

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：32511

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06755

研究課題名（和文）抗腫瘍低分子STAT3阻害剤の弱点の克服に向けた組換えビフィズス菌DDSの応用

研究課題名（英文）The application of the drug delivery system by recombinant bifidobacteria to overcome the weak point of the low-molecule anticancer STAT3 inhibitors.

研究代表者

平 裕一郎（TAIRA, Yuichiro）

帝京平成大学・薬学部・教授

研究者番号：20581953

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：転写因子であるSTAT3は、現在複数の阻害剤が臨床開発中で、完全奏功した例もみられるなど抗がん剤の標的分子として脚光を浴びている。

本研究では膜透過型抗STAT3抗体を分泌する組換えビフィズス菌を構築した。本組換えビフィズス菌は種々の癌細胞に対し、*in vitro*および*in vivo*で強い抗腫瘍効果を発揮したことから、本組換えビフィズス菌はDDSを用いたSTAT3阻害抗腫瘍薬の候補の1つとなり得ると考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

転写因子であるSTAT3は現在複数の阻害剤が臨床開発中で完全奏功した例もみられるなど抗がん剤の標的分子として脚光を浴びているが、重篤な副作用がSTAT3阻害剤の臨床試験中に発現しており、これを回避するためには、DDSによる癌細胞への薬剤のターゲティングが必須であると考えられる。本研究では膜透過型抗STAT3抗体を分泌する組換えビフィズス菌は種々の癌細胞に対し強い抗腫瘍効果を発揮していることから、本組換えビフィズス菌はDDSを用いたSTAT3阻害抗腫瘍薬の候補の1つとなり得ると考えている。今後は本組換えビフィズス菌の実用化に向けた研究を進めていきたい。

研究成果の概要（英文）：In this study, we generated recombinant bifidobacteria that secrete a membrane-permeable anti-STAT3 antibody protein. This recombinant bifidobacteria showed strong antitumor effects *in vitro* and *in vivo* against various cancer cells. Therefore, we believe that this recombinant bifidobacteria may be one of the potential antitumor agents with DDS that inhibits STAT3 activity.

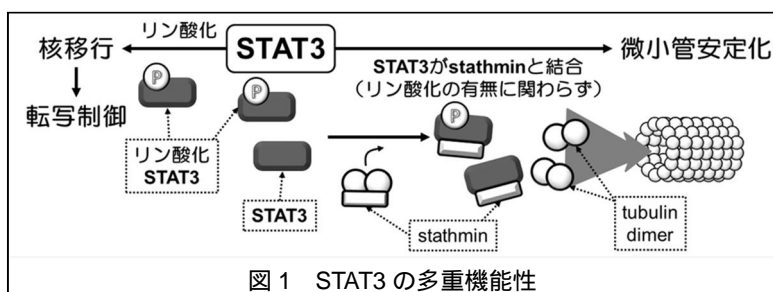
研究分野：薬物送達学

キーワード：抗腫瘍効果 ビフィズス菌 DDS

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本研究で標的とする STAT family は、非活性化状態では細胞質に存在し、EGF などのリガンド刺激により核内へ移行し、転写因子として働く(図 1)。中でも本研究で着目した STAT3 は、多様な組織に由来



する腫瘍で恒常的に活性化しており、腫瘍の発生と悪性化に関与する因子として注目されている(Cancers, 2014)。現在複数の STAT3 阻害薬が抗癌剤として臨床開発中である(J Clin Oncol, 2012)。その中で、リン酸化 STAT3 高発現の非小細胞肺癌で完全奏功した例がみられたこと(Ann. Oncol., 2015) は、抗腫瘍薬の標的として STAT3 は有望であることを示唆するデータである。

