

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08479

研究課題名(和文) シスプラチン耐性腫瘍におけるスタチン製剤の抗腫瘍効果機序の解明

研究課題名(英文) Elucidation of antitumor effect mechanism of statin preparation in cisplatin resistant tumor

研究代表者

栗田 智子 (KURITA, Tomoko)

産業医科大学・医学部・講師

研究者番号：30519864

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：メバロン酸経路関連遺伝子や代謝産物とがん細胞の生存との関連を指摘する報告がみられるが、HMGS1の過剰発現やメバロン酸の過剰投与によるシスプラチン感受性への影響が見られなかったことから、シスプラチン耐性細胞に対するロバスタチンの感受性増強には、メバロン酸経路が関与していない可能性が示唆された。一方、KLF2、KLF6およびRHOBはいずれも、がん細胞の細胞増殖抑制やアポトーシス誘導に働く腫瘍抑制遺伝子として知られており、ロバスタチンがこれらの腫瘍抑制遺伝子の発現を増加させ、アポトーシスを誘導することで、シスプラチン耐性細胞の生存率を優先的に低下させた可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脂質異常症の治療薬として使用されるHMG-CoA還元酵素(HMGCR)阻害剤に抗腫瘍効果があることが報告されており、ドラッグリポジショニングの一つとして注目されている。一方、婦人科がん治療においてプラチナ製剤は欠くことのできない重要な抗がん剤であり、長期使用によるプラチナ耐性獲得は克服しなければならない重要な課題の一つである。

すでに世界中の臨床現場で普及し使用されているスタチン製剤が、単剤でがんの進行を抑制することや、併用する抗がん剤の耐性を克服することは、実際にがん治療を行う臨床現場において、非常に大きな影響を与えることから、本研究を行う意義は深い。

研究成果の概要(英文)：There are reports that point out the association of mevalonate pathway-related genes and metabolites with cancer cell survival, but overexpression of HMGS1 and mevalonate overdose did not affect cisplatin sensitivity. It is suggested that the mevalonate pathway may not be involved in the sensitization of lovastatin to cisplatin-resistant cells. On the other hand, KLF2, KLF6, and RHOB are all known as tumor suppressor genes that act in cell growth suppression and apoptosis induction of cancer cells, and lovastatin increases the expression of these tumor suppressor genes and induces apoptosis. Suggested that it may have preferentially reduced the viability of cisplatin-resistant cells.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：プラチナ耐性 ドラッグリポジショニング スタチン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

毎年、本邦では30万人以上のがん患者が亡くなっており、その多くは抗がん剤抵抗性による治療不能による。シスプラチンは全がんの9割を占める固形がん治療において必須の抗がん剤であり、シスプラチンに対する耐性がん細胞の出現は、抗がん剤抵抗性による原病死に直結している。

近年、血中コレステロール値を低下させるHMG-CoA還元酵素(HMGCR)阻害剤(スタチン製剤)が、がんに対して細胞毒性を発揮することが報告された。すでに臨床現場で普及し使用されているスタチン製剤が、本来の適応疾患のみでなく、がん患者の予後改善へ影響を与える可能性があることは非常に強いインパクトがあり、その機序解明は世界中で注目されている。そこで、今回我々はシスプラチン耐性細胞におけるスタチン製剤の抗腫瘍効果を検討する。

2. 研究の目的

脂質異常症の治療薬として使用されるHMG-CoA還元酵素(HMGCR)阻害剤に抗腫瘍効果があることが報告されており、ドラッグリポジショニングの一つとして注目されている。一方、婦人科がん治療においてプラチナ製剤は欠くことのできない重要な抗がん剤であり、長期使用によるプラチナ耐性獲得は克服しなければならない重要な課題の一つである。今回、シスプラチン耐性細胞におけるロバスタチンの抗腫瘍効果を評価し、その機序について検討した。

3. 研究の方法

(1)2種類のがん細胞株(Hela細胞:ヒト子宮頸がん細胞、PC3細胞:ヒト前立腺がん細胞)と各々シスプラチン耐性細胞株(HCP4細胞、PCDP5細胞)を使用した。(2)タンパク質の発現はWestern blotで、mRNAの発現はReal-time PCRで評価した。(3)遺伝子非導入細胞の細胞生存率はWST-8 assayで算出したIC50の比で評価し、遺伝子導入細胞の細胞生存率はGFP発現細胞の細胞数の比で評価した。(4)細胞周期はFlow cytometryで評価し、アポトーシスはWestern blotで評価した。(5)ロバスタチン1 μ Mを処理したシスプラチン耐性細胞株の遺伝子プロファイルを各々親株と比較した。(6)遺伝子の転写活性はPromoter luciferase assayで評価した。(7)遺伝子を細胞に導入するため、pEBベクター(恒常発現型)またはTet-Onベクター(誘導発現型)に遺伝子を挿入し、Hela細胞またはCOS1細胞に導入した。(8)シスプラチンとロバスタチンの併用効果をCalcuSyn softwareで評価した。

