

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390388

研究課題名(和文)子宮内膜症に対する新規分子標的治療薬の実用化

研究課題名(英文)Development of therapy for endometriosis.

研究代表者

杉原 一廣 (SUGIHARA, KAZUHIRO)

浜松医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00265878

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,600,000円、(間接経費) 4,380,000円

研究成果の概要(和文)：子宮内膜症は激痛の他、不妊の原因疾患であり少子化の問題にも大きく関与している。また、卵巣癌の発生母体にもなりうる。治療はホルモン療法を主体とし、腹腔鏡を用いた外科的治療も行われているが根治を望める治療法はない。子宮内膜症は腹膜の病巣が多いので、腹膜には結合せず子宮内膜組織特異的に結合するペプチドz13を同定した。プロテオミクス解析の結果、z13の受容体はCNGB3であることが明らかになった。そこで、アポトーシスを誘導するペプチドとエンドソームの膜を破壊する2種類のペプチドをz13に結合し、ヒビの腹腔内に投与すると子宮内膜症組織が特異的にアポトーシスを起こし新規治療薬となり得ることを確認した。

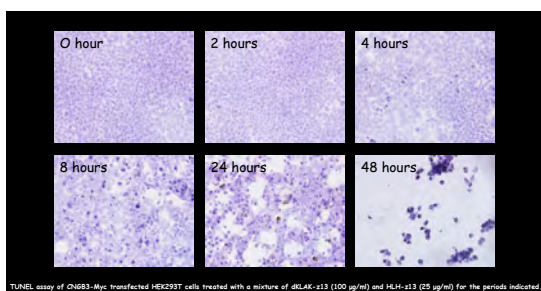
研究成果の概要(英文)：Endometriosis is a common gynecological disease associated with pelvic pain and in fertility. Current treatments include oral contraceptives combined with NSAIDs or surgery to remove lesions, all of which provide a temporary but not complete cure. As most endometriosis occurs on organ surfaces facing the peritoneum, we subtracted a phage display library with female mouse peritoneum tissue and selected phage clones by binding to human endometrial epithelial cells. We identify an endometriosis-targeting peptide internalized by cells, designated z13. Proteomics analysis revealed the z13 receptor as the CNGB3. We then linked z13 with an apoptosis inducing peptide and with an endosome-escaping peptide. When these peptides were coadministered into the peritoneum of baboons with endometriosis, cells in lesions selectively underwent apoptosis with no effect on neighboring organs. This study reports a potential therapeutic capability of eliminating endometriosis from the human peritoneum.

研究分野：産婦人科学

科研費の分科・細目：婦人科学

キーワード：創薬

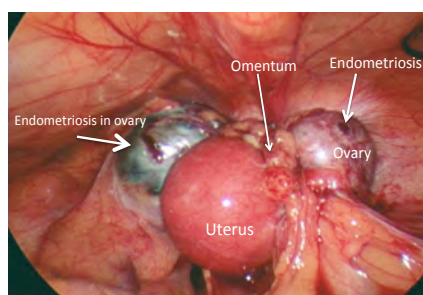
z13-[KLAKLAK]₂+z13- [HLAHLAH]₂ は時間依存性に CNGB3 を発現する細胞を障害する。



(2) 子宮内膜症ヒビで新規薬剤の効果判定

まず、臨床症状、不妊、超音波断層法により子宮内膜症に罹患したヒビを選別した。さらに、腹腔鏡下手術を行い、腹腔内の所見より子宮内膜症と診断したヒビに z13- [KLAKLAK]₂+z13- [HLAHLAH]₂ を投与し薬理効果の検証を行った。

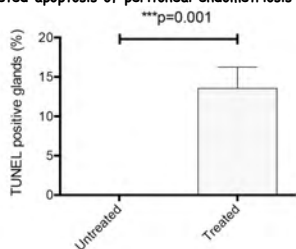
子宮内膜症ヒビを用いて薬理効果



子宮内膜症細胞はアポトーシスを起こさないことが知られている。薬剤の投与群では 20 時間後、有意差をもって子宮内膜症細胞がアポトーシスに陥っていることが確認できた。今後はさらに、長期の効果判定を計画している。

