

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26830108

研究課題名(和文)がん酸性環境がもたらすがん細胞の薬剤耐性獲得機序の解明と新規治療薬の開発

研究課題名(英文)Exploration of mechanism of drug resistance in cancer acidic condition and development of novel therapeutic drug

研究代表者

中村 信元 (NAKAMURA, Shingen)

徳島大学・大学病院・助教

研究者番号：10511321

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：酸性環境は悪性腫瘍に共通して認められ、腫瘍の抗癌剤への耐性を惹起するが、腫瘍酸性環境を標的とする治療法は開発されていない。骨髄腫細胞ではセリンスレオニンキナーゼPim-2が大きく亢進し、酸性環境ではSIRT1の発現の亢進、癌幹細胞を含むside population 分画の薬剤排出トランスポーター、乳酸を排出するモノカルボン酸トランスポーターの活性化もみられた。これらは、pim阻害薬ですべて抑制された。これらの病態を改善に導くため、本学薬学部が保有している構造の明らかな化合物ライブラリーを探索し、CucurbitacinBという物質が酸性環境で強力に抗腫瘍効果を発揮することを見いだした。

研究成果の概要(英文)：Tumor acidity has been known to confer drug resistance in cancers, however, therapeutic drug targeting tumor acidic microenvironment have not been developed. Pim2 was highly upregulated in myeloma cells, and SIRT1, BCRP, monocarbonic transporter were upregulated in acidic condition. Pim inhibitor improved all of these change. We explored compound library in faculty of pharmaceutical sciences, and found cucurbitacinB was one of a candidates of therapeutic drugs for targeting tumor acidic condition.

研究分野：がん薬物療法学

キーワード：がん酸性環境 pim2

1. 研究開始当初の背景

酸性環境は悪性腫瘍に共通して認められ、抗腫瘍薬への耐性を惹起し腫瘍細胞の悪性形質を強める。従来の抗腫瘍薬の多くは酸環境下では抗腫瘍活性が減弱するため、酸性環境下で強力な抗腫瘍活性を発揮する抗腫瘍薬の開発が重要な臨床課題である。多発性骨髄腫や骨転移癌は依然難治の悪性腫瘍であるが、破骨細胞を活性化し骨を破壊しつつ高度な酸性環境を形成し、骨破壊病変内の酸環境下で旺盛に増殖し薬剤耐性を獲得している。我々は、骨髄腫骨病変内で薬剤耐性を獲得し、未だ治癒をもたらす治療が開発されていない難治性腫瘍の多発性骨髄腫に対する新規治療の開発の為に、骨髄微小環境との相互作用を基軸に多面的な検討を行ってきた。そして、遺伝子、蛋白の網羅的な解析を行い骨髄微小環境との共存により骨髄腫細胞で大きく発現が亢進する因子としてセリンスレオニンキナーゼ Pim-2 を同定した(Asano, et al. Leukemia, 2011)。さらに最近、骨破壊病変内の酸環境下によって骨髄腫細胞にセリンスレオニンキナーゼ Pim-2 の発現が亢進し腫瘍細胞に治療抵抗性を獲得させること、Pim-2 の阻害は正常細胞には細胞死を誘導しないが腫瘍細胞特異的に酸性環境下でより強い抗腫瘍活性を発揮することを見出した(日本血液学会総会 2012, 2013)。さらに興味深いことに Pim-2 の阻害は、薬剤耐性の原因になっている腫瘍幹細胞を含む side population 分画を減少させること(日本血液学会総会 2013)や骨破壊病変部に骨形成を誘導すること(米国骨代謝学会 2012)が明らかとなり、Pim-2 阻害薬は薬剤耐性を克服し骨再生を促すというこれまでにない多面的な作用を有する治療薬の候補と考えられた。

