

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 27 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591955

研究課題名(和文) GSK3 阻害による消化器がん治療法の開発と分子機構の解明

研究課題名(英文) Therapeutic effect of the GSK3beta-inhibiting drugs against gastrointestinal cancer and the elucidation of a molecular mechanism

研究代表者

廣瀬 まゆみ (Hirose, Mayumi)

金沢大学・がん進展制御研究所・研究員

研究者番号：00353524

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：GSK3betaは糖代謝や細胞の増殖、分化、接着、運動などに関する多機能酵素である。現在、開発が進められているGSK3beta阻害剤は治療薬に至っていない。GSK3beta阻害剤のがん治療への早期応用には日常診療で処方されている既存医薬品をがん治療に転用できるのではないかとこの着想から、GSK3beta阻害効果が判明した既存医薬品について、消化器がんを対象にがん抑制効果を検討した。医薬品は単剤使用で抗腫瘍活性を示し、併用使用でより効果的であった。以上の結果は、既存医薬品をDrug Repositioningとして利用した安全性の高い消化器がん治療臨床試験開始の足がかりになることを示唆した。

研究成果の概要(英文)：GSK3beta is a serine/threonine protein kinase that implicated in diseases including cancer. To date, there are no clinical trial reports describing the use of specific GSK3beta inhibitors for cancer, while our results of basic research have identified GSK3beta as a tumor promoter and druggable target for cancer treatment. Several drugs prescribed for diseases other than cancer were shown to have an inhibitory effect against GSK3beta. Here we show that inhibition of GSK3beta by using these drugs, alone or in combination, compromises survival, proliferation, migration and invasion of human colon and pancreatic cancer cells. We also show that the combination of GSK3beta-inhibiting drugs is more effective than the single agent treatment against both types of cancer cell lines. Our findings warrant further investigation and preclinical study on the effective combination of GSK3beta-inhibiting drugs and that with chemotherapeutic agents for treatment of gastrointestinal cancer.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：消化器外科学

キーワード：消化器がん 大腸がん すい臓がん GSK3beta Drug repositioning 医薬品 細胞運動

1. 研究開始当初の背景

我々は、がん抑制分子と認識されてきた glycogen synthase kinase (GSK)3beta の分子機構の解明を進めてきた。GSK3beta は蛋白質セリン・スレオニンリン酸化酵素であり、糖代謝や細胞の増殖、分化、接着、運動などに関与する多機能酵素であることが知られている。そして、GSK3beta 阻害による細胞の生存や増殖抑制効果を神経膠芽腫や大腸がんをはじめとする各種消化器がん細胞と動物実験で実証してきた。しかし、現在、開発が進められている GSK3beta 阻害剤は治療薬に至っていない。

2. 研究の目的

本邦の現状では新規薬剤の開発にはリスクを伴う。既存医薬品の GSK3beta 阻害効果のがん治療への早期応用には日常診療で処方されている GSK3beta 阻害作用を示す既存医薬品をがん治療に転用できるのではないかとこの着想に至った。そこで、本研究では、既存医薬品をがん治療へ転用するための抗腫瘍効果測定と既存医薬品のスクリーニングを行う。本研究では、将来国民の罹患率が一位となる大腸がん、および難治性とされる膵がんについて標的とした。

3. 研究の方法

(1) GSK3beta 阻害医薬品の効果をグリコーゲン合成酵素のリン酸化レベルの変化を指標にウエスタンによりスクリーニングを行なった。また、スクリーニング方法については、臨床検査現場で簡易にスクリーニングが行なえるように、簡便なサンドイッチ ELISA 方法の開発を行なった。

(2) スクリーニングにより、GSK3beta 活性阻害作用が確認できた既存医薬品について、大腸がん細胞およびすい臓がんの生存を MTT assay で検討した。さらに、トランスウェルを用いた方法により細胞運動・細胞浸潤を検討した。抗腫瘍効果について、既存医薬品の単剤および併用使用による効果を検討した。

4. 研究成果

(1) まず、GSK3beta 阻害医薬品の効果をグリコーゲン合成酵素のリン酸化レベルの変化を指標に解析した。その結果、すでに臨床使用されている医薬品のオランザピン[向精神薬]、シメチジン[ヒスタミン H2 受容体阻害剤]、バルプロン酸[抗てんかん薬]、ヒドロキシクロロキン[SLE、抗マラリア治療薬]、ゲミフロキサシン[抗菌剤]が薬理的濃度の範囲で濃度依存的にグリコーゲン合成酵素のリン酸化を阻害したことから、GSK3beta 活性阻害作用が確認できた。

(2) (1) で GSK3beta 活性阻害作用をスクリーニングした後に、医薬品処理による大腸がん細胞およびすい臓がんの生存への影響を MTT assay で検討したところ、これらの医薬品は薬理的濃度の範囲で、がん細胞の生存

を阻害した。さらに、トランスウェルを用いた方法により細胞運動・細胞浸潤を検討した結果、細胞運動・細胞浸潤を抑制した。これら、医薬品の抗腫瘍効果は単剤使用よりも、ある組み合わせの併用使用が効果が高いことがわかった。特にヒドロキシクロロキンと他の薬剤との組合せることにより高い抗腫瘍効果が得られた。以上の結果は、医薬品を Drug repositioning として利用した安全性と有効性の高い GSK3beta を標的とした大腸がんおよび膵がん治療のための臨床試験開始の足がかりとなることを示した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)

(1) Pyko IV, Nakada M, Sabit H, Teng L, Furuyama N, Hayashi Y, Kawakami K, Minamoto T, Fedulau AS, Hamada J :

Glycogen synthase kinase 3beta

inhibition sensitizes human

glioblastoma cells to temozolomide by

affecting O6-methylguanine DNA

methyltransferase promoter

methylation via c-Myc signaling.