子宮内膜症はアポトーシスを起こす

Targeted apoptosis of peritoneal endometriosis in vivo



The number of TUNEL-positive glands in total glands was expressed as relative TUNEL positivity (%). A gland was scored as TUNEL-positive if it contained any TUNEL-positive cells. Numbers obtained from these control untreated baboons were compared with numbers obtained from three baboons treated with a mixture of KLAK-z13 and endosome-escaping peptide (EEP).

本研究で示された結果より、子宮内膜症細胞表面に発現する CNGB3 を分子標的とし、z13 を運び屋とする DDS 型の薬剤が開発可能であることが明らかになった。細胞傷害を引き起こす薬剤は [KLAKLAK]₂ をエンドソームの膜を破壊する薬剤は [HLAHLAH]₂ を用いる。それぞれの特性の組合

せで子宮内膜症の治療を目的とするペプチド創薬の可能性が確認された。子宮内膜症の治療を目的とした薬剤は国内外にないため、本研究が発展した暁には多くの子宮内膜症で悩む患者さんの苦痛を軽減することが期待され、社会への波及効果が望める。

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)

[雑誌論文] (計 14 件)

- ① Tamura N, Kimura S, Farhana M, Uchida T, Suzuki K, Sugihara K, Itoh H, Ikeda T, Kanayama N: Cl esterase inhibitor activity in amniotic fluid embolism. *Critical Care Medicine*. 2014. Feb 20. [Epub ahead of print]
- ② Muramatsu-Kato K, Itoh H, Kohmura Y, Murakami H, Uchida T, Suzuki K, Sugihara K, Kanayama N: A Comparison between Placental Gene Expression of 11βHydroxysteroid Dehydrogenases and Infantile Growth during at Ten Months. *J Obstet Gynaecol Re*. 40(2):465-472. 2014.
- ③ Sugihara K, Shibata TK, Takata K, Kimura T, Kanayama N, Williams R, Hatakeyama S, Akama TO, Kuo CW, Khoo KH, Fukuda MN: Regulation of human sperm motility by polylectosamines derived from seminal fluid. *FEBS Lett*. 587(2013):3195-3201. 2013.
- ④ Kubota K, Itoh H, Tasaka M, Naito H, Fukuoka Y, Muramatsu K, Kohmura KY, Sugihara K, Kanayama N: Changes of maternal dietary intake, body weight and fetal growth through pregnancy in pregnant Japanese women. *J Obstet Gynaecol Re*. 39(9): 1383-1390. 2013.
- ⑤ Suzuki-Anekoji M, Suzuki A, Wu SW, Angata K, Murai KK, Sugihara K, Akama TO, Khoo KH, Nakayama J, Fukuda MN, Fukuda M: In vivo regulation of steroid hormones by the Chst10 sufotransferase in mouse. *J Biol Chem*. 288(7): 5007-5016 2013.
- ⑥ Kohmura YK, Kanayama N, Muramatsu K, Tamura N, Yaguchi C, Uchida T, Suzuki K, Sugihara K, Aoe S, Sasaki T, Suganami T, Ogawa Y, Itoh H: Association between body weight at weaning and remodeling in the subcutaneous adipose tissue of obese adult mice with undernourishment *in utero*. *Reprod Sci*. 20(7):813-27. 2013.

