

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 20 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592832

研究課題名(和文)新規抗癌剤KNK437による、抗腫瘍転移効果についての分子イメージング的解析研究

研究課題名(英文)Study of molecular imaging analysis for anti-tumor metastasis effect using new anticancer agents, KNK437

研究代表者

浅海 淳一 (ASAUMI, Junichi)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：60184131

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：マウスを薬剤非投薬コントロール群、週1回KNK437投薬群に分けて死亡するまで、腫瘍体積量、腫瘍重量、生存率、FDG-PET撮像結果を解析した。腫瘍体積量は、投薬開始後10回目でKNK投薬群の腫瘍体積量が抑制された。非投薬コントロール群と比してKNK437投薬群の腫瘍重量、生存の改善はみられなかった。ガンマカウンターによるBio distribution結果からKNK437投薬群は非投薬コントロール群よりも腫瘍部および肺部へのFDG集積量が少ない結果を得た。新規抗癌剤KNK437はin vivoにおける抗腫瘍増大効果、肺転移阻害効果を有することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Tumor volume amount, tumor weight, survival rate and FDG-PET imaging were analyzed until death in mice in the drug non-medicated control group and the KNK437 administration group. The improvement in tumor volume amount and survival rate was not observed in the KNK administration group compared with the control group. Bio distribution results by gamma counter showed a small amount of FDG accumulation in the tumor and lung in the KNK group compared with in the control group. New anticancer agents KNK437 was suggested to have the antitumor effect in tumor increase and lung metastasis inhibitory effect in in vivo.

研究分野：歯科放射線学分野

キーワード：KNK437 癌細胞温熱耐性獲得阻害剤 腫瘍転移阻害効果 血管新生阻害効果 FDG-PET 肺転移阻害効果 抗腫瘍効果

1. 研究開始当初の背景

新規抗癌剤 KNK437(N - ホルミル - 3,4 - メチレンジオキシベンジリデン - プチロラクタム) は副作用が少ない熱ショックタンパク阻害剤として知られる。これまでに申請者は、*in vitro* での KNK437 の血管新生阻害能、癌浸潤抑制能を明らかにしてきた(国内特許取得)。今回、申請者は、同薬剤の *in vivo* での癌転移阻害効果を分子イメージング手法にて解析し、KNK437 を用いた、副作用が少ない新規癌転移阻害療法を確立したい。

現在、癌は日本人の死因の一つとして大きな割合を占めており、その対策は現代医療の最大の課題である。近年、抗癌剤として血管新生阻害剤は注目を集め、様々な新たな薬剤が開発されている。しかし、現時点において、副作用などの観点からまだ改良の余地があり、ブレークスルーが待たれる。これまで申請者は、新規抗癌剤として注目される熱ショックタンパク阻害剤 KNK437 について、血管新生能ならびに癌浸潤能に及ぼす影響を *in vitro* 下において検討し、株式会社カネカ 研究開発本部フロンティアバイオ・メディカル研究所(兵庫県高砂市高砂町宮前町1番8号)と共に特許申請した(特願 2008-266612)。NK437 は熱ショック因子活性化阻害剤として見出された化合物であり、これまでに、物質特許としてストレス性疾患治療剤(US6281229)、癌温熱療法時の癌細胞温熱耐性獲得阻害剤(US6903116)、神経細胞伸張促進剤としての報告がある。申請者らは KNK437 に血管新生阻害活性を見出したが、血管新生阻害作用や癌浸潤抑制作用、癌転移抑制作用に関する報告はなく、大変興味深い課題である。そこで本申請研究は、本学に新たに導入された動物用 PET 装置を活用して撮像し、遠隔転移をより臨床に近い手法で検討するものである。そこで申請者は、これまでの研究を進展させれば、新規抗癌剤 KNK437 により、*in vivo* において癌転移阻害効果を生むのではないかとこの着想に至った。その検討には、PET (ポジトロン断層法: Positron Emission Tomography) 撮像などの分子イメージング手法を用い、KNK437 を用いた新規腫瘍転移阻害療法を確立したい。

