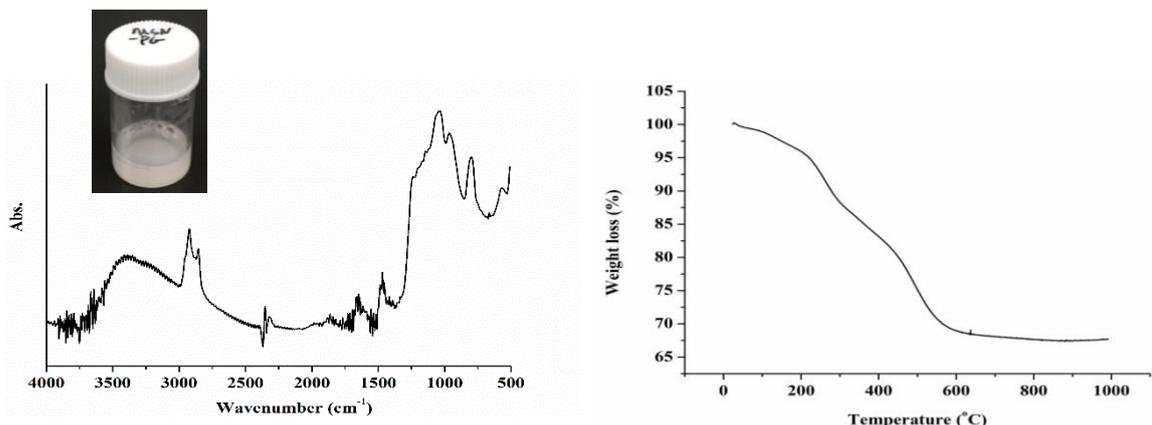


図 5

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Murakami Atsushi, Amano Tsukuru, Yoshino Fumi, Kita Hiroko, Moritani Suzuko, Murakami Takashi, Chano Tokuhiko	4. 巻 34
2. 論文標題 Retinol dehydrogenase 10 contributes to cancer stemness and intracellular carbohydrate storage in ovarian clear cell carcinomas	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Biomarkers	6. 最初と最後の頁 673 ~ 679
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/CEBM-210435	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 Onishi Takuto, Amano Tsukuru, Miyake Toru, Nakamura Akiko, Yoneoka Yutaka, Nisimura Hiroki, Tsuji Shunichiro, Tani Masaji, Murakami Takashi	4. 巻 49
2. 論文標題 Transanal total mesorectal excision for primary rectovaginal carcinosarcoma: A case report and literature review	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Obstetrics and Gynaecology Research	6. 最初と最後の頁 763 ~ 768
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jog.15487	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
---------	---------