Carcinogenesis. 2013, 34(10):2206-17.

(査読あり)

doi: 10.1093/carcin/bgt182.

URL:

<http://www.kanazawa-u.ac.jp/~ganken/shuyoseigy/>

(2) Kitano Y., Shimasaki T., Chikano Y., Nakada M., Hirose M., Higashi T.,

Ishigaki Y., Endo Y., Takino T., Sato H., Sai Y, Miyamoto K., Motoo Y,

Minamoto T. (2013)

Aberrant glycogen synthase kinase 3 beta is involved in pancreatic cancer cell invasion and resistance to therapy

PLoS One, 8(2): e55289. (査読あり)

doi:10.1371/journal.pone.0055289

URL:

<http://www.kanazawa-u.ac.jp/~ganken/shuyoseigy/>

(3) Shimasaki T, Ishigaki Y, Nakamura Y, Takata T, Nakaya N, Nakajima H, Sato I, Zhao X, Kitano A, Kawakami K, Tanaka T, Takegami T, Tomosugi N, Minamoto T, Motoo Y.: 5.Glycogen synthase kinase 3beta inhibition sensitizes pancreatic cancer cells to gemcitabine.

J Gastroenterol. 2012, 47(3):321-33.
doi: 10.1007/s00535-011-0484-9. (査読あり)

URL:

http://www.kanazawa-u.ac.jp/~ganken/s_huyoseigyoo/

(4) Motoo Y, Shimasaki T, Ishigaki Y, Nakajima H, Kawakami K, Minamoto T.: Metabolic disorder, inflammation, and deregulated molecular pathways converging in pancreatic cancer development: implications for new therapeutic strategies. Cancers (Basel). 2011, 24;3(1):446-60. (査読あり)
doi: 10.3390/cancers3010446.

URL:

<http://www.kanazawa-u.ac.jp/~ganken/shuyoseigyoo/>

〔学会発表〕(計6件)

(1) Mayumi Hirose, Takahiro Domoto, Toshinari Minamoto :Therapeutic effect of the cocktail of GSK3beta-inhibiting drugs against colon cancer : 金沢国際がん生物学シンポジウム&アカデミア創薬シンポジウム、2014年1月23日(木)・24日(金)、金沢・エクセル東急

(2) Mayumi Hirose, Yumi Ito, Takahiro Domoto , Toshinari Minamoto :
Therapeutic effect of the GSK3beta-inhibiting drugs against colon cancer : GSK3beta阻害作用を有する医薬品の大腸がんに対する治療効果、第72回日本癌学界学術総会、2013年10月3日-5日、横浜・パシフィコ横浜

(3) Domoto Takahiro1, Mayumi Hirose,

Tomoyoshi Soga, Hiroyasu

Esumi, Toshinari Minamoto:

Putative pathological role of GSK3beta in aberrant glucose metabolism in colon cancer cells : 大腸がん細胞の糖代謝特性におけるGSK3betaの病的作用

第72回日本癌学界学術総会、2013年10月3日-5日、横浜・パシフィコ横浜

(4) 堂本貴寛、廣瀬まゆみ、紙健次郎、曾我朋義、江角浩安、源利成 : 大腸がんの糖代謝経路における GSK3beta の機能解析、第24回日本消化器癌発生学会総会、2013年9月5、6日、金沢・石川県立音楽堂

(5) 廣瀬まゆみ、堂本貴寛、伊藤友美、源利成 : 既存医薬品を用いた GSK3beta 阻害による大腸がん治療法の開発、第24回日本消化器癌発生学会総会、2013年9月5、6日、金沢・石川県立音楽堂

(6) 廣瀬まゆみ、堂本貴寛、伊藤有美、川上和之、源利成 : GSK3betaを標的とした既存医薬品を用いた大腸がん治療の開発。第78回大腸癌研究会、2013年1月18日、東京・都市センターホテル

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況(計0件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :

番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

金沢大学がん進展制御研究所臓器制御研究
分野
<http://www.kanazawa-u.ac.jp/~ganken/shuyoseigyō/>
金沢大学がん進展制御研究所
<http://www.kanazawa-u.ac.jp/~ganken/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

廣瀬 まゆみ (Hirose Mayumi)
金沢大学・がん進展制御研究所・博士研究
員

研究者番号：00353524

(2) 研究分担者

源 利成 (Minamoto Toshinari)
金沢大学・がん進展制御研究所・教授

研究者番号：50239323

川上 和之 (Kawakami Kazuyuki)
東京女子医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00293358

(3) 連携研究者

()

研究者番号：