2. 研究の目的

本申請研究課題では、口腔癌担癌モデルマウスを用いて、以下の点について明らかにする。

- 1) KNK437 による肺転移、血管新生阻害効果を検討する。
 - 2) KNK437 による全身転移阻害効果を PET で検討する。
 - 3) 癌転移阻害効果の分子メカニズムを解明する。
- 抗癌作用の解析に際しては、以下の項目について実施する。

- a. 口腔癌担癌モデルマウス(C3H:HeN マウス、同マウス由来頬部扁平上皮癌 sq-1979 株) を作製し、肺転移状況、転移に必要な血管新生等、多角的に解析する。
- b. KNK437 投与を行った担癌モデルマウスについては、経時的に PET 撮像し、その癌転移状況を全身検索する。その後、血液、癌部、癌転移臓器等を摘出し、組織学的解析、生化学的解析を行い、KNK437 による全身的な病態変化および癌転移後阻害効果を検討する。
- c. 同実験動物から摘出した試料を用いて、KNK437 による癌転移阻害効果のメカニズムをマイクロアレイなどの分子生物学的手法で解析する。

当該研究は、以下の学術的な特色・独創的な点が挙げられる。

- 1) 生体に対し弱毒性で、他の抗癌剤のような重篤な副作用を伴わない KNK437 を用いる点、
- 2) 熱ショックタンパク阻害剤とされてきた KNK437 が、癌転移阻害効果を発揮する点、においてこれまでの治療法とは大きく異なり独創的である。その結果、以下の2点の結果と意義が予想される。

- 1) 抗癌剤治療における、副作用の軽減・転移阻害などの奏効率向上が期待できる、
- 2) KNK437 の口腔癌への影響解明により、他臓器での固形癌への応用も期待できる、といった意義を有し、患者の QOL 向上に貢献できる。

3. 研究の方法

- 1) 口腔癌担癌マウスモデルを作製し、KNK437 投与を行い、肺転移、血管新生阻害効果、腫瘍増大率、生存率等、多角的に検討する。
- 2) 口腔癌担癌マウスモデルを用いて、KNK437 による全身転移阻害効果を PET で検討する。
- 3) 摘出した試料を用いて、KNK437 による全身転移阻害効果の作用機序について分子生物学的に解析する。

口腔癌担癌マウスモデルを作製し、*in vivo* での KNK437 による抗腫瘍効果を検討する。

・口腔癌担癌マウスモデル作製

C3H:HeN マウスに対して、同マウス由来頬部扁平上皮癌 sq-1979 株を背部皮下もしくは尾静脈より播種、担癌させ、モデルマウスを作製。全体を実験通じて供する。検討対象としては、薬剤非投与群、KNK437 投与群、各 7 匹に分け、比較する。薬剤投与は腹腔内にて、週 1 回、9 週間とする。

・KNK437 による、血管新生阻害効果、抗

腫瘍増大効果についての検討

上記担癌マウス（背部皮下に腫瘍播種）を対象とする。腫瘍径を毎週計測、抗腫瘍増大効果を比較検討する。堵殺後、免疫組織学的に腫瘍内部の血管数を計測、血管新生への影響を検討する。

・KNK437 による、肺転移阻害、延命効果についての検討

上記担癌マウス（尾静脈より腫瘍播種）を対象とする。各群の生存日数から、KNK437 による肺転移阻害効果および延命効果を比較検討する。

・小動物用 PET イメージングによる遠隔転移阻害効果についての解析

上記担癌マウス（尾静脈より腫瘍播種）を対象とする。臓器転移モデルを作製する。その後、ブドウ糖にポジトロン核種を合成した薬剤である ¹⁸F-FDG(フルオロデオキシグルコース)プローブを尾静脈から投与し、PET 撮影 (Clairvivo PET: 島津製作所) し、腫瘍の全身での転移状況を比較検討する。転移癌細胞は通常の細胞より多くのブドウ糖を取り込む為、FDG が集中し放出される線を、PET カメラで撮影、転移癌の指標とする。PET に加え、CT も併用し、画像の重ね合わせを行い、より詳細なデータを得る。PET イメージング解析を確立し、KNK437 の遠隔転移阻害効果について検討する。

