

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月29日現在

機関番号：16401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22700921

研究課題名（和文） 糖代謝制御機構を標的とする抗癌治療戦略の構築

研究課題名（英文） Construction of anti-cancer treatment strategy targeting for regulatory mechanism of glucose metabolism

研究代表者

田口 崇文 (TAGUCHI TAKAFUMI)

高知大学・教育研究部医療学系・助教

研究者番号：40437710

研究成果の概要（和文）：Na<sup>+</sup>/グルコース共役輸送担体-1（SGLT-1）を標的因子とする、癌治療戦略の構築を念頭とする検討を行った。副腎皮質癌細胞では、SGLT-1/3/5/6、EGFR の発現を認めた。EGFR 阻害剤は単独添加により、濃度依存性に腫瘍細胞死を誘導した。一方で SGLT-1 阻害剤は、単独添加では有意な腫瘍細胞死を認めずも、EGFR 阻害剤との併用下で腫瘍細胞死を相加的に増強した。また PCR Array では、SGLT-1 阻害剤と EGFR 阻害剤は相加的に PPAR 関連遺伝子（PPAR $\gamma$ , PGC-1 $\alpha$ ）や SNAP25、IFN- $\gamma$ 、Insulin receptor の発現を増加させた。細胞内糖代謝制御に関わる SGLT-1 阻害剤は腫瘍細胞死を EGFR 阻害剤との併用条件下で相加的に誘導することが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：The epidermal growth factor receptor (EGFR) facilitates glucose transport into cells by associating with and stabilizing a sodium/glucose cotransporter -1 (SGLT-1). In the present study, we have evaluated the effects of Kinase inhibitor: AG1478 and SGLT-1 inhibitor: Phlorizin. We confirmed an expression of SGLT homologs, EGFR, and other key genes for glucose metabolism in ACC cells. In APOPercentage Apoptosis Assay, AG1478 alone induced concentration-dependent tumor cell death, whereas Phlorizin alone has no effect. The combination of AG1478 and Phlorizin exerted the additive inhibitory effect of ACC cell growth. PCR-array Gene Expression Profiling suggested involvement of some gene associated with glucose metabolism such as PPAR associated genes, SNAP25, IFN- $\gamma$  and insulin receptor in this additive inhibitory mechanism. These results demonstrated that the combined use of the EGFR and SGLT-1 antagonists to interfere with glucose metabolism of tumor cells can potentially be effective in the inhibition of ACC cell growth.

交付決定額

(金額単位：円)

|        | 直接経費      | 間接経費    | 合計        |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2010年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 2011年度 | 900,000   | 270,000 | 1,170,000 |
| 年度     |           |         |           |
| 年度     |           |         |           |
| 年度     |           |         |           |
| 総計     | 1,900,000 | 570,000 | 2,470,000 |

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：腫瘍学、臨床腫瘍学

キーワード：癌治療、糖代謝、SGLT、内分泌療法

### 1. 研究開始当初の背景

近年、ナトリウム／グルコース共役輸送担体：SGLT-1 が、細胞膜上で上皮細胞増殖因子（EGFR）と結合し、細胞内へグルコースを輸送し続ける、すなわち癌細胞のエネルギー供給源であることが明らかとなり、癌治療戦略の新たなターゲットとなりうる可能性が報告された（Cancer Cell, 2008;13:375-376）。

一方で SGLT 1/2 阻害剤は次世代の糖代謝阻害剤；新規糖尿病治療薬としても注目され、各社開発段階にある。上記の新知見は、SGLT シグナル伝達機構及び機能解明が、メタボリック症候群の新規治療戦略のみならず、新たな抗癌治療戦略へと進展する可能性を示唆した。本研究においては、我々の以下の予備実験に基づき、より癌細胞に特異的に発現する SGLT ホモログを標的として、細胞内糖代謝を阻害し、腫瘍細胞死を誘導する新規抗癌治療戦略の構築を目的とした検討を行う。

### 2. 研究の目的

癌細胞への糖取り込みやグルコースセンサーとして働くナトリウム／グルコース共役輸送担体：sodium-dependent glucose transporters (SGLT) の遺伝子活性を阻害し、癌細胞のエネルギー供給源を遮断することで腫瘍細胞死へと誘導する、糖代謝制御を応用した新たな抗癌治療戦略の構築を目的とする。

