

令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：16101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20711

研究課題名（和文）PARP阻害薬の血行性がん転移予防への適応拡大を志向した基盤研究

研究課題名（英文）The effects of PARP inhibitors on tumor metastasis via blood vessels

研究代表者

今西 正樹（IMANISHI, Masaki）

徳島大学・大学院医歯薬学研究部（薬学域）・助教

研究者番号：00734344

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、抗がん剤治療が血管内皮細胞(EC)のpoly ADP-ribose polymerase (PARP)活性化を介して将来の血行性がん転移を促進させる機序を解明し、現在臨床で使用され始めているPARP阻害薬の血行性がん転移予防への適応拡大を目指すことを目的とした。研究代表者は、ECのPARP活性化を引き起こすシスプラチンの反復投与はその後のメラノーマ肺転移を促進させ、PARP阻害剤Olaparib投与によりそれが抑制されることを動物実験により明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、抗がん剤によるEC由来PARP活性化を介した血行性がん転移促進機序が解明されることにより、(1)すでに臨床で使用されているPARP阻害薬の血行性がん転移予防への適応拡大の可能性、(2)将来の血行性がん転移制御も考慮した効率的がん治療戦略の開発、に向けて一石を投じることが可能となる。

研究成果の概要（英文）：In the present study, we investigated the mechanisms of chemotherapy-induced tumor metastasis via endothelial cell (EC)-derived poly ADP-ribose polymerase (PARP) activation to find possibilities that PARP inhibitors can be applied also as inhibitors against tumor metastasis during cancer therapies. We found that cisplatin (CDDP) induced PARP activation in ECs, CDDP pre-administration induced melanoma tumor cell metastasis and a PARP inhibitor, olaparib administration suppressed its effect in a mouse model.

研究分野：循環薬理学

キーワード：血行性がん転移 抗がん剤 血管内皮細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

一度治療によってがんを克服あるいは寛解してもある一定数以上の患者で転移や再発が認められるほか、血管内皮細胞 (EC) 傷害作用を有する一部の抗がん剤ではがん転移促進作用を有することが報告されている (Clin Exp Metastasis, 2008) ため、がん治療後のがん転移制御は喫緊の課題である。多くの抗がん剤の直接的作用点は DNA 損傷であり、それによりがん細胞の増殖抑制やアポトーシスが誘導される。このとき poly ADP-ribose polymerase (PARP) などの DNA 損傷修復 (DDR) シグナルも活性化される。研究代表者は、抗がん剤が血管構成細胞において PARP 活性化 ミトコンドリア由来活性酸素種 (mtROS) 産生 ERK5 転写活性低下 PARP 活性化の正のフィードバックループを介して、細胞老化や慢性炎症を引き起こす細胞老化関連分泌形質 (SASP; senescence-associated secretory phenotype) 形成に寄与することを報告した (Redox Biol. 2021)。EC における SASP 形成は内皮間葉転換 (EndMT) および接着分子発現亢進に寄与するため、血行性がん転移を促進させる可能性が高い。

また、mtROS はがん転移因子 angiopoietin-2 (ANGPT2) や EndMT を直接制御する低酸素誘導因子 HIF-1 の誘導に必須であることが知られており、さらに研究代表者は ERK5 欠損により HIF-1 が誘導されることを報告した (Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2020)。また最近、PARP 活性化は HIF-1 を安定化させることが報告された (Redox Biol. 2021)。

以上より、「抗がん剤治療は EC において PARP/HIF-1 axis を活性化させることにより血行性がん転移を促進させる」という仮説の立案に至った。がんの遠隔転移においては血行性転移が大きな役割を担っており、転移先での EC が循環血流中のがん細胞生着の初期段階に寄与していることは明らかであるにも関わらず、EC 由来転移促進因子の同定に関する報告は少ないという現状である。研究代表者は前述の仮説を、細胞実験や動物実験、バイオインフォマティクスの手法などを通して立証することにより、将来の血行性がん転移制御も考慮した効率的がん治療戦略の開発を目指す。