・マイクロアレイによる KNK437 関連分子の特定と発現解析の検討

担癌マウスモデルからの抽出試料を用いた KNK437 の作用機序について分子生物学的検討を行う。マイクロアレイ TORAY 3D-GENE 受託解析 (TORAY 社) を行い、その発現変化から、KNK437 に代表的な関連分子を検索し、その発現の増減から、関与経路を解明する。

4. 研究成果

新規抗癌剤 KNK437 (N - ホルミル - 3,4 - メチレンジオキシベンジリデン - γ - ブチロラクタム) は副作用が少ない熱ショックタンパク (HSP: Heat Shock Protein) 阻害剤として知られている。物質特許としてストレス性疾患治療剤 (US6281229)、癌温熱療法時の癌細胞温熱耐性獲得阻害剤 (US6903116)、神経細胞伸張促進剤としての報告がある。我々は KNK437 の腫瘍転移阻害効果、血管新生阻害効果を in vitro で明らかにし特許取得した。本研究にあたっては in vivo における薬剤の代謝、影響を検討する必要がある。そこで 2012 年度においては、in vivo における KNK437 の抗腫瘍増大効果・転移阻害効果の検討には、小動物用 PET 装置を用いて撮像し、免疫染色による転移

評価と比較する事が出来た。C3H:HeN マウスに対して、同マウス由来頬部扁平上皮癌 sq-1979 株 を背部皮下に播種担癌させ、モデルマウスを作製、実験全体を通じて供した。モデルマウスに対して KNK437 投薬 (薬剤非投薬コントロール群、KNK437 投薬群を設定) を週 1 回死亡するまで行い、腫瘍体積量、腫瘍重量、生存率、FDG-PET 撮像結果を解析した。モデルマウスの背部皮下の腫瘍体積量は、非投薬コントロール群と KNK437 投薬群の間に、投薬開始からしばらく明らかな差はみられなかったが、投薬開始後 10 回目で KNK 投薬群の腫瘍体積量が抑制された。しかしながら腫瘍重量に大きな差はみられなかった。生存率の比較においても非投薬コントロール群と比して KNK437 投薬群の生存率の向上はみられなかった。さらに 2013、2014 年度には、臓器転移モデルマウスでの小動物用 PET イメージング撮像を試行、腫瘍の全身での転移状況を比較検討出来た。FDG-PET 撮像にて、非投薬コントロール群と KNK437 投薬群の間に画像で捉えられる大きな差はみられなかったが、ガンマカウンターによる Bio distribution 結果から KNK437 投薬群は非投薬コントロール群よりも腫瘍部および肺部への FDG 集積量が少ない結果を得た。新規抗癌剤 KNK437 は in vivo における抗腫瘍増大効果、肺転移阻害効果を有することが示唆された。

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 0 件)

[学会発表](計 1 件)

畦坪輝寿、村上純、此内浩信、柳文修、久富美紀、藤田麻里子、岡田俊輔、浅海淳一、新規抗癌剤 KNK437 による抗腫瘍増大効果・転移阻害効果に関する in vivo における検討、第 24 回日本口腔内科学会・第 27 回日本口腔診断学会 合同学術大会、九州大学(福岡県、博多)、2014 年 9 月 18 日~20 日

[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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

浅海 淳一 (ASAUMI, Junichi)
岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：6 0 1 8 4 1 3 1

(2) 研究分担者

此内 浩信 (KONOUCHI, Hironobu)
岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号：2 0 2 9 4 4 2 3

久富 美紀 (HISATOMI, Miki)
岡山大学・大学病院・講師
研究者番号：6 0 3 1 4 7 0 4

(3) 連携研究者

()

研究者番号：