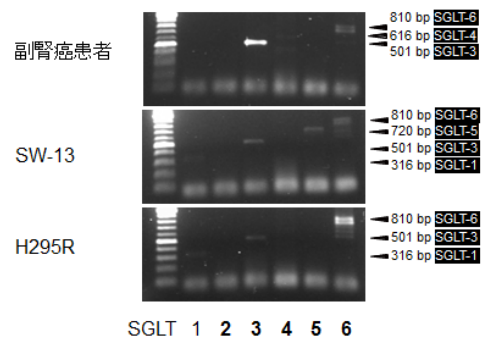
### 3. 研究の方法

In vitro においては、ヒト副腎皮質癌細胞（H295R, SW-13）における SGLT ホモログ（SGLT-1/2/3/4/5/6）及び EGFR（variant 1-3）の発現解析を行った。同細胞を用いて、EGFR 阻害剤：AG1478 及び SGLT-1 阻害剤：Phlorizin の腫瘍増殖に及ぼす効果を Apopercentage assay で、糖代謝関連遺伝子に及ぼす効果を PCR Array (SA Biosciences) を用いて検討した。3. 2 の条件下において、細胞内に蓄積した Apopercentage Dye を蛍光光度計を用いて定量化した。In vivo においてはマトリゲル混合下に BALB/C ノードマウス（週令 8 週，雄 35 匹（日本 SLC））へ同細

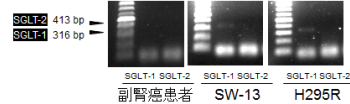
胞を皮下移植し、モデルマウスの作成段階にある。

### 4. 研究成果

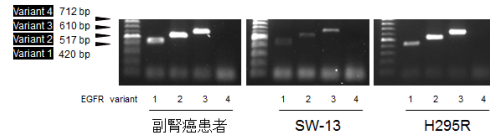
副腎皮質癌細胞（SW-13, H295R）において、SGLT-1/3/5/6、EGFR の発現を認めたが、SGLT-2/4 の発現は認めなかった。



#### SGLT 1/2 expression

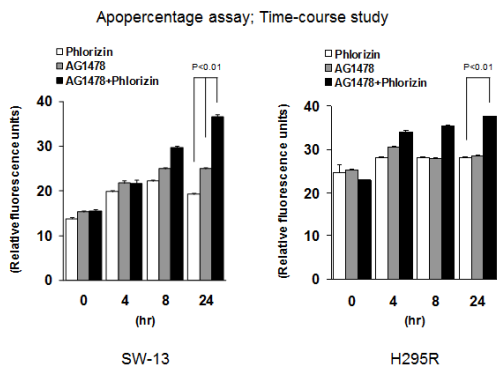
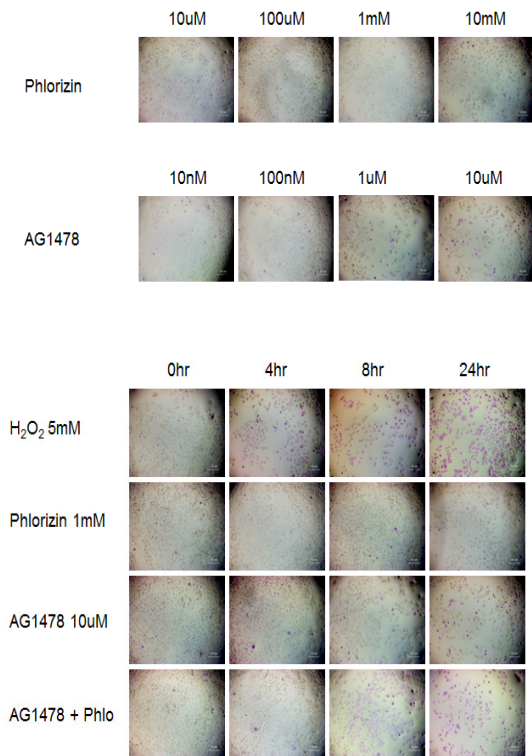


