

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17400

研究課題名（和文）Connectivity Map解析に基づいた新しい膵癌予防薬の開発

研究課題名（英文）Development of chemopreventive agent for pancreatic cancer using Connectivity Map analysis

研究代表者

藤野 泰輝（FUJINO, Yasuteru）

徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・助教

研究者番号：60747442

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：ヒトIPMN及び膵癌組織を用いてマイクロアレイ解析を行い、正常組織と比べることにより、IPMNや膵癌に特異的な遺伝子発現signatureを作成した。次いで、Connectivity Map解析を行い、既存薬剤の中からこれらに対する予防候補薬を抽出した。また、ヒトIPMN及び膵癌組織よりオルガノイドを樹立し、これらに有効な予防候補薬を絞り込んだ。さらに、発癌モデルラットに予防候補薬Aを投与し、20週後に屠殺して病変を評価したところ、投与群では優位に病変が抑制された。発癌モデルマウスを用いた実験でも同様の結果が得られた。今後は、臨床応用に向けた臨床試験を検討している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでに、既存の薬剤を網羅的に解析して、IPMNや膵癌に対する予防薬を探索した研究は無く、本研究が初めてである。本研究では、IPMNや膵癌に対する予防候補薬を抽出し、in vitroで有効な薬剤を絞り込み、in vivoで有効性の高い薬剤を絞り込むことができた。また、既存の薬剤を対象にしているため、速やかに臨床試験に進むことができるという利点がある。また、本研究はdrug repositioningの観点からも重要性が高い。

研究成果の概要（英文）：We performed microarray analysis of human IPMN and Pancreatic cancer tissues as well as of normal pancreatic tissue, and determined gene expression signature in each lesion. Applying the gene signature data for connectivity map analysis which includes the data of all existing drugs, we chose candidate preventive drugs, which are expected to normalize gene expression profile of those lesions. We then established organoid from human IPMN and pancreatic cancer tissues respectively, and screened candidate drugs to evaluate inhibitory effects of candidate preventive drugs. The most effective drugs for tumor have been chosen. When some of the drugs were administered to rat chemical carcinogenesis model, numbers of tumors were significantly inhibited. Currently, we are planning a clinical trial for these drugs to evaluate inhibitory effect on IPMN or pancreatic cancer in human.

研究分野：消化器内科学

キーワード：膵癌予防薬 IPMN 癌予防 薬理学

1. 研究開始当初の背景

膵癌の死亡率は他臓器癌と比較し圧倒的に高く、有効な予防法の確立が求められている。膵癌の発生機序として、IPMN など膵嚢胞性腫瘍から発癌する経路が知られている。よって、IPMN の発生を予防もしくは進行を抑制することにより発癌を予防し得ることが考えられるが、未だ有効な予防薬は開発されていない。予防薬の開発が進んでいない理由として、大きく以下の 2 点が挙げられる。第一に、従来の予防候補薬は過去の疫学データから偶然に拾い上げたものであり、網羅的な解析が行われていない、あるいは網羅的に解析する方法が無いことである。例えば、アスピリンや非ステロイド性消炎鎮痛剤(NSAIDs)の服用者では、疫学的に偶然膵癌の発生率が低いことが報告されているが、相反する報告も少なく無い。第二に、これまで予防候補薬の効果を *in vitro* での確に調べる方法が無かったことである。たとえば、これまで膵前癌病変である IPMN 細胞を培養することができなかつたため、アスピリンや NSAIDs の効果を *in vitro* で調べることはできなかった。培養癌細胞株(cell line)は多数の遺伝子異常を認め、前癌病変の細胞や初期の癌細胞とはかけ離れており、薬剤の効果を調べることはできない。これらのことから、多数の薬剤の中から IPMN や初期の癌に有効な化合物を網羅的に解析し、得られた候補薬剤の抗腫瘍効果を *in vitro* で調べる(スクリーニング)ことができれば、有効性の高い予防候補薬を効率的に見出すことができる。研究代表者は、これまで種々の培養細胞を用いて既存の約 1300 種類の薬剤のヒト全ゲノム遺伝子発現に及ぼす効果を調べた Connectivity Map を利用し、各疾患の遺伝子発現プロファイル(シグネチャー)から疾患に有効な薬剤を抽出する研究を行ってきた。本研究では、まず内視鏡下に生検採取もしくは手術により摘出した膵臓前癌病変(IPMN)の遺伝子発現プロファイルを作成し、Connectivity Map を用いて前癌病変に有効な候補予防薬剤を抽出する。次いで、IPMN、膵癌、正常膵臓組織の生検もしくは手術により採取した組織よりオルガノイド培養を行い、予防候補薬の効果を *in vitro* で検証(スクリーニング)するとともに、オルガノイドの同所移植モデルを用いて *in vivo* の有効性を確認する。さらに、膵臓化学発癌動物モデルや膵臓自然発癌モデルマウスを用いて膵臓腫瘍(癌)に対する予防効果を検証し、臨床試験に向けた新しい膵臓癌予防薬の研究を行う。

