

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591967

研究課題名(和文) がん特異的ラジカスカルベンジ制御に基づく新しい癌休眠療法の確立

研究課題名(英文) An establishment of new tumor dormancy therapy based on regulation of radical scavenger

研究代表者

猪股 雅史 (INOMATA, MASAFUMI)

大分大学・医学部・准教授

研究者番号：60315330

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：癌特異的ラジカスカルベンジャー作用に基づく新しい癌治療法の開発を目的とした。新規抗酸化剤アルファリポ酸誘導体およびビタミンE誘導体を投与し、大腸がん細胞株HT-29、胃癌細胞株MKN45Pを用い腫瘍増殖や腹膜播種転移への影響をin vitroおよびin vivoにて検討した。その結果、新規抗酸化物質の投与は、in vitro、in vivoともに腫瘍増殖抑制効果を示し、腹膜播種モデルにおける播種結節の大きさの抑制を示した。その機序には、MAPキナーゼのリン酸化を介したG2/M期での細胞周期停止、ネクローシス、オートファジーなどの非アポトーシス細胞死の関与が考えられた。

研究成果の概要(英文)：We investigated whether new antioxidants, alfa-lipoic acid (ALA) derivatives and vitamin E derivatives elicits its antiproliferative effects in vivo and in vitro by inducing apoptosis, autophagy or cell cycle arrest, and we analyzed the expression of proteins related to these phenomena and their phosphorylation in HT-29 human colon cancer cells. These new antioxidants inhibited the proliferation of HT-29 cells through the mechanisms of G2/M cell cycle arrest and autophagy but not that of apoptosis. The newly synthesized ALA derivative may be expected to become a novel cancer therapeutic strategy through its induction of autophagy.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：小腸大腸肛門外科学 腫瘍学

1. 研究開始当初の背景

ラジカルスカベンジャーとして知られるリポ酸(ジヒドロリポ酸:DHL)およびビタミン E は生体内に元来備わっているビタミン様の物質であり、生体内エネルギー代謝、レドックス制御に重要な役割を果たしている。これまでに海外から、抗酸化剤として、in vitro において大腸がん細胞をはじめ複数のがん腫に対する腫瘍増殖抑制効果が報告されている (Novotny et al. Neoplasma 2008) が、水に溶けにくく製剤として使えず、in vivo での有効性の報告はない。これまでにわれわれのグループでは、新しい抗酸化作用を持つアルファリポ酸誘導体およびビタミン E 誘導体を作成し、in vitro および in vivo において、腎虚血再還流モデルによる臓器障害の低減化、および肺線維症モデルによる抗炎症効果を示すことを報告してきた。

2. 研究の目的

我々が開発した新規抗酸化剤であるアルファリポ酸誘導体およびビタミン E 誘導体が、様々なラジカルを選択的に消去する作用を用いて、がんの増殖・浸潤・転移を制御する新しい癌治療法の開発を行う。

3. 研究の方法

(1) がん細胞の増殖抑制作用 (in vitro)

大腸癌細胞株 HT-29、胃癌細胞株 MKN45P に対して新規抗酸化剤であるアルファリポ酸誘導体およびビタミン E 誘導体が、細胞増殖能・細胞周期・カスパーゼ 3/7 の活性化・電子顕微鏡による細胞形態・ウエスタンブロット法にてオートファジー関連タンパクの発現、Bio-plex によるリン酸化タンパクの発現を解析した。

(2) がんの増殖抑制作用 (in vivo)

bulb/c nu/nu マウスで HT-29 細胞の皮下腫瘍モデルマウスを作成し、マウスを 3 群 (生食投与群およびアルファリポ酸誘導体投与群 (0.1, 1mg/kg/body)) にランダムに振り分け、毎日 1 回 6 週間皮下注射し、腫瘍体積を計測する。

(3) 腹膜播種転移の抑制作用 (in vivo)

bulb/c nu/nu マウスを用いて胃癌細胞株 MKN45P による腹膜播種モデルを作成する。マウスを 3 群 (生食投与群およびアルファリポ酸誘導体投与群 (0.1, 1mg/kg/body)) にランダムに振り分け、毎日 1 回 6 週間皮下注射し、体重・腹囲・腹水量・腫瘍細胞数を計測する (各群 = 8)。

4. 研究成果

in vitro において、大腸がん細胞株 HT-29、胃癌細胞株 MKN45P に対して、アルファリポ酸誘導体とビタミン E 誘導体の投与は、濃度時間依存的な細胞増殖抑制効果を示した。また G2/M 期での細胞周期停止を誘導し、カスパーゼ 3/7 活性が有意に低く、アポトーシス誘導は認めなかった。電子顕微鏡ではネクローシスおよびオートファジーの所見を認め、LC-3-の発現は I から II への移行を示した。リン酸化蛋白分析にて P38MAPK, ERK, JNK, p53 の有意なリン酸化亢進をきたした。in vivo では、HT-29 細胞の皮下腫瘍モデルマウスを作成し、アルファリポ酸誘導体 0.1 mg および 1mg/kg/body 投与群が生食投与群に比べ有意な腫瘍増殖抑制効果を示した。胃癌細胞株 MKN45P を用いた腹膜播種モデルマウスを作成しビタミン E 誘導体 ETS - GS 0.1 mg 投与群が生食投与群に比べ有意な腫瘍増殖数の減少を示した。以上より、新規抗酸化物質である リポ酸誘導体は in vitro, in vivo において腫瘍増殖抑制効果を示し、in vitro における増殖抑制の機序には、MAP キナーゼのリン酸化を介した G2/M 期での細胞周期停止、ネクローシス、オートファジーなどの非アポトーシス細胞死が関与していると考えられた。