#### EGFR expression



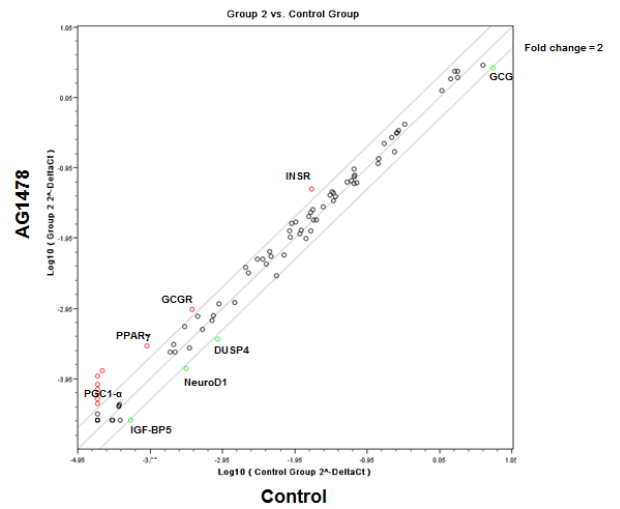
Apopercentage assay において、EGFR 阻害剤（AG1478）は単独添加により、濃度依存的に腫瘍細胞死を誘導した。SGLT-1 阻害剤（Phlorizin）は、単独添加では有意な腫瘍細胞死を認めずも、EGFR 阻害剤により誘導された腫瘍細胞死を相加的に増強させた。

Apopercentage assay; Dose-response study using SW13 cell (24hr treatment)

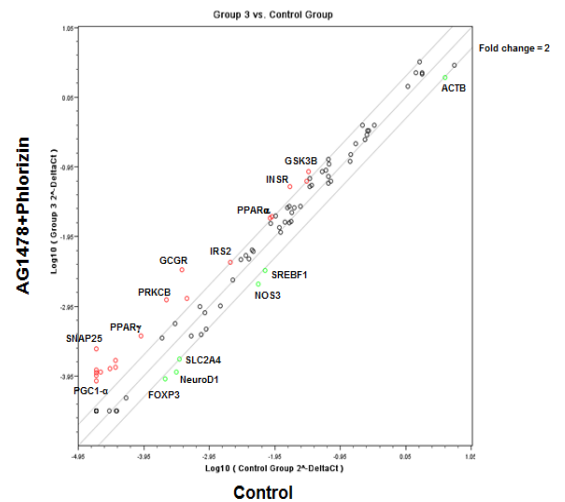


また PCR Array では、SGLT-1 阻害剤と EGFR 阻害剤は相加的に PPAR 関連遺伝子 (PPAR  $\gamma$ , PGC-1  $\alpha$ ) や SNAP25、IFN- $\gamma$ 、Insulin receptor の発現を増加させた。副腎皮質癌細胞を用いた実験系において、細胞内糖代謝制御に関わる SGLT-1 阻害剤は腫瘍細胞死を EGFR 阻害剤との併用条件下で相加的に誘導することが明らかとなった。

PCR Array Scatter Plot - AG1478添加群 vs Control -

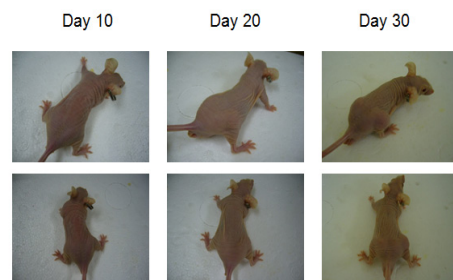


PCR Array Scatter Plot - AG1478+Phlorizin添加群 vs Control -



In vivo においてはマトリゲル混合下に BALB/C ノードマウス (週令 8 週, 雄 35 匹 (日本 SLC)) へ同細胞を皮下移植し、モデルマウスの作成段階にある。

ノードマウス SW13 細胞 腫瘍皮下移植確認



## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計1件)

- ① Takafumi Taguchi, Yasumasa Iwasaki, Mitsuru Nishiyama, Makoto Tsugita, Yoshinori Taniguchi, Mizuho Okazaki, Shuichi Nakayama, Toshihiro Takao, Fumio Otsuka, Yoshio Terada. The interactive analysis of EGFR and Na<sup>+</sup> / glucose transporter 1 (SGLT-1) inhibitors on Adrenocortical tumor cells. The Endocrine Society 92th annual meeting, 2010/6/20, San Diego.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田口 崇文 (TAGUCHI TAKAFUMI)

高知大学・教育研究部医療学系・助教

研究者番号：40437710