2. 研究の目的

本研究の目的は、膵臓前癌病変である IPMN や膵癌に抑制効果を有する予防候補薬を遺伝子発現プロファイルに基づいて Connectivity Map を用いて網羅的に解析することである。これまでに、このような方法で予防候補薬を探索した研究は無く、本研究の意義は大きいと考える。また、IPMN や膵癌に対する予防候補薬の効果を *in vitro* でオルガノイド培養により検証(スクリーニング)した研究はこれまでに無く、きわめて独創的である。本研究では、Connectivity Map 解析により得られた候補薬剤の中に IPMN や膵癌にアポトーシスを誘導する化合物が少なからず含まれていることが期待される。Connectivity Map 解析に用いられる薬剤は、既に本邦で承認されている薬剤がほとんどであり、速やかに臨床試験に進める可能性が高い。また、このような既存の薬剤の再開発は、drug repositioning という観点からも重要性が高い。

3. 研究の方法

本研究では、まずヒト IPMN や膵癌の生検組織より RNA を抽出してマイクロアレイ解析を行い、得られた遺伝子発現プロファイルからそれぞれの疾患特異的 signature を作成する。次いで、約 1300 種類の既存の薬剤の培養細胞に対する遺伝子発現プロファイルより作成された Connectivity Map を用いて、IPMN 及び膵癌に対する予防候補薬剤を抽出する。得られた上位 100 個の予防候補薬から、ヒトの膵癌予防薬として実用可能な化合物を 30~50 種類選択する。次に、ヒト IPMN、膵癌、正常膵臓組織のオルガノイドを培養し、これらの予防候補薬剤の抗腫瘍効果を *in vitro* で検証(スクリーニング)して IPMN や膵癌のみに有効な薬剤を選択する。また、オルガノイドの同所移植モデル、膵癌の化学発癌動物モデル及び自然発癌モデル(膵特異的に変異 K-ras および変異 p53 を発現させた遺伝子改変マウス、KPC マウス)を用いてその有効性を確認する。さらに、各種オルガノイドや動物モデルを用いて、これらの予防候補薬の抗腫瘍活性の機序を明らかにし、臨床試験に向けた基盤研究を行う。

4. 研究成果

ヒト IPMN 及び膵癌組織を用いてマイクロアレイ解析を行い、正常組織と比べることにより、IPMN や膵癌に特異的な遺伝子発現 signature を作成した。次いで、Connectivity Map 解析を行い、既存薬剤の中からこれらに対する予防候補薬を抽出した。また、ヒト IPMN 及び膵癌組織よりオルガノイドを樹立し（図 1）これらに有効な予防薬候補を絞り込んだ。さらに、発癌モデルラットに予防候補薬 A を投与し、20 週後に屠殺して病変を評価したところ、投与群では優位に病変が抑制された。発癌モデルマウスを用いた実験でも同様の結果が得られた。今後は、臨床応用に向けた臨床試験を検討している（図 2）。