- ⑦ Yamazaki K, Suzuki K, Itoh H, Muaramatsu K, Nagahashi K, Tamura N, Uchida T, Sugihara K, Maeda H, Kanayama N: Cerebral oxygen saturation evaluated by near-infrared timeresolved spectroscopy (TRS) in pregnant women during cesarean section –A promising new method of maternal monitoring - *Clin Physiol Funct I*. 33(2):109-116 2013.
- ⑧ Ozawa H, Asahina T, Murakami H, Yaguchi C, Kohmura Y, Kohno E, Hirano T, Horiuchi K, Tamura N, Sugihara K, Ooi H, Kanayama N: Zinc Coproporphyrin I derived from meconium has an antitumor effect associated with singlet oxygen generation. *Fetal Digan Ther*. 33(2): 90-97. 2013.
- ⑨ Park SK, Yoon J, Wang L, Shibata TK, Motamedchaboki K, Shim KJ, Chang MS, Lee SH, Tamura N, Hatakeyama S, Nadano D, Sugihara K, Fukuda MN. Enhancement of mouse sperm tail motility by trophinin-binding peptide. *Reprod Biol Endocrin*. 2012 Nov 29;10:101. doi: 10.1186/1477-7827-10-101
- ⑩ Shibata TK, Matsumura F, Wang P, Yu S, Chou CC, Khoo KH, Kitayama K, Akama TO, Sugihara K, Kanayama N, Kojima-Aikawa K, Seeberger PH, Fukuda M, Suzuki A, Aoki D, Fukuda MN: Identification of mono- and di-sulfated *N*-acetyl-lactosaminyl oligosaccharide structures as epitopes specifically recognized by humanized monoclonal antibody HMOCC-1 raised against ovarian cancer. *J Biol Chem*. 287(9):6592-6602. 2012.
- ⑪ Furuta N, Yaguchi C, Itoh H, Morishima Y, Tamura N, Kato M, Uchida T, Suzuki K, Sugihara K, Kawabata Y, Suzuki N, Sasaki T, Horiuchi K, Kanayama N: Immunohistochemical Detection of Meconium in the Fetal Membrane, Placenta and Umbilical Cord. *Placenta*. 33(1):24-30. 2012.
- ⑫ Suzuki K, Itoh H, Muramatsu K, Yamazaki K, Nagahashi K, Furuta N, Tamura N, Uchida T, Sugihara K, Sumimoto K, Kanayama N: Transient ligation of umbilical vessels elevates placental tissue oxygen index(TOI) values measured by near-infrared spectroscopy (NIRS) in clawn miniature pig animal model. *Clin Exp Obstet Gyn*. 39 (3):293-298. 2012.
- ⑬ Kato M, Itoh H, Nagahashi K, Izima M, Yaguchi C, Uchida T, Suzuki K, Sugihara K, Kanayama N: Reduction in Levels of

Maternal Complements during Delivery by Cesarean Section.

J Obstet Gynaecol Re. 38(1):165-71. 2012.

- ⑭ Hatakeyama S, Sugihara K, Shibata TK, Nakayama J, Akama TO, Tamura N, Wong SM, Bobkov AA, Takano Y, Ohyama C, Fukuda M, Fukuda MN: Targeted drug delivery to tumor vasculature by a carbohydrate ligand mimicry peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 108(49):19587-19592. 2011.

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称:

COMPOSITIONS AND METHODS FOR TARGETED ENDOMETRIOSIS TREATMENT

発明者: 杉原一廣、福田道子

権利者: 同上

種類: 特許

番号: US Provisional No.61833519

出願年月日: 平成 25 年 6 月 11 日

国内外の別: 米国

(PCT 出願済平成 26 年 6 月 11 日)

[その他]

ホームページ等

http://www.hama-med.ac.jp/uni_introduction_report_souran_07161504.html

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
杉原 一廣 (SUGIHARA KAZUHIRO)
浜松医科大学・医学部・准教授
研究者番号: 00265878
- (2) 研究分担者
金山 尚裕 (KANAYAMA NAOHIRO)
浜松医科大学・医学部・教授
研究者番号: 70204550
伊東 宏晃 (ITOH HIROAKI)
浜松医科大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号: 70263085
田村 直顕 (TAMURA NAOAKI)
浜松医科大学・医学部附属病院・助教
研究者番号: 90402370