

令和 4 年 5 月 18 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K18162

研究課題名（和文）細胞分裂期キナーゼ阻害との合成致死性に基づいた新しい卵巣癌治療法の開発

研究課題名（英文）New ovarian cancer therapy based on synthetic lethality with mitotic kinase inhibition.

研究代表者

玉内 学志 (Tamauchi, Satoshi)

名古屋大学・医学部附属病院・病院助教

研究者番号：50845097

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）：VRK1は細胞分裂に關与するセリントレオニンキナーゼの一つであり、多くの癌種で高発現している。ルテオリンはVRK1の発現を抑制するフラボノイドであり、卵巣癌に対するルテオリンの抗腫瘍効果とそのメカニズムを検証した。ルテオリンの投与によって卵巣癌細胞株の増殖が抑制された。また、卵巣癌患者の腫瘍を移植したマウスモデルにおいても、ルテオリン投与によって腫瘍の増殖が抑制された。遺伝子変化の網羅的解析などによって、ルテオリンの抗腫瘍効果メカニズムは、癌抑制遺伝子であるTP53経路の活性化であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ルテオリンは緑黄色野菜に含まれるフラボノイドの一つで、癌を抑制する作用が知られているが、卵巣癌での効果を検証した報告はなかった。本研究では卵巣癌患者の腫瘍を用いた動物モデルにおいて、ルテオリンの経口摂取によって癌の増殖を抑制できることを示した。また、なぜルテオリンが癌を抑制するかのメカニズムも検証し示した。既存の抗がん剤などに比べて、ルテオリンというより自然な成分を用いて、新しいがん治療戦略の可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：VRK1 is a serine threonine kinase involved in cell division and is highly expressed in many cancer types. Luteolin is a flavonoid that suppresses the expression of VRK1. We examined the antitumor effect of luteolin on ovarian cancer and its mechanism. Administration of luteolin inhibited the growth of ovarian cancer cell lines. In a mouse model in which tumors from ovarian cancer patients were transplanted, luteolin administration also inhibited tumor growth.

Comprehensive analysis of the genetic changes and other data indicated that the mechanism of the anti-tumor effect of luteolin is the activation of the TP53 pathway, a tumor suppressor gene.

研究分野：婦人科悪性腫瘍

キーワード：卵巣癌 抗癌剤 ルテオリン VRK1

1. 研究開始当初の背景

卵巣癌は婦人科領域において最も予後不良な癌種の一つであり、抗癌剤への容易な耐性獲得がその主因である。VRK1 はセリン・トレオニンキナーゼの一種で、Baratta ら (2015) による網羅的ノックダウンスクリーニングによって見いだされた卵巣癌の新規治療のターゲット遺伝子である。VRK1 阻害の癌細胞増殖抑制効果は *in vitro* での報告がこれまでに散見されるが (Kim et al. 2013, Zang et al. 2017)、*in vivo* で阻害剤の薬効を確認した報告は胃癌 (Ming-de et al. 2017) と大腸癌 (Wu et al. 2018) の 2 報しかなく、婦人科癌における報告はまだなかった。また、いずれの報告も、細胞株由来動物モデルを用いたものであり、次なる前臨床試験として患者組織由来動物モデルを用いた薬効試験が重要であると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、研究代表者らが樹立した VRK1 を高発現する卵巣癌患者腫瘍由来モデルにおいて、VRK1 阻害による抗腫瘍効果や、既存の抗がん剤の耐性解除効果を生体モデルで初めて実証し、それらを引き起こす分子生物学的メカニズムを解明することを目的とした。