しかしながら、全ての STAT3 阻害剤で重篤な嘔吐や下痢、好中球減少という有害事象が観察されている(Ann. Oncol., 2015、Cancer Chemothera. Pharmacol., 2014、大日本住友製薬 IR ニュース 2016)。この原因として、STAT3 は転写因子としてだけでなく、細胞質では微小管を脱重合させるスタスミンと結合して微小管を安定化する(Science, 2006、J. Biol. Chem., 2009) ことが新たに見いだされており、このため全身的な STAT3 活性の阻害は正常細胞に与える影響が大きいことが予想される。

これらのことから、STAT3 を標的とした抗がん剤の開発の課題として

(1) DDSを用いて腫瘍部位でのみに薬剤を集中させることで副作用を回避すること

(2) 低分子化合物であるSTAT3のチロシンリン酸化阻害剤では困難であるSTAT3の微小管安定化活性を阻害すること

以上2点の課題を達成すれば、STAT3 を標的とした抗腫瘍薬開発が成功する可能性が格段に上昇すると考えられる。

ピフィズス菌は、静脈内に投与した場合、非常に高い選択性をもって腫瘍でのみ増殖する(Cancer Res. 1980)。この理由としては、ピフィズス菌は酸素が存在すると生育できない偏性嫌気性菌であり、腫瘍組織の中心部には嫌气的環境(低酸素領域)を有するためと考えられる。ピフィズス菌は腫瘍組織に対する薬剤送達担体として、大変有用な手段だと考えられ、また殺細胞活性をもつポリペプチドを分泌させることが可能であれば、副作用の少ない DDS(ドラッグデリバリーシステム)として新たながん治療法として確立できる可能性がある。

2. 研究の目的

本研究の目的は、STAT3 の活性を阻害する抗体(膜透過ペプチドを付加した STAT3 抗体)を高レベルで分泌発現可能な組換えピフィズス菌を作出し、上記の(1)(2)の課題を達成した新たな STAT3 を標的とする抗腫瘍薬として開発することである。

3. 研究の方法

(1) 細胞透過型抗 STAT3 抗体蛋白質発現・分泌ピフィズス菌の作出及び *in vitro* レベルの解析

STAT3 を抗原とした抗体を得て、これに膜透過型ペプチドを付加した融合蛋白質を発現・分泌する分泌ピフィズス菌を作出した。

そして、本抗体が STAT3 発現がん細胞に対して増殖阻害活性や STAT3 のリン酸化の抑制する結果が得られた(具体的なデータは後日再提出の際に公表する)。

(2) 膜透過型抗 STAT3 抗体発現・分泌ピフィズス菌の *in vivo* レベルの解析

in vitro で解析した STAT3 発現がん細胞を用いて、*in vivo* で膜透過型抗 STAT3 抗体発現・分泌ピフィズス菌が抗腫瘍効果を発揮するか検討した。マウスに本細胞を移植し、組換えピフィズス菌を静脈内投与しその抗腫瘍効果を検討した。膜透過型抗 STAT3 抗体発現・分泌ピフィズス菌は *in vivo* で抗腫瘍効果を発揮し、本細胞の増殖を抑制した（具体的なデータは後日再提出の際に公表する）。

4. 研究成果

転写因子である STAT3 は、現在複数の阻害剤が臨床開発中で、完全奏功した例もみられるなど抗がん剤の標的分子として脚光を浴びている。一方で新たに STAT3 の微小管安定化作用が見いだされ（Science, 2006、J. Biol. Chem., 2009）全身的な STAT3 活性の阻害は正常細胞に与える影響が大きいと考えられた。実際、重篤な副作用が STAT3 阻害剤の臨床試験中に発現しており、これを回避するためには、DDS による癌細胞への薬剤のターゲティングが必須であると考えられる。