2. 研究の目的

本研究では、転移・再発しやすく、遠隔転移すると極めて予後が不良であるメラノーマに焦点を合わせ、

(1) 抗がん剤による EC 由来 PARP 活性化を介して血行性がん転移は促進されるか否か

(2) PARP 阻害薬は血行性がん転移を抑制するか否か

をマウスモデルやがんゲノムビッグデータ等を用いて検討し、抗がん剤誘導性の EC 由来 PARP 活性化を介した新規血行性がん転移機序を提唱する。PARP を活性化させる各種抗がん剤が血行性がん転移を促進させる可能性があるという警鐘を鳴らし、すでに臨床で使用されている PARP 阻害薬が抗がん剤治療後の血行性がん転移予防に対しても効果を示すことを示唆した上で、PARP 阻害薬の血行性がん転移予防への適応拡大をはかる。

3. 研究の方法

(1) メラノーマ血行性がん転移マウスモデルを用いたシスプラチン (CDDP) 投与が血行性がん転移に与える影響の検討

マウスメラノーマ細胞 B16F10 (2×10^5 cells/mouse) を雌性 C57BL/6 マウスに尾静注し、9 日後に肺を摘出して肺組織表面上のメラノーマ結節数を評価した。B16F10 細胞尾静注 7, 3, 1 日前に CDDP 2 mg/kg (i.v.) を投与する群と、対照として CDDP の代わりに PBS を投与する群を製し、比較検討を行った。

(2) CDDP が EC における PARP 活性化 (PARylation) に与える影響の検討

ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を CDDP 刺激し、Western blotting 法により poly-PARylation の程度を検討した。すでに研究代表者は、放射線照射や doxorubicin などの抗がん剤により poly-PARylation が誘導されることを確認している。

(3) CDDP が EC 由来遺伝子発現に与える影響の検討

HUVEC を CDDP 刺激し、total RNA を抽出し、RNA-seq による解析を行った。RNA-seq 解析は株式会社 Rhelixa に依頼した。

(4) The Cancer Genome Atlas (TCGA) 解析によるメラノーマ転移促進候補因子の抽出

世界最大のがんゲノムビッグデータである TCGA に含まれる TCGA-melanoma のデータセットを用いて、転移巣メラノーマサンプルにおいて遺伝子発現が中央値よりも高発現群では 5 年生存率が有意に低下する遺伝子を抽出し、さらにそれら遺伝子において原発巣メラノーマサンプルよりも有意に発現が高い遺伝子に絞り込んだ。

(5)PARP 阻害剤 olaparib (Ola)投与が CDDP によるメラノーマ血行性がん転移促進作用に与える影響の検討

(1)で用いた実験群それぞれに、Ola を B16F10 尾静注 7 日前～3 日前までの 5 日間連日腹腔内投与する群と vehicle を投与する群を作製 (Control 群、 Ola 単独群、 CDDP 単独群、 CDDP+Ola 群) し、Ola 投与が CDDP によるメラノーマ血行性がん転移促進作用に与える影響を検討した。肺組織の抽出は B16F10 尾静注 10 日後に行った。

4. 研究成果

(1)メラノーマ血行性がん転移マウスモデルを用いたシスプラチン (CDDP)投与が血行性がん転移に与える影響の検討

CDDP 投与により有意に肺のメラノーマ結節数が増加した。CDDP の投与ルートは静脈内投与であり B16F10 の尾静注前に行っており、その半減期は比較的短いことから、研究代表者は CDDP の EC への作用が転移先での転移環境形成に寄与しているものと考えている。

(2)CDDP が EC における PARP 活性化 (PARylation) に与える影響の検討

CDDP (1 μ M) 刺激により HUVEC において poly-PARylation の増加が確認され、それは Ola (10 μ M) の処置により完全に抑制された (図 1)。

(3)CDDP が EC 由来遺伝子発現に与える影響の検討
HUVEC を CDDP (1 μ M) 刺激し、total RNA を抽出し、RNA-seq による解析を行った。いくつかの発現変動遺伝子が抽出されたが、これらと(4)により抽出された候補遺伝子とに共通する遺伝子に絞り込む予定である。また、抽出された遺伝子の CDDP 刺激による発現上昇が Ola 処置によって抑制されるか否か確認することで、EC における CDDP-PARylation シグナルの下流に存在するか確認する予定である。