2. 研究の目的

酸性環境は悪性腫瘍に共通して認められ、腫瘍の抗癌剤への耐性を惹起するが、腫瘍酸性環境を標的とする治療法は開発されていない。本研究では、腫瘍酸性環境がもたらす腫瘍細胞や腫瘍前駆細胞のエピジェネティックな遺伝子発現の変化、生存に不可欠なシグナルや代謝および薬剤排出ポンプを含む輸送体の活性化の実態を解析し、酸環境による薬剤耐性と腫瘍幹細胞性の獲得機序を解明する。これらの解析から新規治療標的を同定し、また化合物ライブラリーから腫瘍酸環境での薬剤耐性を克服する治療薬の候補を探索し、酸性環境を標的としうるこれまでになかった新規治療薬を創出することを目的とする。

3. 研究の方法

骨病変部に高度な酸環境を形成し薬剤耐性を獲得する多発性骨髄腫や骨転移癌を用い、腫瘍酸環境を標的とし薬剤耐性を克服しうる新規治療薬を創出するために以下の検討を行った。1) 酸性環境で腫瘍が生存するた

めのシグナル・代謝経路の活性化、エピジェネティックな遺伝子発現制御による腫瘍進展や薬剤耐性の分子機序を明らかにする。2) 酸環境下で強い抗腫瘍活性を発揮するこれまでに抽出した化合物や構造変換し作成した Pim 阻害薬 12a-OH の、異なる pH での多系統の癌種における抗腫瘍活性、薬剤排出トランスポーターや MCT の活性に及ぼす効果、side population 分画に対する傷害活性やコロニーアッセイにて自己複製能に対する影響を調べ癌幹細胞の生存に及ぼす影響を明らかにする。さらに、候補薬の効果を動物モデルで明らかにする。

4. 研究成果

酸環境による薬剤耐性と腫瘍幹細胞性の獲得機序を解明する過程で、骨髄腫細胞でセリンスレオニンキナーゼ Pim-2 が大きく亢進していることを見いだしていた。さらに酸性環境では SIRT1 の発現の亢進、さらに癌幹細胞を含む side population (SP) 分画の薬剤排出トランスポーター BCRP の発現亢進がみられ、酸性環境形成の原因となる乳酸を排出するモノカルボン酸トランスポーター(MCT)の活性化もみられた。これらは、pim 阻害薬の投与によりすべて抑制された。さらに pim 阻害薬は酸性環境でより強力な抗腫瘍効果を発揮した。面白いことに、リンパ腫で頻用されているベンダムスチンという抗がん剤も酸性環境で抗腫瘍効果が増強した。さらに、これらの病態を改善に導くため、本学薬学部が保有している構造の明らかな化合物ライブラリーを探索し、酸環境下において強力な抗腫瘍活性を発揮しうる化合物を合計 14 種抽出した。このうち、CucurbitacinB という物質が in vitro で安定であり、酸性環境で強力に抗腫瘍効果を発揮することを見いだした。その作用機序を in vitro で検討したところ、タンパク合成の阻害作用がみられ、特に pim2 の蛋白レベルを有意に低下させた。さらに、CucurbitacinB で処理した後の骨髄腫細胞ではコロニーアッセイでのコロニー形成がほとんどなくなったことから、がん幹細胞の分画にも抗腫瘍効果を及ぼしているものと推察された。さらに、マウスで in vivo で検討を行ったところ、有意に抗腫瘍効果を発揮した。これらのことから、pim2 はがん酸性環境で critical な働きをしていること、および多発性骨髄腫の新規治療薬の候補として cucurbitacinB を見いだした。今後、作用機序についてさらなる解析を加える予定である。

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 7 件)

1. Nakamura S, Miki H, Oda A, Amachi R, Teramachi J, Sogabe K, Fujino H, Maruhashi

T, Fujii S, Kagawa K, Abe M
Susceptibility to bendamustine
considerably varies among myeloma cells,
but is enhanced in acidic conditions
International Journal of Myeloma. 6(1): 7
-11, 2016. 査読有

2. 安倍正博、三木浩和、中村信元
多発性骨髄腫臨床血液
2016;57(3):260-269. 査読無

3. Yamashita M, Fujii Y, Ozaki K, Urano Y,
Iwasa M, Nakamura S, Fujii S, Abe M, Sato
Y, Yoshino T. Human immunodeficiency
virus-positive secondary syphilis
mimicking cutaneous T-cell lymphoma.
Diagn Pathol. 2015 Oct 8;10(1):185. 査読
有

