

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：32651

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2020

課題番号：18H06170・19K21279

研究課題名（和文）GPR15に着目した難治性消化器癌に対する新規治療法の開発

研究課題名（英文）The translational research for the significance of GPR15 in gastrointestinal cancer

研究代表者

古川 賢英（Furukawa, Kenei）

東京慈恵会医科大学・医学部・助教

研究者番号：80624973

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,160,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では各種の細胞株におけるGPR15の発現とrTMによる抗腫瘍効果についての解析を行った。GPR15の発現量は癌腫によって異なり、その発現量の違いからrTMの抗腫瘍効果の出現状況に差を認めた。また、rTMによる直接的な抗腫瘍効果とGPR15の関連性については、遺伝子ノックアウト細胞株を用いた解析を行う予定であり、今後の研究のと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は難治性の消化器癌に対する新たなバイオマーカーとなりうるGPR15に着目した研究である。消化器癌は化学療法への抵抗性を示した際には分子標的薬や免疫チェックポイント阻害剤による新たな治療法が必要となるが、本研究においては第四の治療標的を見出す研究である。そのため、本研究で得られる成果は癌治療の発展における重要な位置付けとなりうる。

研究成果の概要（英文）：In the present study, we analyzed the expression of GPR15 in various cell lines and the antitumor effect of rTM. the expression level of GPR15 was different among carcinomas, and the appearance of antitumor effect of rTM was different among carcinomas. The relationship between the direct antitumor effect of rTM and GPR15 is a subject for further study.

研究分野：肝胆膵外科

キーワード：消化器癌 抗がん剤抵抗性 トロンボモジュリン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

消化器癌は、外科的切除が唯一の根治的治療となりうるが、再発・進行癌は集学的治療を行っても予後は依然として不良であり、難治性消化器癌に対する新しい治療法の開発が望まれる。rTM は、抗凝固作用のほかにプロテイン C の活性化、HMGB1 の吸着などにより抗炎症作用も有する。我々は、この rTM の抗炎症作用に着目し、rTM が転写因子 NF- κ B を抑制することで膵癌に対する抗腫瘍効果を有することを報告してきた。また、rTM が GPR15 依存的に NF- κ B、ERK を抑制し、膵癌に対する抗腫瘍効果、GEM 増強効果を示すことを証明した。

The human protein atlas データベース(<http://www.proteinatlas.org>)によると、GPR15 は消化管、肝臓、胆嚢にも発現しており、膵癌と同様にこれら難治性消化器癌に対しても rTM の GPR15 を介した抗腫瘍効果が期待され、難治性消化器癌に対する新規治療法を開発するために本研究を立案した。

2. 研究の目的

本研究は、リコンビナントトロンボモジュリン(rTM)が G-protein coupled receptor 15(GPR15)を介した難治性消化器癌に対する抗腫瘍効果とそのメカニズムを解明し、難治性消化器癌の新しい治療法を開発することを目的とする。また、rTM は現在本邦において DIC 治療薬として広く使用されている薬剤なので、本研究をもとに速やかに rTM を難治性消化器癌の新規治療薬として臨床応用ができると見込まれる。

3. 研究の方法

本研究では、各種消化器癌細胞株の GPR15 の発現を PCR、Western blotting で評価し、各消化器癌における GPR15 高発現、低発現細胞株を同定し、以下の評価を行う。

< In Vitro >

- (1) rTM の GPR15 高発現細胞株に対する細胞増殖抑制効果、化学療法増強効果を MTT assay、Cell cycle analysis、Western blotting、Colony formation assay で評価し、NF- κ B、ERK を Western blotting で評価する
- (2) Crisper/cas9 system を用いて GPR15 KO 細胞株の樹立する。樹立した細胞株を用いて RNAsequence をおこない、GPR15 が細胞増殖においてどのような役割を有しているかを明らかにする。
- (3) 上記(2)にて樹立した細胞株に対し rTM 治療を行い、GPR15 の発現と rTM の関係性について明らかにする

< In vivo >

GPR15 高発現細胞株 (5×10^6) をヌードマウス (各群 5 頭) に皮下接種し、担癌マウスを作成する。腫瘍接種 5 週後に下記の治療を開始する

コントロール群：溶媒腹腔内投与

rTM 群：rTM (10mg/kg) 腹腔内投与

化学療法群：抗癌剤腹腔内投与

併用群：rTM 腹腔内投与 + 抗癌剤腹腔内投与

治療は週 1 回で腫瘍体積を経時的に測定する。治療開始 4 週後に全採血し犠牲死させ、摘出腫瘍、血液に関して以下の項目につき評価を行う

摘出腫瘍：腫瘍重量を測定し、免疫染色により Ki67、cleaved caspase-3、phospho-p65、phospho-ERK を評価する

血液：凝固系を評価する

そして各種消化器癌手術検体において GPR15 の発現を免疫染色で評価し、臨床応用に適している癌腫を同定する。

4. 研究成果

- (1) これまでに RT qPCR を用いて各種消化器癌細胞株の GPR15 の発現量の評価を行った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------