4. 研究成果

(1)HCP4細胞とPCDP5細胞は各々親株と比べ、ロバスタチンに対して感受性であった(IC50比で13.48倍と7.11倍)。(2)ロバスタチン処理によりHCP4細胞のSub-G1は増加し、アポトーシスが誘導された。(3)Hela細胞に対するHCP4細胞のHMGCS1とHMGCRの発現比は、Real-time PCRで3.8倍と2.9倍、Western blotで2.6倍と2.9倍であったが、HMGCS1の過剰発現やメバロン酸の過剰投与ではシスプラチンに対するIC50に差はなかった。(4)cDNA microarray

解析から、ロバスタチン処理により HCP4 細胞と PCDP5 細胞で共に発現が 2 倍以上になった遺伝子として KLF2、KLF6 および RHOB 遺伝子を同定した。(5) KLF2、KLF6 および RHOB 遺伝子の mRNA 量および転写活性はロバスタチンを HCP4 細胞に投与すると早期に増加した。(6) KLF2、KLF6 および RHOB 遺伝子の発現増加により細胞増殖はいずれも抑制され、KLF2 と RHOB においては Sub-G1 が増加した。(7) シスプラチンとロバスタチンの併用により、HeLa 細胞と PC3 細胞では相乗作用を示し、HCP4 細胞と PCDP5 細胞では拮抗作用を示した。

メバロン酸経路関連遺伝子や代謝産物とがん細胞の生存との関連を指摘する報告がみられるが、HMGCS1 の過剰発現やメバロン酸の過剰投与によるシスプラチン感受性への影響が見られなかったことから、シスプラチン耐性細胞に対するロバスタチンの感受性増強には、メバロン酸経路が関与していない可能性が示唆された。一方、KLF2、KLF6 および RHOB はいずれも、がん細胞の細胞増殖抑制やアポトーシス誘導に働く腫瘍抑制遺伝子として知られており、ロバスタチンがこれらの腫瘍抑制遺伝子の発現を増加させ、アポトーシスを誘導することで、シスプラチン耐性細胞の生存率を優先的に低下させた可能性が示唆された。

シスプラチン耐性を獲得した再発がん患者において、ロバスタチンが単剤でがんを克服する可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Chiho Koi, Hiroto Izumi, Tomoko Kurita, Thuy Thi Nguyen, Midori Murakami, Yukiko Yoshiura, Toru Hachisuga, Yasuo Morimoto	4. 巻 8
2. 論文標題 Lovastatin induced Kruppel like factor 2 (KLF2), Kruppel like factor 6 (KLF6) and Ras homolog family member B (RHOB) genes and preferentially led viability reduction of Cisplatin-resistant cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 106429-106442
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Tomoko Kurita, Chiho Koi, Taeko Ueda, Seiji Kagami, Toshinori Kawagoe, Toru Hachisuga
2. 発表標題 Lovastatin induced KLF2, KLF6 and RHOB genes and preferentially led to viability reduction of cisplatin-resistant cells
3. 学会等名 第70回 日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 厚井知穂 和泉弘人 栗田智子 植田多恵子 鏡誠治 川越俊典 松浦祐介 蜂須賀徹
2. 発表標題 メバロン酸代謝経路関連遺伝子とCDDP感受性との関連に関する検討
3. 学会等名 第69回 日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 厚井知穂 和泉弘人 栗田智子 植田多恵子 鏡誠治 川越俊典 松浦祐介 蜂須賀徹
2. 発表標題 スタチンは腫瘍抑制遺伝子を誘導しシスプラチン耐性細胞を感受性にする
3. 学会等名 第59回日本婦人科腫瘍学会学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 厚井知穂 和泉弘人 栗田智子 植田多恵子 鏡誠治 川越俊典 松浦祐介 蜂須賀徹
2. 発表標題 スタチンは腫瘍抑制遺伝子を誘導しシスプラチン耐性細胞を感受性にする
3. 学会等名 第55回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 村上緑 栗田智子 厚井知穂 和泉弘人 吉野潔
2. 発表標題 Indification of genes involved in cisplatin resistance and elucidate the mechanism
3. 学会等名 第57回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上緑 栗田智子 厚井知穂 和泉弘人 吉野潔
2. 発表標題 Identification of genes involved in cisplatin resistance and attempts to overcome its resistance
3. 学会等名 第71回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 和泉弘人 栗田智子 吉野潔 蜂須賀徹 森本泰夫
2. 発表標題 UBE2L6の発現とシスプラチン耐性
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----