4. Hanson DJ, Nakamura S, Amachi R, Hiasa
M, Oda A, Tsuji D, Itoh K, Harada T,
Horikawa K, Teramachi J, Miki H, Matsumoto
T, Abe M. Effective impairment of myeloma
cells and their progenitors by blockade of
monocarboxylate transportation.
Oncotarget. 2015;6(32):33568-33586. 査
読有

5. Watanabe T, Mitsuhashi M, Sagawa M, Ri
M, Suzuki K, Abe M, Ohmachi K, Nakagawa Y,
Nakamura S, Chosa M, Iida S, Kizaki M.
Lipopolysaccharide-Induced CXCL10 mRNA
Level and Six Stimulant-mRNA Combinations
in Whole Blood: Novel Biomarkers for
Bortezomib Responses Obtained from a
Prospective Multicenter Trial for
Patients with Multiple Myeloma.
PLoS One. 10(6):e0128662, 2015. 査読有

6. Miki H, Nakamura S, Oda A, Amachi R,
Watanabe K, Hanson D, Teramachi J, Hiasa
M, Yagi H, Sogabe K, Takahashi M, Maruhashi
T, Udaka K, Harada T, Fujii S, Nakano A,
Kagawa K, Ri M, Iida S, Ozaki S, Matsumoto
T, Abe M. Induction of endoplasmic
reticulum stress by bortezomib sensitizes
myeloma cells to DR5-mediated cell death.
International Journal of Myeloma.
5(1): 1-7, 2015. 査読有

7. Hiasa M, Teramachi J, Oda A, Amachi R,
Harada T, Nakamura S, Miki H, Fujii S,
Kagawa K, Watanabe K, Endo I, Kuroda Y,
Yoneda T, Tsuji D, Nakao M, Tanaka E,
Hamada K, Sano S, Itoh K, Matsumoto T, Abe
M. Pim-2 kinase is an important target of
treatment for tumor progression and bone
loss in myeloma. Leukemia.
29(1):207-217, 2015. 査読有

〔学会発表〕(計 3 件)

1. Cytotoxic efficacy of Pim inhibitors and
anti-myeloma agents in combination
Shingen Nakamura, Hirokazu Miki, Hirofumi
Tenshin, Ryota Amachi1, Derek Hanson,
Keiichiro Watanabe, Jumpei Teramachi,
Asuka Oda, Kimiko Sogabe, Hikaru Fujino,
Tomoko Maruhashi, Shiro Fujii1, Kumiko
Kagawa, Masahiro Abe
日本血液学会総会 2015 年 10 月 16-18 日
石川県立音楽堂ほか (石川県 金沢市)

2. Alteration of Pim-2 expression by
clinically available anti-myeloma agents:
combinatory anti-myeloma effects with Pim
inhibition
Shingen Nakamura, Hirokazu Miki, Hirofumi
Tenshin1, Ryota Amachi1, Derek Hanson,
Keiichiro Watanabe, Jumpei Teramachi,
Asuka Oda, Kimiko Sogabe, Hikaru Fujino,
Tomoko Maruhashi, Shiro Fujii, Kumiko
Kagawa, Masahiro Abe
15th international myeloma workshop
2015.09.23-09.26 Rome (Italy)

3. Combinatory effects of Pim inhibitor
with clinically available anti-myeloma
agents
Shingen Nakamura, Hirokazu Miki, Hirofumi
Tenshin, Ryota Amachi1, Derek Hanson,
Keiichiro Watanabe, Jumpei Teramachi
Asuka Oda, Kimiko Sogabe, Hikaru Fujino,
Tomoko Maruhashi, Shiro Fujii, Kumiko
Kagawa, Masahiro Abe
日本骨髄腫学会 2015 年 5 月 17 日 熊本森
都心プラザ (熊本県熊本市)

〔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：

6 . 研究組織
(1)研究代表者

中村 信元 (NAKAMURA, Shingen)
徳島大学・病院・助教
研究者番号：10511321