

令和 3 年 4 月 28 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09159

研究課題名(和文) 抗サバイピン光抗体療法と重粒子免疫療法による抵抗性前立腺癌治療の基礎的研究

研究課題名(英文) Basic research on the treatment of resistant prostate cancer by anti-Survivin photoimmunotherapy and heavy-ion immunotherapy

研究代表者

小池 秀和 (Koike, Hidekazu)

群馬大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90420091

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)：去勢抵抗性前立腺癌細胞株22Rv1を親細胞として、新規薬剤カバジタキセルに抵抗性前立腺癌細胞(22Rv1-CR)を樹立した。その細胞では、アポトーシス抑制因子SurvivinのmRNAが高発現していた。細胞及び動物実験では、22Rv1-CRにYM155(Survivin mRNAの発現を抑制する小分子)を投与すると、カバジタキセルの抗腫瘍効果が回復した。細胞実験にて、22Rv1-CRに、重粒子照射を行ったところ、細胞増殖抑制効果が認められた。また、光吸収体を結合させた抗Survivin抗体を22Rv1-CRに付着させ、近赤外線を照射したところ、細胞増殖抑制効果が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

泌尿器科疾患において近年悪性腫瘍の頻度が著しく増加している中、新規癌薬物療法の進歩には目覚ましいものがある。しかし、同時に治療に抵抗性となった癌も増加し、治療抵抗性癌に対する治療開発が急務である。今回、癌治療の抵抗性に関与するSurvivin(アポトーシス抑制因子)に着目し、治療抵抗性前立腺癌の新規治療の開発を進めた。Survivin抑制小分子が、抗癌剤治療の効果を回復させることを見出した。また、重粒子線治療、さらに、光吸収体結合Survivin抗体を利用した光抗体療法が、治療抵抗性前立腺癌に効果があることも見出した。これらの事は、治療抵抗性前立腺癌に対する治療の一助になりえると思われる。

研究成果の概要(英文)：Cabazitaxel resistance was induced in the castration-resistant prostate cancer cell line, 22Rv1-CR. In the cells, Survivin (apoptosis inhibitor) mRNA was highly expressed. YM155 (a novel small-molecule inhibitor of survivin) enhanced the anticancer effects of cabazitaxel on 22Rv1-CR in vitro and in vivo. Heavy ion irradiation inhibited 22Rv1-CR cell proliferation in vitro. In addition, The cell proliferation was inhibited by near-infrared photoimmunotherapy, using the anti-Survivin monoclonal antibody, conjugated to the photoabsorber.

研究分野：泌尿器科

キーワード：前立腺癌 サバイピン 薬剤耐性 重粒子線治療 光抗体療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

泌尿器科疾患において近年前立腺癌をはじめとした悪性腫瘍の頻度が著しく増加している中、治療に抵抗性となった癌も増え、治療抵抗性癌の治療開発が急務である。

我々はこれまで腫瘍細胞で高発現しているアポトーシス抑制タンパクの一つである Survivin (サバイビン) をターゲットとし検討してきた。Survivin の抑制により腫瘍の増殖が抑制されることや、既存治療に抵抗性となった場合 Survivin の抑制によりその既存治療の効果が回復することなどを見い出してきた。しかし、新規抗男性ホルモン剤、新規抗癌剤などに治療抵抗性となった前立腺癌においては、いまだ動物実験レベルでの検討も少なく、抗 Survivin 治療の臨床応用への発展が期待されるところである。

2. 研究の目的

従来の治療に抵抗性前立腺癌に対する新たなアプローチとして、

抗 Survivin 抗体 + フリーラジカル発生体と近赤外線を利用した光抗体療法を開発・発展させる。

重粒子線により抗腫瘍免疫が誘導され、照射範囲の外にある他の腫瘍も退縮する現象(アブスコパル効果)を利用した重粒子免疫療法を発展させる。

治療抵抗性前立腺癌において、Survivin をターゲットとした今までの検討に、新たに光抗体療法、および重粒子免疫療法を組み合わせる研究を開発、融合発展させることで、従来の治療に抵抗を示してきた前立腺癌の克服の一助にする。

3. 研究の方法

< 標準的抗腫瘍剤に耐性前立腺癌細胞の作製 >

治療の最終段階で用いられることが多いカバジタキセルの存在下で去勢抵抗性前立腺癌細胞 22Rv1 を長期培養し、カバジタキセル耐性前立腺癌細胞を作成し、検討に用いる。