(4)The Cancer Genome Atlas (TCGA)解析によるメラノーマ転移促進候補因子の抽出

TCGA-melanoma データセットにおいて、転移巣メラノーマサンプルにおいて遺伝子発現が中央値よりも高発現群では 5 年生存率が有意に低下する遺伝子を抽出し、さらにそれら遺伝子において原発巣メラノーマサンプルよりも有意に発現が高い遺伝子に絞り込んだところ、複数の遺伝子がメラノーマ転移促進候補因子として抽出された。ANGPT2 は近年東京大学のグループが発見した EC 由来血行性がん転移促進因子であるが、ANGPT2 はそれらの中に含まれていなかった。さらに EC 由来のメラノーマ転移促進候補因子に絞り込むために、各種 EC 特異的マーカー遺伝子発現が高いサンプルをクラスタリングにより選別し、検討を進めている。

(5)PARP 阻害剤 olaparib (Ola)投与が CDDP によるメラノーマ血行性がん転移促進作用に与える影響の検討

CDDP 投与による B16F10 の肺への生着数の増加は、Ola 投与により有意に抑制された (図 2)。Ola 単独群と Control 群とを比較したところ、肺のメラノーマ結節数には有意な差は認められなかった。以上より研究代表者は、CDDP による EC の PARP 活性化は転移先での転移環境形成において重要な役割を果たしていると考えている。

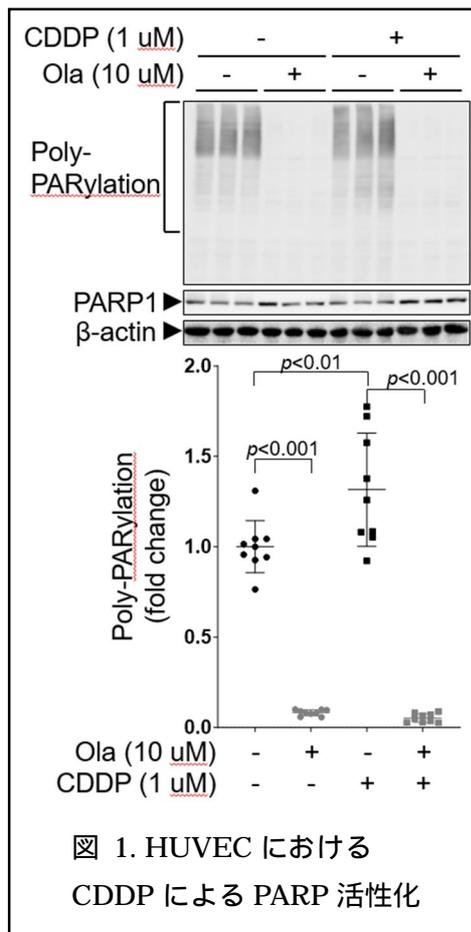
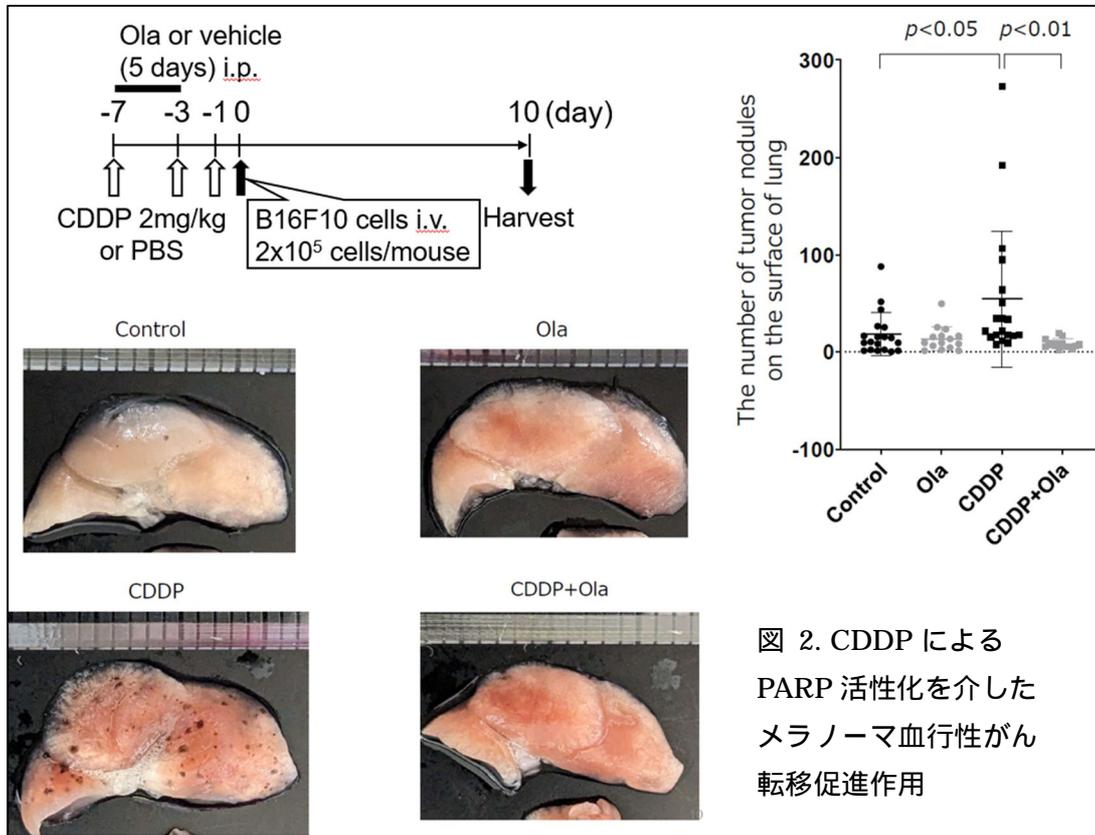


