

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：12602  
研究種目：基盤研究(C)（一般）  
研究期間：2021～2023  
課題番号：21K08769  
研究課題名（和文）膵臓癌における化合物スクリーニングによる新規抗がん剤併用療法の開発と臨床応用  
  
研究課題名（英文）Drug screening for anti-cancer agents in pancreatic cancer  
  
研究代表者  
田邊 稔（Tanabe, Minoru）  
  
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授  
  
研究者番号：50197513  
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）：2021年、薬剤ライブラリースクリーニングを用いて膵臓癌における新規治療薬であるEg5阻害剤であるIspinesibを同定し報告した(Inhibitor library screening identifies ispinesib as a new potential chemotherapeutic agent for pancreatic cancers.Cancer Sci. 2021 Nov;112(11):4641-4654. doi: 10.1111/cas.15134. Epub 2021 Oct 2.)。

研究成果の学術的意義や社会的意義  
今後は学会ならびに論文などにより各新規治療薬の有用性を報告していく。さらに樹立した癌オルガノイドモデルを用いて臨床応用の有用性の検討を進めていく。また癌横断的な薬剤ライブラリーによる新規治療薬の同定・検証も合わせて推進する。

研究成果の概要（英文）：In 2021, we reported the identification of ispinesib, an Eg5 inhibitor, as a new potential chemotherapeutic agent for pancreatic cancer using a drug library screening (Inhibitor library screening identifies ispinesib as a new potential Cancer Sci. 2021 Nov;112(11):4641-4654. doi: 10.1111/cas.15134. Epub 2021 Oct 2.)

研究分野：消化器外科

キーワード：膵臓癌 薬剤スクリーニング 抗がん剤

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

膵臓癌は生物学的悪性度が高く消化器癌の中でも難治性癌であり、膵臓癌による死亡数も年々増加傾向にある。膵臓における悪性腫瘍は発見時にすでに進行していることが多く、そのような進行病変においては手術治療に加え化学療法などを組み合わせた集学的治療が基軸となっている。今後はより治療感受性の高い化学療法を選択することが重要となり、有効性の高い新規治療薬レジメンの開発が喫緊の課題である。

本研究では当科独自のカスタムメイドなプラットフォームを用いた新規治療薬の有効性を評価する併用薬剤スクリーニングと、腫瘍の薬剤感受性など治療応答性の即座な評価を可能とする膵臓癌 PDX マウスモデルによる検証など新規技術に基づいた研究基盤の有用性を実証する。これら新規医療技術を有機的に融合させることで、適切な薬剤感受性に基づいたオーダーメイドによる個別化された適正治療の実現を本研究の目標とする。

### 2. 研究の目的

現在、膵臓癌においては外科手術と抗がん剤多剤併用療法を行う集学的治療が治療の主軸となっている。しかし従来の抗がん剤研究において多剤併用療法に必要な候補抗がん剤の組み合わせを検証する基盤や実験手法は一般的ではなかった。さらには複数の治療法から最適と思われる治療法を選択し、患者由来の腫瘍組織に対しその治療感受性を評価する実験手法が存在しなかったのも事実である。

当科は Selleck 社と共同で 100 種類のカスタムメイドした各種阻害剤からなる化合物ライブラリーを作成した(図 1)。本研究ではこの化合物ライブラリーを用いて膵臓癌における key drug である Gemcitabine や 5-FU(Fluorouracil)といった抗がん剤の抗腫瘍効果を増強させる新規治療薬を選出する薬剤スクリーニングを確立する。さらに患者由来の腫瘍細胞を用いて当科独自で樹立した膵臓癌 PDX マウスモデルによる候補薬剤の前臨床試験的な抗腫瘍効果を検証する。すでに Gemcitabine を用いて多種類から構成される化合物の中から抗がん剤の相乗効果を検証するスクリーニング実験を行い、最終的に Gemcitabine の作用を増強させる数種類の新規候補薬剤の選出を行った(図 2)。今後 5-FU を用いて同様の実験手法で、抗腫瘍効果を増強する薬剤を選出し、膵臓癌 PDX マウスモデルにより治療効果の検証を行う。