カバジタキセル耐性前立腺癌細胞における Survivin 発現量を調べたのち、Survivin 抑制によるカバジタキセルの抗腫瘍効果の回復を確認する。

抗 Survivin 抗体に光吸収体 IR700 を結合させ、癌細胞に結合したその複合抗体に近赤外線をあてることで、癌細胞内でフリーラジカルを発生させて癌細胞を死滅させる。

重粒子線照射による抗腫瘍効果を検討する。

最終的に、 の併用効果まで検討する。

4. 研究成果

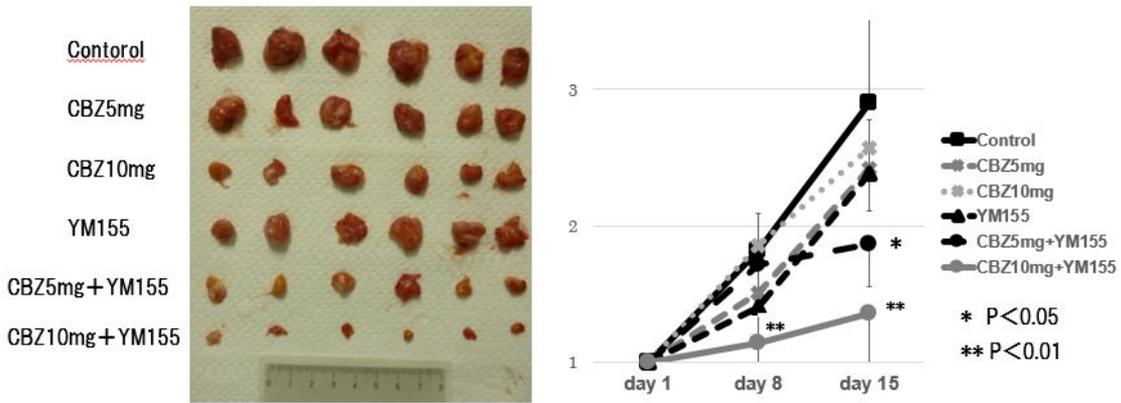
作成したカバジタキセル耐性前立腺癌 (22Rv1-CR) では、survivin mRNA 発現レベルが、親細胞である 22Rv1 よりも有意に高かった。従って、カバジタキセル耐性前立腺癌細胞における survivin を標的とする治療は、カバジタキセル耐性機序を阻害することにより、カバジタキセルの治療効果を高める可能性があるかと想定した。そこで、survivin の分子阻害剤である YM155 を用いて検討した。

In vitro では、YM155 は用量依存的に survivin mRNA 発現を有意に阻害した。YM155 単独では抗腫瘍効果は限定的であった。一方、カバジタキセルに YM155 を併用すると、カバジタキセルの 22Rv1-CR に対する抗腫瘍効果が認められるようになった。

更に、ヌードマウス腫瘍異種移植モデルを使用した。22Rv1-CR 細胞を皮下移植し、腫瘍を発生させ、カバジタキセルまたは YM155 または PBS を腹腔内注射により投与し、腫瘍体積、survivin mRNA 発現、および組織免疫染色について分析した。この結果、YM155 およびカバジタキセル単独では腫瘍増殖は抑制されなかったが、YM155 とカバジタキセルとの併用療法では腫瘍増殖が有意に抑制された (図 1)。治療後に組織腫瘍細胞から mRNA を抽出したところ、YM155 は、22Rv1-CR 腫瘍における survivin 遺伝子発現を低下させる傾向が見られた。YM155 とカバジタキセルを併用した治療は、22Rv1-CR 腫瘍における survivin 遺伝子発現を有意に低下させた。免疫組織学的評価ではカバジタキセルと YM155 併用療法群では、対照群に比べて免疫染色程度が減弱されているものもあった。

結論として、YM155 による survivin 抑制が、カバジタキセルの抗腫瘍効果を有意に高めることを示した。(Anticancer Res. 2020 Sep;40(9):5091-5095.)

