

令和 5 年 6 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：2020～2022

課題番号：20K09098

研究課題名(和文)革新的治療ツールを利用した癌微小管ダイナミクス制御による消化管癌の克服を目指して

研究課題名(英文) Aiming to overcome gastrointestinal cancer by controlling cancer microtubule dynamics using innovative therapeutic tools

研究代表者

宗田 真 (Sohda, Makoto)

群馬大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：70507326

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：食道がん細胞株や胃がん細胞株を用いた同様の検討を行いSTMN1 PIPが腫瘍の増殖抑制効果を示すことが確認できれば、タキサン系薬剤耐性の癌に対する新たな治療法になることを目指して検討を行ってきた。予備実験として肺がん細胞株である、A549、H810細胞株をヌードマウスの皮下に注射し腫瘍形成能を評価した。その結果を踏まえA549細胞株を用いて適切なSTMN1薬剤量を決定する目的で50 μ gと200 μ gの容量検討を行い、両方の容量で腫瘍縮小効果が誘導されたことを確認した。その後も薬剤投与のタイミングや容量の再設定を行ってきたが、十分なタイミング、容量設定ができず食道癌、胃癌の検討が進まなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究の目的は革新的治療ツールを利用した癌微小管ダイナミクス制御による消化管癌の克服を目指した検討であり、食道癌および胃癌に対する新規治療薬開発のためにSTMN1 PIPの治療効果から新たな治療法の開発を期待して検討を行ってきた。予備実験から本実験に進める検討を行ってきたが薬剤容量や投与のタイミング設定ができず予定期間内に結果を提示できなかったが、STMN1 PIP治療は有用な治療法となり得る可能性が強く示唆されることから今後も検討を進めていく予定であり学術的意義は大きいと考えている。

研究成果の概要(英文)：As basic research prior to examination of gastrointestinal cancer, examinations of lung cancer and pancreatic cancer were conducted. A cell line obtained by adding the STMN1 PIP compound to each cell line was subcutaneously injected into mice to evaluate the tumor suppressive effect. Based on the results of this basic research, we assumed that STMN1 PIP would similarly inhibit the growth of esophageal and gastric cancers, and conducted similar studies using esophageal and gastric cancer cell lines. If it can be confirmed that STMN1 PIP exhibits tumor growth inhibitory effects, we have been studying with the aim of becoming a new treatment method for taxane drug-resistant cancers. We have tried to reset the timing and dose of drug administration using several cell lines, but we were unable to set the timing and dose sufficiently, so we did not proceed to the planned investigation of esophageal cancer and gastric cancer.

研究分野：消化管外科

キーワード：微小管ダイナミクス STMN1 PIP化合物

1. 研究開始当初の背景

がん細胞にとっても微小管は細胞生存に重要であり、微小管を不安定化する Stathmin 1 (STMN1) という癌特異的タンパクはがんマーカー、治療標的分子として注目されている。申請者および共同研究者はさまざまな固形癌で STMN1 が過剰発現し、癌の進行、予後不良と関連すること、微小管標的タキサン系抗がん剤の耐性を誘導することをこれまでに報告してきた。特に STMN1 が食道癌、胃癌を含む消化管癌において、その発現亢進が予後不良に有意に関連している事、消化管癌化学療法の key drug の一つであるタキサン系抗がん剤の薬剤抵抗性や、放射線治療の感受性抵抗性に関連していた事に着目した。

2. 研究の目的

本研究の目的は「食道癌、胃癌を含む消化管癌に対する新規治療ツールを開発するために、消化管癌で過剰蓄積し癌悪性度、予後不良に関連する微小管ダイナミクス制御因子 STMN1 を標的とする治療戦略が有望かを細胞実験、動物実験にて明らかにすること」である。

3. 研究の方法

実験計画 1. 消化管癌細胞株における STMN1 機能解析

- ・胃癌 (MKN7, MKN45)、食道癌細胞株 (TE-8, KYSE140) の STMN1 発現を siRNA を用いて抑制し、STMN1 発現とそれらの癌細胞における細胞周期、増殖能、パクリタキセル感受性、放射線感受性 (食道癌細胞株) との関連を解析。