本研究では膜透過型抗 STAT3 抗体を分泌する組換えピフィズス菌は STAT3 発現癌細胞に対し強い抗腫瘍効果を発揮していることから、本組換えピフィズス菌は DDS を用いた STAT3 阻害抗腫瘍薬の候補の 1 つとなり得ると考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

| | |
|--|-------------------------------|
| 1. 著者名 Shimizu Yoshimi, Isoda Katsuhiko, Taira Yuichiro, Taira Ikuko, Kondoh Masuo, Ishida Isao | 4. 巻 887 |
| 2. 論文標題 Anti-tumor effect of a recombinant Bifidobacterium strain secreting a claudin-targeting molecule in a mouse breast cancer model | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 European Journal of Pharmacology | 6. 最初と最後の頁 173596 ~ 173596 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ejphar.2020.173596 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Taira Yuichiro, Taira Ikuko, Nisikawa Takeshi, Ishida Isao | 4. 巻 138 |
| 2. 論文標題 Development of an Anticancer Therapy Using Recombinant <i>Bifidobacterium</i> as a New Drug Delivery System (DDS) | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 YAKUGAKU ZASSHI | 6. 最初と最後の頁 923 ~ 930 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/yakushi.17-00220-4 | 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 - |

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Utoguchi N, Taira Y | 4. 巻 138 |
| 2. 論文標題 Forefront of Cancer Targeting Therapy | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Yakugaku zasshi | 6. 最初と最後の頁 901-902 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/yakushi.17-00220-F | 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 - |

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Ikuko Taira, Yuichiro Taira, Masakazu Kato, Yoshimi Shimizu, Katsuhiko Isoda, Hiromi Saitou and Isao Ishida | 4. 巻 12 |
| 2. 論文標題 Reviving Previous Therapeutics by Recombinant Anaerobic Bifidobacteria | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Biomed J Sci Tech Res | 6. 最初と最後の頁 165-168 |
| 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 - |

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Shimizu Y, Mashima-Nemoto T, Hazawa M, Taira Y, Taira I, Ishida I, Isoda K | 4. 巻 73 |
| 2. 論文標題 The hepatoprotective effect of lycopene on Con A-induced liver injury in mice. | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Die Pharmazie | 6. 最初と最後の頁 393-395 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1691/ph.2018.8437 | 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11件(うち招待講演 1件/うち国際学会 0件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 清水 芳実、中山 未希、篠原 華穂、磯田 勝広、平 裕一郎、平 郁子、斎藤 浩美、石田 功 |
| 2. 発表標題 偏性嫌気性細菌を用いたトリプルネガティブ乳がん治療薬の開発 |
| 3. 学会等名 日本薬学会 第141年会(広島)オンライン開催 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 迫田凌太、平裕一郎、平郁子、清水芳実、磯田勝広、斎藤浩美、石田功 |
| 2. 発表標題 EPR効果増強剤がピフィズス菌の抗腫瘍効果に与える影響 |
| 3. 学会等名 第63回 日本薬学会 関東支部大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 木下 結賀、佐藤 梨花子、平 裕一郎、平 郁子、清水 芳実、石田 功、磯田 勝広 |
| 2. 発表標題 銀ナノワイヤーの薬物相互作用に関する検討 |
| 3. 学会等名 日本薬学会 140年会(京都) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 清水 芳実、島岡 真理亜、藤岡 野々花、磯田 勝広、平 裕一郎、平 郁子、斎藤浩美、石田 功 |
| 2. 発表標題 組換えピフィズス菌を用いた乳がん治療薬開発に向けた検討 |
| 3. 学会等名 日本薬学会 140年会（京都） |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 加藤雅和、平裕一郎、平郁子、川口愛夏、矢部貴美恵、大野華世、小倉祐太、後藤凧、清水芳実、磯田勝広、斎藤浩美、石田功 |
| 2. 発表標題 EPR効果増強剤によるピフィズス菌腫瘍内集積数の増大 |
| 3. 学会等名 日本薬学会第139年会（千葉）（2019年3月21日、幕張メッセ） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 越後谷美幸、磯田勝広、田中杏樹、藤盛千咲、木下結賀、佐藤梨花子、平裕一郎、平郁子、清水芳実、石田功 |
| 2. 発表標題 金ナノ粒子の薬物相互作用による傷害性の検討 |
| 3. 学会等名 日本薬学会第139年会（千葉）（2019年3月21日、幕張メッセ） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 藤盛千咲、磯田勝広、越後谷美幸、平裕一郎、平郁子、石田功 |
| 2. 発表標題 HepG2 細胞とマウスに対する金ナノ粒子の安全性の検討 |
| 3. 学会等名 第62回日本薬学会 関東支部大会（2018年9月15日、帝京平成大学薬学部） |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 田中杏樹、磯田勝広、平裕一郎、平郁子、石田功 |
| 2. 発表標題 金ナノ粒子は薬物相互作用により急性腎傷害を誘導する |
| 3. 学会等名 第62回日本薬学会 関東支部大会 (2018年9月15日、帝京平成大学薬学部) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 西川毅、藤園友里、小出圭悟、平郁子、平裕一郎、石田功 |
| 2. 発表標題 がん細胞死誘導活性をもつTRAIL-R1 を標的とした新規3 価VHH 抗体分泌ピフィズス菌の安全性 |
| 3. 学会等名 第62回日本薬学会 関東支部大会 (2018年9月15日、帝京平成大学薬学部) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 榎本健太、清水芳実、山内友梨奈、平裕一郎、平郁子、磯田勝広、斎藤浩美、石田功 |
| 2. 発表標題 CL4指向性抗腫瘍蛋白質を分泌する組換えピフィズス菌の作製 |
| 3. 学会等名 第62回日本薬学会 関東支部大会 (2018年9月15日、帝京平成大学薬学部) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 平 裕一郎 |
| 2. 発表標題 遺伝子組換えピフィズス菌をDDS に用いたがん治療薬の開発 |
| 3. 学会等名 第62回日本薬学会 関東支部大会 (2018.9.15、帝京平成大学薬学部) 大会企画シンポジウム「DDS 研究からの創薬イノベーション」(招待講演) |
| 4. 発表年 2018年 |