図1 100種類の化合物ライブラリー

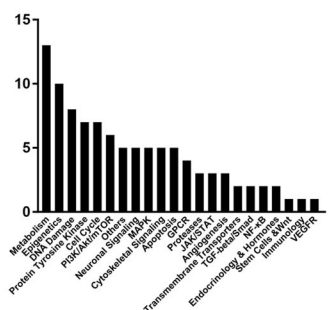
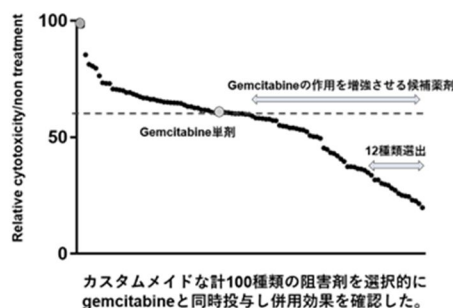
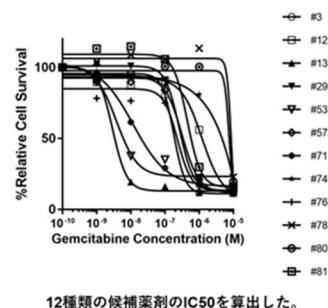


図2 ジェムザール感受性を増強する薬剤のスクリーニング



カスタムメイドな計100種類の阻害剤を選択的に gemcitabine と同時投与し併用効果を確認した。



12種類の候補薬剤のIC50を算出した。

### 3. 研究の方法

#### #1. 化合物ライブラリーによる薬剤スクリーニング

当科独自の化合物ライブラリーを用いて、膵臓癌細胞株に対し基軸となる Gemcitabine もしくは 5-FU に、100 種の各種薬剤をそれぞれ選択的に投与し、多種類からなる化合物プラットフォームから基軸となる抗がん剤の作用を増強させる新規候補薬剤を Cytotoxicity assay にて選出する。

薬剤スクリーニングから相乗的な抗腫瘍効果の高い薬剤を絞り込み、それぞれ薬剤の IC50 を測定する。さらにデータベース解析により膵臓癌特異的な新規治療薬を選出する。その後、Flow cytometry を用いた細胞周期解析や apoptosis assay などを用いた機能解析や、RNA sequencing による候補薬剤の関連シグナルの探索も行い機能的 in vitro 解析で検証する。すでに Gemcitabine を用いて薬剤スクリーニングは行っており数種類の候補薬剤を選出した。次に 5-FU を基軸として同様の実験を行い、5-FU の抗がん剤活性を増強させる候補薬剤を選出する。さらには SCID マウスや NUDE マウスなど免疫不全マウスを用いた皮下移植モデルによる候補薬剤の膵臓癌に対する in vivo 抗腫瘍効果を評価する。