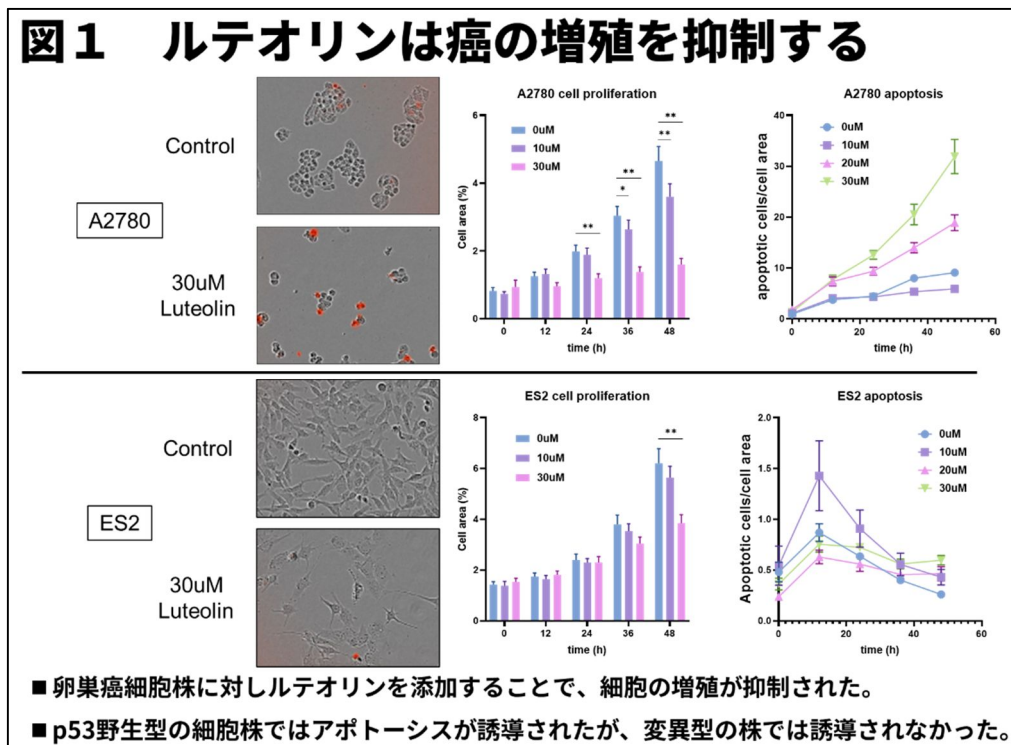
3. 研究の方法

- (1) VRK1 の発現を抑制するフラボノイドであるルテオリンを用いて、卵巣癌細胞株を用いた *in vitro* の各種アッセイを行った。
- (2) ルテオリンの抗腫瘍効果のメカニズムを解明するため、リン酸化アレイや RNA シーケンス解析を行った。
- (3) ルテオリンの *in vivo* における効能を明らかにするため、VRK1 を高発現する卵巣癌 PDX 腫瘍をヌードマウスに分割移植して擬似的担癌集団を作成し、ルテオリン投与による抗腫瘍効果と副作用の評価を行った。また、腫瘍検体を用いて免疫組織学的な評価を行った。

4. 研究成果

(1) 卵巣癌細胞株に対するルテオリンの抗腫瘍効果 (図 1)

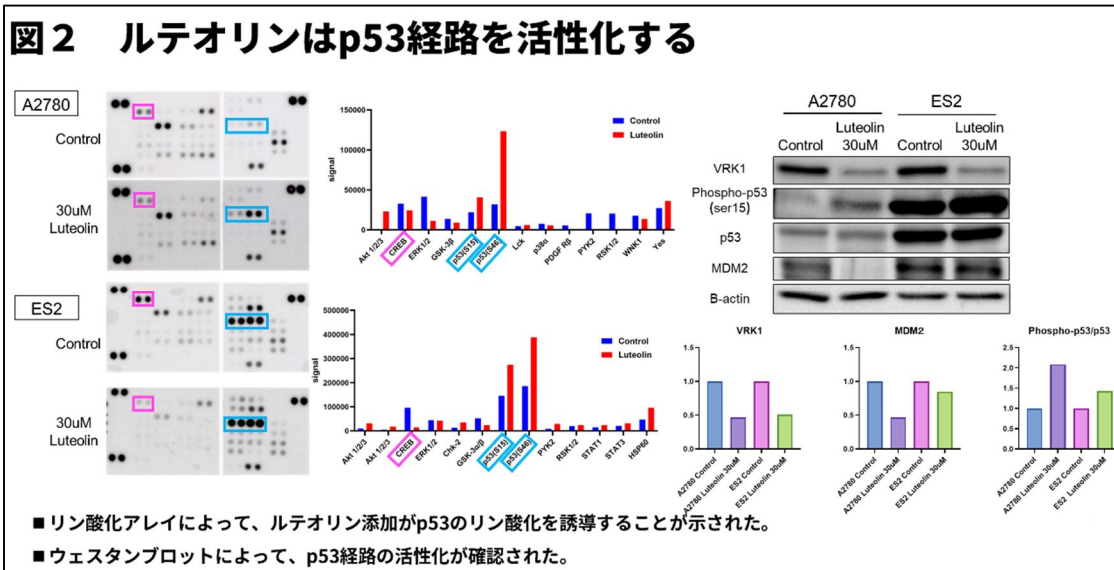
卵巣癌細胞株にルテオリンを添加すると、用量依存性に細胞増殖が抑制された。フローサイトメトリーでは G2/M 期での細胞周期の停滞が認められた。タイムラプスを用いたアポトーシスアッセイでは、A2780 ではアポトーシス細胞が増加し、ES2 では増加しなかった。このことから、ルテオリンによる抗腫瘍効果メカニズムは、細胞分裂の阻害とアポトーシスの誘導であることが示唆されたが、アポトーシス誘導は細胞によって反応が異なることが示唆された。