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 4 件)

A newly synthetic vitamin E derivative, E-Ant-S-GS, attenuates lung injury caused by cecal ligation and puncture-induced sepsis in rats

Kono Y, Inomata M, Hagiwara S, Shiraishi N, Noguchi T, Kitano S Surgery, 査読有, 151(3): 420-426, DOI: 10.1016/j.surg.2011.08.003(2012)

Antiproliferative effects of a new α -lipoic acid derivative, DHL-HisZnNa, in HT29 human colon cancer cells in vitro

Kono Y, Inomata M, Hagiwara S, Hiratsuka T, Suzuki K, Koga H, Shiraishi N, Noguchi T, Kitano S Expert Opinion On Therapeutic Targets, 査読有, 16: S103-109, DOI: 10.1517/14728222.2011.640320(2012)

Bolus injection of newly synthesized vitamin E derivative ETS-GS for the treatment of acute severe ulcerative

colitis in a mouse model. New vitamin E derivative for acute severe UC. Hiratsuka T, Inomata M, Hagiwara S, Kono Y, Shiraishi N, Noguchi T, Kitano S, Int J colorectal Dis, 査読有, 28(3): 305-11, DOI: 10.1007/s00384-012-1502-y(2013)

DHL-TauZnNa, a newly synthesized α -lipoic acid derivative, induces autophagy in human colorectal cancer cells. Hiratsuka T, Inomata M, Kono Y, Yokoyama S, Shiraishi N, Kitano S. Oncol Rep, 査読有, 29(6): 2140-2146, DOI: 10.3892/or.2013.2394(2013)

〔学会発表〕(計6件)

杉田 諭、二日市琢良、草野徹、中嶋健太郎、平塚孝宏、赤木智徳、柴田智隆、上田貴威、當寺ヶ盛学、白下英史、衛藤剛、猪股雅史、野口剛、白石憲男、北野正剛
新規 リポ酸誘導体 DHLHZn のオキサブラチン誘導末梢神経障害に対する抑制効果；ラットモデルにおける検討
第 42 回日本創傷治癒学会, 2012.12.3, 北海道札幌市

Yohei Kono, Masafumi Inomata, Takahiro Hiratsuka, Kazumi Ogata, Seigo Kitano
Effect of A New α -lipoic Acid Dervative, DHL-HisZn, on Cancer Cell Growth in HT29 Human Colon Cancer Cell
OOTR 7th Annual Conference, 2011.5.13, 香港

Masafumi Inomata, Yohei Kono, Takahiro Hiratsuka, Kazumi Ogata, Seigo Kitano
The Effectiveness of A New Alpha-lipoic Acid Derivative, Sodium Zinc Dihydropolylhistidenate (DHLHZn), in Preventing Chemotherapy-induced Alopecia
OOTR 7th Annual Conference, 2011.5.13, 香港

Takahiro Hiratsuka, Masafumi Inomata, Yohei Kono, Kazumi Ogata, Seigo Kitano
Antiproliferative Effect of Newly Synthetic Antioxidant, α Lipoic Acid Derivatives
OOTR 7th Annual Conference, 2011.5.13, 香港

Yohei Kono, Masafumi Inomata,

Takahiro Hiratsuka, Takashi Masuda, Teijiro Hirashita, Fumitaka Yoshizumi, Norio shiraishi, Seigo Kitano
Antitumor effects of a new α -lipoic acid derivative, DHL-HisZnNa, are mediated by G1 cell cycle arrest in HT29 human colon cancer cells
International Surgical Week 2011, 2011.8.29, 神奈川県横浜市

Masafumi Inomata, Yohei kono, Takahiro Hiratsuka, Fumitaka Yoshizumi, Norio Shiraishi, Satoshi Hagiwara, Tsuyoshi Noguchi, Seigo Kitano
The alpha-lipoic acid derivative, sodium zinc dihydropolylhistidenate (DHLHZn), reduces chemotherapy-induced alopecia in a rat model
International Surgical Week 2011, 2011.8.28, 神奈川県横浜市

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

5. 研究組織

(1)研究代表者
猪股雅史 (INOMATA MASAFUMI)
大分大学・医学部・准教授
研究者番号：60315330

(2)研究分担者
北野 正剛 (KITANO SEIGOU)
大分大学・法人本部・学長
研究者番号：90169871

守山正胤 (MORIYAMA MASATSUGU)
大分大学・医学部・教授
研究者番号：90239707

野口隆之 (NOGUCHI TAKAYUKI)
大分大学・医学部・病院長
研究者番号：90156183

衛藤 剛 (ETOH TSUYOSHI)
大分大学・医学部・講師
研究者番号：00404369

平塚孝宏 (HIRATSUKA TAKAHIRO)
大分大学・医学部・医員
研究者番号：20600886

(3)連携研究者
なし