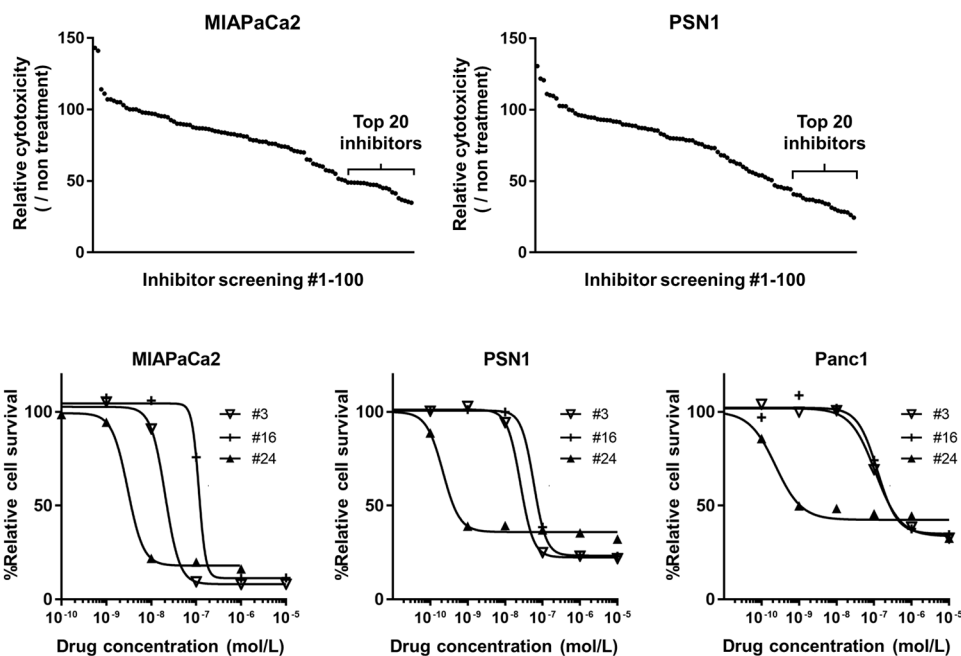
#### #2. PDX モデルを用いた候補薬剤の検証

近年、重度免疫不全マウスに患者腫瘍を直接移植することで、血管や間質といった実際の癌が有する微小環境をマウス体内で再現し、従来の癌細胞株を用いた動物モデルよりも実際の癌に近い前臨床動物モデルとして活用する PDX モデル (Patient Derived Xenograft) の有用性が報告された (John J, et al. Nature Review 2012)。当科でも 2019 年 4 月より、膵臓癌の手術標本を用いた PDX モデルの作成を開始し、既に膵臓癌 3 例 (未分化・低分化・中分化 1 例ずつ) で移植に成功している (承認番号 A2019-242A)。

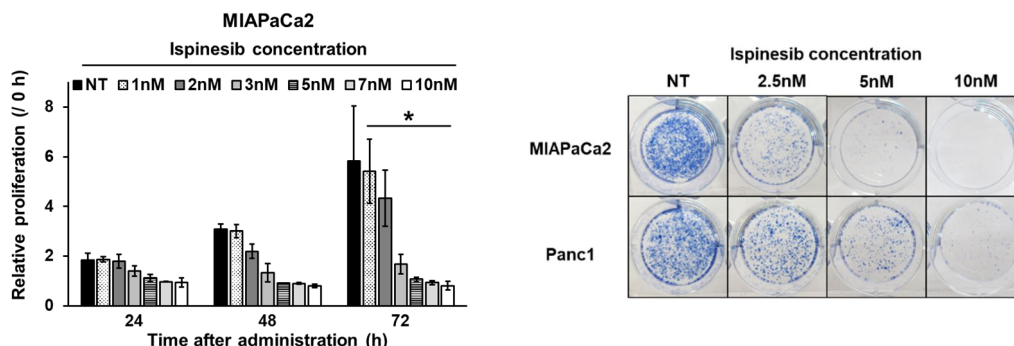
今後は、当科で手術を施行した膵臓癌の手術標本を用いた PDX マウス移植モデルの症例数を累積していく。腫瘍の様々な薬剤感受性や転移浸潤能を把握し実際の患者に解析結果を反映させることができる前臨床モデルとなる PDX マウスモデルのさらなる拡充を図る。合計で年間 10 症例の移植を目標とする。

### 4. 研究成果

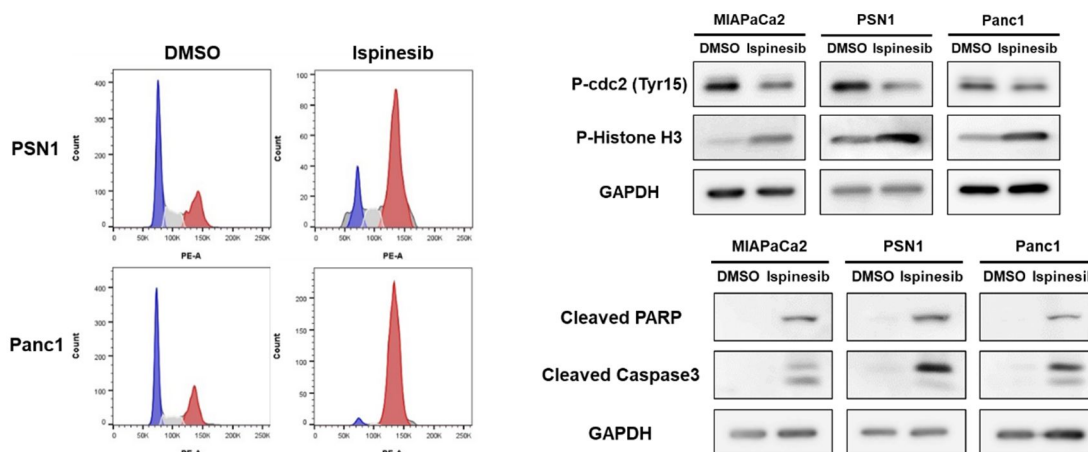
上記化合物ライブラリーを用いて薬剤スクリーニングを行い膵臓癌細胞における新規治療薬となる薬剤の絞り込みを行った。候補薬剤の中から新規抗がん剤 Ispinesib を同定した。