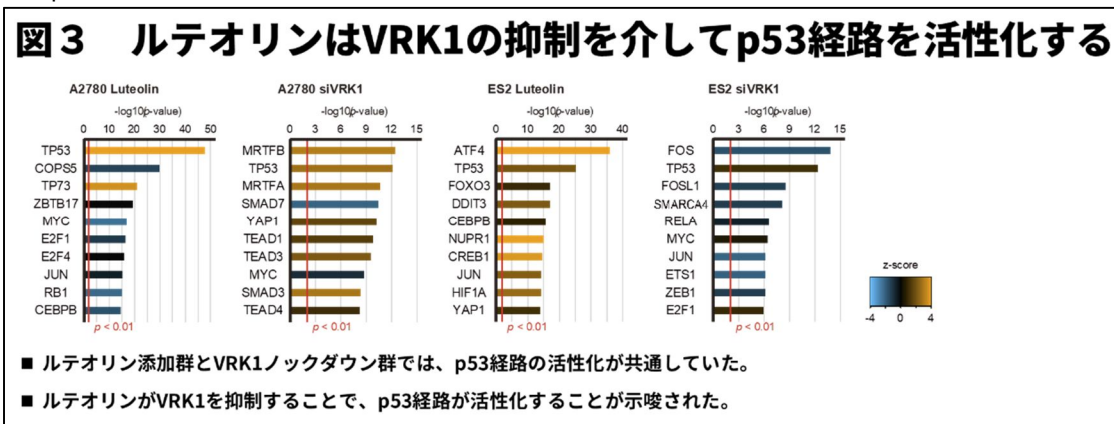
(2) ルテオリン抗腫瘍効果のメカニズム検証 (図 2、図 3)

卵巣癌細胞株に対してルテオリンを添加することで、p53 のリン酸化の亢進が認められた。また、CREB のリン酸化の抑制が認められた。ウェスタンブロットにおいて、ルテオリン投与によって

VRK1 の抑制と p53 のリン酸化の亢進が認められた。

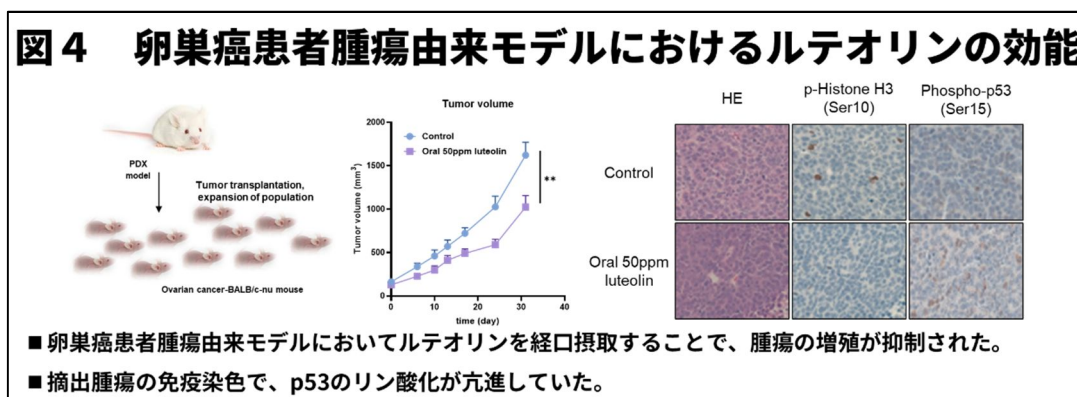


ルテオリンを添加した細胞と、VRK1 をノックダウンした細胞とで遺伝子発現解析を行ったところ、p53 経路の活性化が共通して認められた。



(3) 卵巣癌患者腫瘍由来モデル (PDX) を用いたルテオリンの抗腫瘍効果 (図4)

卵巣癌 PDX において 50ppm ルテオリンを経口摂取することによって、コントロール群に比べて腫瘍増殖が抑制された。投与による体重減少などの副作用は認めなかった。上記の PDX モデル腫瘍を免疫組織学的に評価すると、細胞分裂のマーカーであるヒストン H3 (Ser10) のリン酸化が抑制されていた。p53 のリン酸化も亢進しており、in vitro で確認された細胞増殖抑制効果が in vitro でも再現された。



以上のことから、ルテオリンはVRK1 の発現を抑制し、VRK1 の抑制は p53 経路の活性化を誘導することで抗腫瘍効果を示すことがわかった。ルテオリンは緑黄色野菜に含まれるフラボノイドであり、サプリメントが市販されるなど身近

な物質でもあるため、今後ルテオリンを用いた新規がん治療戦略の早期の臨床応用が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 玉内学志
2. 発表標題 フラボノイドを用いた卵巣癌の新規治療戦略
3. 学会等名 第63回日本婦人科腫瘍学会学術講演会
4. 発表年 2021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
---------	---------