図 1. HUVEC における CDDP による PARP 活性化



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Imanishi M, Cheng H, Kotla S, Deswal A, Le NT, Chini E, Ko KA, Samanthapudi VSK, Lee LL, Herrmann J, Xu X, Reyes-Gibby C, Yeung SCJ, Schadler KL, Yusuf SW, Liao Z, Nurieva R, Amir ED, Burks JK, Palaskas NL, Cooke JP, Lin SH, Kobayashi M, Yoshimoto M, Abe JI	4. 巻 9
2. 論文標題 Radiation therapy induces immunosenescence mediated by p90RSK	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Cardiovascular Medicine	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） 10.3389/fcvm.2022.988713	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 該当する

1. 著者名 Abe JI, Imanishi M, Li S, Zhang A, Ko KA, Samanthapudi VSK, Lee LL, Bojorges AP, Gi YJ, Hobbs BP, Deswal A, Herrmann J, Lin SH, Chini EN, Shen YH, Schadler KL, Nguyen THM, Gupte AA, Reyes-Gibby C, Yeung SCJ et al.	4. 巻 133
2. 論文標題 An ERK5-NRF2 Axis Mediates Senescence-Associated Stemness and Atherosclerosis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Circulation Research	6. 最初と最後の頁 25 ~ 44
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/CIRCRESAHA.122.322017	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 該当する

1. 著者名 Savage Hannah, Pareek Sumedha, Lee Jonghae, Ballaro Riccardo, Conterno Minussi Darlan, Hayek Karma, Sadullozoda Mumina, Lochmann Brooke S., McQuade Jennifer L., LaVoy Emily C., Marmonti Enrica, Patel Hetal, Wang Guangyu, Imanishi Masaki, Kotla Sivareddy, Abe Jun-ichi, Schadler Keri	4. 巻 11
2. 論文標題 Aerobic Exercise Alters the Melanoma Microenvironment and Modulates ERK5 S496 Phosphorylation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancer Immunology Research	6. 最初と最後の頁 1168 ~ 1183
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1158/2326-6066.CIR-22-0465	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 該当する