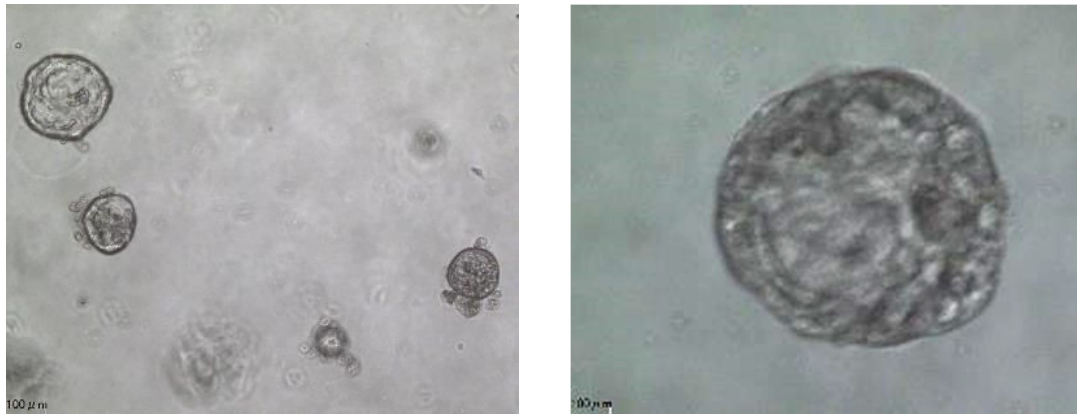


図 1. 内視鏡下生検にて樹立したオルガノイド(左：中拡大、右：強拡大)

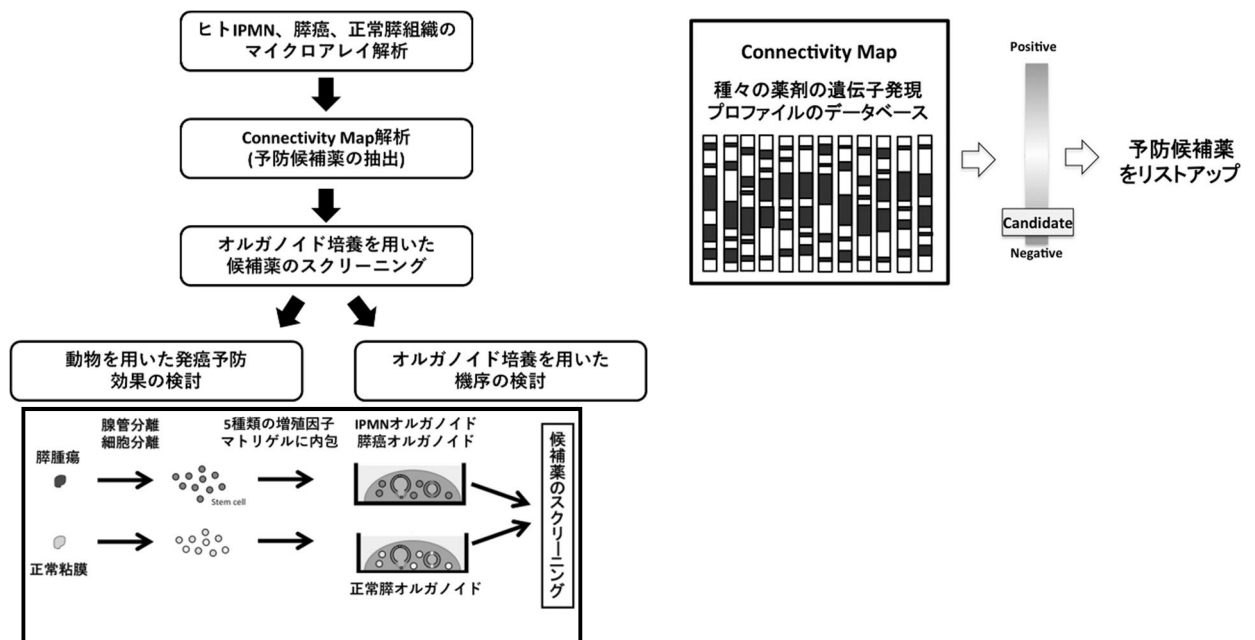


図 2. 本研究の概要図

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤野泰輝
2. 発表標題 <合同シンポジウム> 膵癌に対するがんゲノム医療 - 次世代シーケンサーを用いたPrecision Medicine - .
3. 学会等名 第113回日本消化器病学会四国支部例会, 第124回日本消化器内視鏡学会四国支部例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤野泰輝
2. 発表標題 消化器癌に対するがんゲノム医療について
3. 学会等名 日本消化器病学会四国支部第38回教育講演会
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------