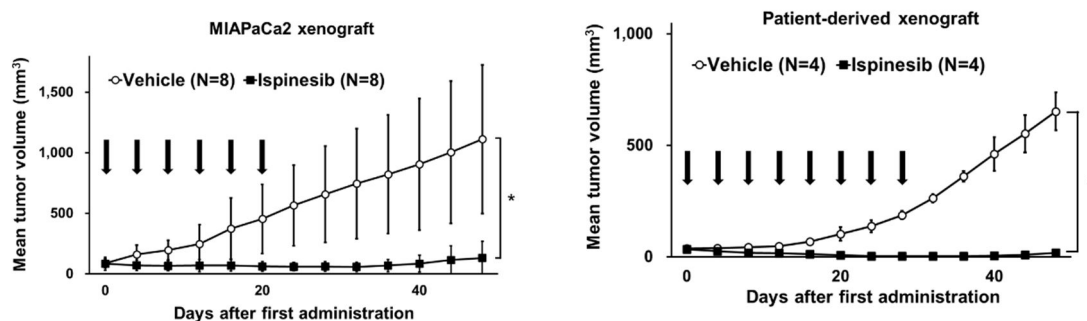
候補薬剤である Ispinesib の膵臓癌に対する増殖抑制能や関連シグナル解析を行った。



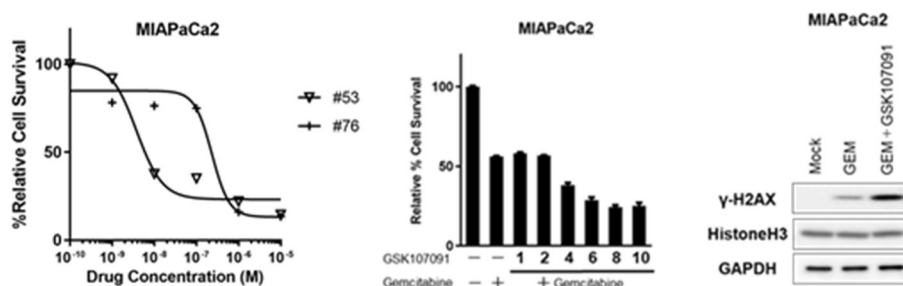
特に Ispinesib は腫瘍細胞において G2/M 細胞周期関連遺伝子の発現制御を介して細胞周期停止をきたし腫瘍細胞のアポトーシスを誘導することが明らかとなった。



最終的に Ispinesib の抗腫瘍効果を従来のヌードマウスモデルならびに患者由来の腫瘍細胞からなる PDX マウスモデルを用いて検証した。



上記知見は Inhibitor library screening identifies ispinesib as a new potential chemotherapeutic agent for pancreatic cancers として Cancer Science 誌：2021 Nov;112(11):4641-4654. doi: 10.1111/cas.15134. Epub 2021 Oct 2.において掲載された。さらに薬剤スクリーニングを用いた Gemcitabine の抗腫瘍効果を増強させる薬剤に関しては候補薬剤として GSK107091 を選出し現在論文作成中である。