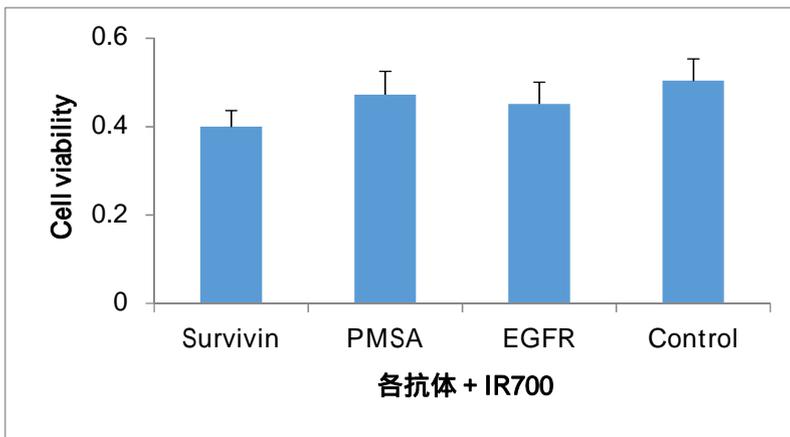
図 1



カバジタキセル耐性前立腺癌細胞に対する、抗 Survivin 抗体と IR700 の複合体と近赤外線を利用した光抗体療法の効果

In vitro において、光抗体療法は 22Rv1-CR の増殖を有意に抑制した(図 2)。(途中結果の一部)

図 2 MTS アッセイ 近赤外線 16J 照射



カバジタキセル耐性前立腺癌細胞に対する重粒子線の効果 (結果の一部)(途中結果の一部)

In vitro において、重粒子線は 22Rv1-CR の増殖を有意に抑制した(図 3-1)。

また、重粒子線は 22Rv1-CR における survivin mRNA の発現量を有意に低下させた(図 3-2)。

図 3-1 MTS アッセイ 照射後 36 時間後

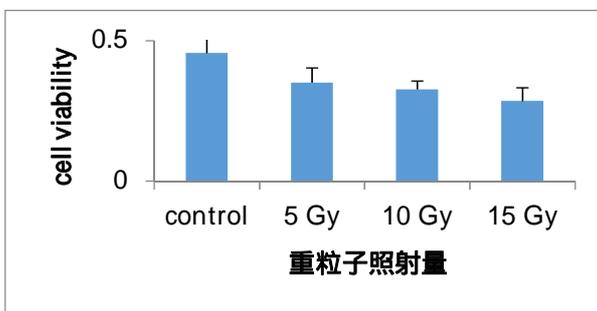
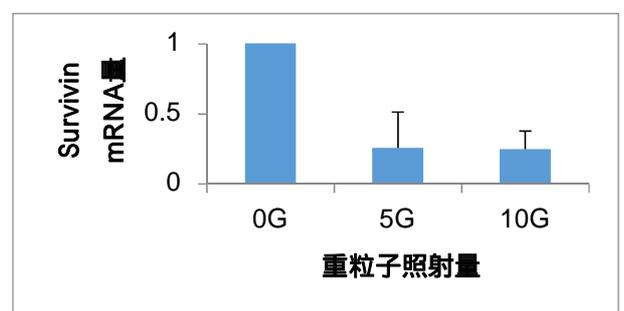


図 3-2 real time PCR 照射後 36 時間



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 0件）

1. 著者名 MIYAO TAKESHI、KOIKE HIDEKAZU、SEKINE YOSHITAKA、OHTSU AKIRA、OKA DAISUKE、SUZUKI KAZUHIRO	4. 巻 40
2. 論文標題 YM155 Reverses Cabazitaxel Resistance in Castration-resistant Prostate Cancer by Reducing Survivin Expression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 5091 ~ 5095
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancerres.14512	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Takeshi Miyao, Hidekazu Koike, 他
2. 発表標題 Decreasing Survivin by YM155 reverses Cabazitaxel resistance in prostate cancer
3. 学会等名 American Urological Association 2020 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮尾武士、小池秀和、他
2. 発表標題 カバジタキセル抵抗性前立腺癌細胞株に対するSurvivin抑制による効果
3. 学会等名 第107回日本泌尿器科学会総会
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
連携研究者	鈴木 和浩 (Suzuki Kazuhiro) (80312891)	群馬大学・医学(系)研究科(研究院)・教授 (12301)	

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
連携研究者	柴田 康博 (Shibata Yasuhiro) (90344936)	群馬大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授 (12301)	
連携研究者	関根 芳岳 (Sekine Yoshitaka) (00516370)	群馬大学・医学(系)研究科(研究院)・講師 (12301)	

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