実験計画 2. 消化管癌細胞株における STMN1 標的 PIP 化合物の薬効評価

- ・前述の消化管癌細胞株に対して STMN1 標的 PIP 化合物を添加し STMN1 発現抑制効果を RT-PCR 法、Western blot 法で検証、抗腫瘍効果を増殖能アッセイで評価。
- ・STMN1 標的 PIP 化合物とパクリタキセルの併用効果を検証 (胃癌及び食道癌細胞株)。
- ・STMN1 標的 PIP 化合物と放射線照射の併用効果を検証 (食道癌細胞株)。
- ・STMN1 標的 PIP 化合物を添加した消化管癌細胞株での変動遺伝子発現を RNA シークエンスで網羅的に解析 (薬効メカニズムの検証、解明)。

実験計画 3. 消化管癌細胞株を用いた担癌モデルマウスによる STMN1 特異的 PIP 化合物の薬効評価 (安全性: STMN1 特異的 PIP 化合物 (320 mg/kg body weight) を尾静脈より週 5 日間、4 週間投与し、定期的な体重測定、外観観察、採血、重要臓器の組織学的検討により安全性を評価する。

- ・薬効試験: 消化管癌細胞株 (MKN45, TE8) を皮下移植した担癌モデルマウスに STMN1 特異的 PIP 化合物 (320 mg/kg body weight) を尾静脈より週 5 日間、12 週間投与し (全身状態不良、腫瘍径が 2cm に達した時点で安楽死)、PIP 化合物投与群での抗腫瘍効果をコントロール群と比較する。
- ・タキサン増感効果検証: 同様のモデルマウスを用いて STMN1 特異的 PIP 化合物投与とパクリタキセル (25mg/kg body weight/each week) を併用し、PIP 化合物により消化管癌のパクリタキセル感受性が亢進するかを検証する。
- ・放射線増感効果の検証: 同様に食道癌細胞株による担癌モデルマウスを用いて STMN1 特異的 PIP 化合物投与と放射線照射を併用し、その PIP 化合物の放射線増感効果を検証する。

- ・動物実験で採取した移植腫瘍を用いて網羅的遺伝子発現解析 (RNA シークエンス) を評価し、PIP 化合物ならびにパクリタキセル投与、放射線照射が消化管癌の遺伝子発現プロファイルに与える影響を因子を検証する。

4 . 研究成果

前述のようにこの研究の目的は革新的治療ツールを利用した癌微小管ダイナミクス制御による消化管癌の克服を目指した検討であるが、消化器癌の検討に先んじた基礎研究として肺がん、膵がんに関する検討を行なった。それぞれの細胞株に STMN1 PIP 化合物を加えた細胞株をマウスに皮下注を行い、腫瘍抑制効果を評価した。

予備実験として膵がん細胞株を用いた検討では、細胞株として Suit-2 細胞株を用いてパクリタキセル及びパクリタキセル + STMN1 PIP を導入し STMN1+PIP 群で少ない薬剤での腫瘍縮小効果が得られる結果を確認した。また、肺がん細胞株である、A549、H810 細胞株をヌードマウスの皮下に注射し腫瘍形成能を評価した。その結果を踏まえ A549 細胞株を用いて適切な STMN1 の 薬剤量を決定する目的で 50 µg と 200 µg の容量比較検討を行なった。結果として両方の容量で day14 で腫瘍縮小効果が誘導されたことを確認 (STMN1 は day0 と day7 で投与) した。しかしながら、day17 以降は増大傾向あり、投与のタイミングやモデルの影響も考慮し再検討が必要となった。さらに、コントロールと比較して STMN1 が有意に抗腫瘍効果を誘導することの再現性が示されているが、mismatch PIP でも同様の抗腫瘍効果が in vivo で誘導されたことから STMN1 PIP の抗腫瘍効果が STMN1 抑制を介しておらず PIP 自体の毒性の可能性もあり確認が必要となった。

上記課題を解決すべく薬剤投与のタイミングや容量の再設定を行ってきたが、十分なタイミング、容量設定ができず予定の検討が進まなかった。我々はこの予備実験の結果から食道癌や胃癌に関しても同様に STMN1 PIP が腫瘍の増殖抑制効果につながることを想定し、食道がん細胞株や胃がん細胞株を用いた同様の検討を行い STMN1 PIP が腫瘍の増殖抑制効果を示す事が確認できれば、タキサン系薬剤耐性の癌に対する新たな治療法になることを目指して検討を行ってきたが期間内に

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
研究分担者	横堀 武彦 (Yokobori Takehiko) (60420098)	群馬大学・未来先端研究機構・准教授 (12301)	
研究分担者	酒井 真 (Sakai Makoto) (70420099)	群馬大学・医学部附属病院・講師 (12301)	
研究分担者	佐伯 浩司 (Saeki Hiroshi) (80325448)	群馬大学・大学院医学系研究科・教授 (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