1. 著者名 Nguyen MTH, Imanishi M, Li S, Chau K, Banerjee P, Velatooru L, Ko KA, Samanthapudi VSK, Gi YJ, Lee LL, Abe RJ, McBeath E, Deswal A, Lin SH, Palaskas NL, Dantzer R, Fujiwara K, Borchardt MK, Turcios EB, Olmsted-Davis EA, Kotla S, Cooke JP, Wang G, Abe JI, Le NT	4. 巻 10
2. 論文標題 Endothelial activation and fibrotic changes are impeded by laminar flow-induced CHK1-SEN2 activity through mechanisms distinct from endothelial-to-mesenchymal cell transition	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Cardiovascular Medicine	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) 10.3389/fcvm.2023.1187490	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 該当する

1. 著者名 Imanishi Masaki, Inoue Takahisa, Fukushima Keijo, Yamashita Ryosuke, Nakayama Ryo, Nojima Masataka, Kondo Kosuke, Gomi Yoshiki, Tsunematsu Honoka, Goto Kohei, Miyamoto Licht, Funamoto Masafumi, Denda Masaya, Ishizawa Keisuke, Otaka Akira, Fujino Hiromichi, Ikeda Yasumasa, Tsuchiya Koichiro	4. 巻 153
2. 論文標題 CA9 and PRELID2; hypoxia-responsive potential therapeutic targets for pancreatic ductal adenocarcinoma as per bioinformatics analyses	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 232 ~ 242
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2023.10.003	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6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 山下竜介、今西正樹、福島圭穂、近藤宏祐、中山涼、常松保乃加、井上貴久、後藤廣平、船本雅文、藤野裕道、池田康将、土屋浩一郎
2. 発表標題 低酸素がん微小環境におけるPARP活性化は5-FUによる膵がん細胞増殖抑制効果の減弱に寄与する
3. 学会等名 第142回日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 近藤宏祐、今西正樹、山下竜介、福島圭穂、中山涼、常松保乃加、井上貴久、後藤廣平、宮本理人、船本雅文、藤野裕道、池田康将、土屋浩一郎
2. 発表標題 5-FUの膵がん細胞増殖抑制効果に対する低酸素 PARP活性化シグナルの役割
3. 学会等名 第266回徳島医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 今西正樹、山下竜介、福島圭穂、近藤宏祐、中山涼、常松保乃加、井上貴久、後藤廣平、船本雅文、藤野裕道、池田康将、土屋浩一郎
2. 発表標題 5-FU膀胱がん細胞増殖抑制効果に対する低酸素-PARPシグナルの役割
3. 学会等名 第52回心脈管作動物質学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 五味 義輝, 今西 正樹, 井上 貴久, 福島 圭穂, 山下 竜介, 中山 涼, 野島 雅孝, 近藤 宏祐, 澤村 貴哉, 常松 保乃加, 後藤 廣平, 宮本 理人, 船本 雅文, 藤野 裕道, 池田 康将, 土屋 浩一郎
2. 発表標題 TCGAがんゲノムビッグデータとGEOトランスクリプトームデータとの統合解析による膀胱がん治療標的候補遺伝子の探索
3. 学会等名 生体機能と創薬シンポジウム2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 澤村 貴哉, 今西 正樹, 福島 圭穂, 山下 竜介, 近藤 宏祐, 中山 涼, 五味 義輝, 常松 保乃加, 井上 貴久, 後藤 廣平, 宮本 理人, 船本 雅文, 藤野 裕道, 池田 康将, 土屋 浩一郎
2. 発表標題 PARP阻害剤は低酸素環境下において生じる5-FU治療効果の減弱を回復させる
3. 学会等名 生体機能と創薬シンポジウム2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 今西 正樹, 井上 貴久, 福島 圭穂, 五味 義輝, 檜垣 良也, 野島 雅孝, 近藤 宏祐, 澤村 貴哉, 山下 竜介, 中山 涼, 常松 保乃加, 後藤 廣平, 宮本 理人, 船本 雅文, 藤野 裕道, 池田 康将, 土屋 浩一郎
2. 発表標題 TCGAがんゲノムビッグデータによる膀胱がん悪性化因子の網羅的探索と腫瘍血管新生の寄与についての検討
3. 学会等名 第53回日本心脈管作動物質学会年会
4. 発表年 2023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
---------	---------