GSK107091はGemcitabineに対するDNAダメージを増強した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ono Hiroaki, Murase Yoshiki, Yamashita Hironari, Kato Tomotaka, Asano Daisuke, Ishikawa Yoshiya, Watanabe Shuichi, Ueda Hiroki, Akahoshi Keiichi, Ogawa Kosuke, Kudo Atsushi, Akiyama Yoshimitsu, Tanaka Shinji, Tanabe Minoru	4. 巻 62
2. 論文標題 RRM1 is mediated by histone acetylation through gemcitabine resistance and contributes to invasiveness and ECM remodeling in pancreatic cancer	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2023.5499	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Murase Yoshiki, Ono Hiroaki, Ogawa Kosuke, Yoshioka Risa, Ishikawa Yoshiya, Ueda Hiroki, Akahoshi Keiichi, Ban Daisuke, Kudo Atsushi, Tanaka Shinji, Tanabe Minoru	4. 巻 112
2. 論文標題 Inhibitor library screening identifies ispinesib as a new potential chemotherapeutic agent for pancreatic cancers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4641 ~ 4654
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15134	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 -
1. 著者名 Kato Tomotaka, Ono Hiroaki, Fujii Mikiya, Akahoshi Keiichi, Ogura Toshiro, Ogawa Kosuke, Ban Daisuke, Kudo Atsushi, Tanaka Shinji, Tanabe Minoru	4. 巻 16
2. 論文標題 Cytoplasmic RRM1 activation as an acute response to gemcitabine treatment is involved in drug resistance of pancreatic cancer cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0252917	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 -
1. 著者名 Ono Hiroaki, Kato Tomotaka, Murase Yoshiki, Nakamura Yutaro, Ishikawa Yoshiya, Watanabe Shuichi, Akahoshi Keiichi, Ogura Toshiro, Ogawa Kosuke, Ban Daisuke, Kudo Atsushi, Akiyama Yoshimitsu, Tanaka Shinji, Ito Hiromichi, Tanabe Minoru	4. 巻 11
2. 論文標題 C646 inhibits G2/M cell cycle-related proteins and potentiates anti-tumor effects in pancreatic cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-89530-8	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8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小野宏晃、村瀬芳樹、小川康介、伊藤 剛、浅野大輔、石川喜也、上田浩樹、赤星径一、工藤 篤、田中真二、田邊 稔
2. 発表標題 膵臓癌の新規抗がん剤を評価する前臨床試験的な包括的実験モデルの構築
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山下宏成、小野宏晃、伊藤 晃、鷹翔大郎、奈良 篤、木村宗貴、森本紘一郎、八木宏平、石井 武、浅野大輔、石川喜也、上田浩樹、赤星径一、工藤 篤、田中真二、田邊 稔
2. 発表標題 膵癌に対する新規治療法を目指した、細胞増殖関連タンパク PCNA の機能解析
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村宗貴、小野宏晃
2. 発表標題 膵臓癌における新規治療薬の Clofarabine の有用性の検討
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroaki Ono, Yoshiki Murase, Daisuke Asano, Syuuichi Watanabe, Yoshiya Ishikawa, Hiroki Ueda, Keiichi Akahoshi, Atsushi Kudo, Shinji Tanaka, Minoru Tanabe
2. 発表標題 Evaluation of the efficacy of Ispinesib, a novel Eg5 inhibitor, for the treatment of high grade Pan-NENs
3. 学会等名 Joint Congress of the 26th Meeting of IAP and the 53rd Annual Meeting of JPS (第26回国際膵臓学会・第53回日本膵臓学会大会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村宗貴、小野宏晃、田中真二、田邊 稔
2. 発表標題 膵臓癌における新規治療薬 Clofarabine の検討
3. 学会等名 第123回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小野宏晃、浅野大輔、石川喜也、渡邊秀一、上田浩樹、赤星径一、工藤 篤、田中真二、田邊 稔
2. 発表標題 膵臓癌の抗癌剤耐性における悪性形質獲得に関連するRRM1遺伝子の機能解析
3. 学会等名 第123回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小野宏晃、村瀬芳樹、小川康介、山下宏茂、石川喜也、上田浩樹、赤星径一、工藤篤、田中真二、田邊稔
2. 発表標題 膵臓癌における新規治療薬の同定を可能にしたカスタムメイド阻害剤ライブラリーの臨床的有用性および実験的発展性の検証
3. 学会等名 JDDW
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小野宏晃、村瀬芳樹、小川康介、伊藤剛、浅野大輔、石川喜也、上田浩樹、赤星径一、工藤篤、田中真二、田邊稔
2. 発表標題 膵臓癌の新規抗がん剤を評価する前臨床試験的な包括的実験モデルの構築
3. 学会等名 日本外科学会
4. 発表年 2022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
研究分担者	工藤 篤  (Kudo Atushi)  (20376734)	東京医科歯科大学・医学部附属病院・准教授   (12602)	
研究分担者	田中 真二  (Tanaka Shinji)  (30253420)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授   (12602)	
研究分担者	小川 康介  (Ogawa Kosuke)  (40618112)	東京医科歯科大学・医学部附属病院・助教   (12602)	
研究分担者	小野 宏晃  (Ono Hiroaki)  (60466901)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・講師   (12602)	

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