〔図書〕 計2件

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 清水芳実 平郁子 平裕一郎 石田功 神谷恵理子 辻丸光一郎 矢野嘉宏 秋葉恵一郎 角淵由英 篠田淳郎 永次史 南野研人 喜多村徳昭 三橋規樹 北出幸夫 駒谷剛志 内藤瑞 小原有弘 宮田完二郎 小此木孝仁 青木一晃 他 | 4. 発行年 2019年 |
| 2. 出版社 技術情報協会 | 5. 総ページ数 676 |
| 3. 書名 医薬品モダリティの特許戦略と技術開発動向 | |

| | |
|---|-----------------|
| 1. 著者名 平裕一郎 平郁子 石田功 平田裕一 土屋政幸 眞鍋史乃 大政健史 井上貴雄 濱田芳男 草野好司 米満吉和 朱亜峰 児玉耕太 仙石慎太郎 田上辰秋 尾関哲也 山本昌 武田真莉子 山口直也 牧野智宏 | 4. 発行年 2018年 |
| 2. 出版社 シーエムシー出版 | 5. 総ページ数 266 |
| 3. 書名 バイオ医薬品の開発と市場 2019 | |

〔産業財産権〕

〔その他〕

| |
|---|
| 帝京平成大学薬学部 ユニット紹介 生体防御教育研究部門 抗体・DDSユニット https://pharm.thu.ac.jp/research/unit/dds.html |
|---|

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 |
|-------|---|----------------------------------|----|
| 研究分担者 | 石田 功 (ISHIDA Isao) (00415556) | 帝京平成大学・薬学部・教授 (32511) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 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 |
|-------|---|---|----|
| 研究分担者 | 平 郁子 (TAIRA Ikuko) (60453693) | 帝京平成大学・薬学部・准教授 (32511) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |