

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年4月14日現在

機関番号：32643

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23791480

研究課題名（和文）脂肪酸合成酵素阻害剤による新しい大腸癌肝転移治療法の開発

研究課題名（英文） Development of new colorectal cancer treatment using of fatty acid synthase inhibitors

研究代表者

村田 聡一郎（MURATA SOICHIRO）

帝京大学・医学部・講師

研究者番号：40436275

研究成果の概要（和文）：脂肪酸合成酵素阻害剤がヒト大腸癌細胞株に抑制効果があることをセルレニンとエピガロカテキンを用いて実証した。セルレニンとオキサリプラチンには相乗効果が認められ、ヒト大腸癌移植マウスモデルにおいてもそれぞれの薬剤を半減することに成功した。またエピガロカテキンはヒト大腸癌肝転移モデルマウスにおいて著明な肝転移巣縮小効果が見られた。これらのことから脂肪酸合成酵素阻害剤は有効な大腸癌治療薬剤と考えられた。

研究成果の概要（英文）：Fatty acid synthase is highly expressed in many kinds of human cancers. Cerulenin, a natural inhibitor of fatty acid synthase, induced apoptosis in human colon cancer cell lines. In xenotransplanted SCID mice, the cerulenin+oxaliplatin group significantly inhibited tumor progression. By using EGCG, liver metastasis of human colon cancer was extremely reduced in SCID mice. Based on these studies, inhibiting fatty acid synthase would be an effective strategy to treat unresectable colorectal cancer.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：大腸癌、肝転移、脂肪酸合成酵素

1. 研究開始当初の背景

大腸癌は食生活の欧米化に伴って近年増加の著しい悪性腫瘍であり、特に女性では癌死のトップになっている。今後20年間は大腸癌の増加傾向が続くとみられ、その征圧が社会的にも強く望まれている。検診での発見率は全症例の約1割程度と見られ、いまだに有症状の進行癌が多いのが現状である。大腸癌の予

後を最も左右する因子が肝転移であり、世界的には大腸癌の全病期において4割近くの人が肝転移を発症するといわれている。大腸癌の肝転移の治療は肝切除もしくは化学療法であるが、その費用は高額であり医療費の高騰につながっている。

腫瘍細胞は増殖するために脂肪酸合成酵素によって作られる遊離脂肪酸が必須である

(Menendez JA PNAS 2004)。脂肪酸合成酵素阻害剤投与により腫瘍細胞内で小胞体ストレスが起きることによって腫瘍がアポトーシスを起こすことが次第に明らかになりつつあり、いろいろな癌種において検討されはじめています。このように脂肪酸合成酵素阻害剤は新しい抗癌剤として注目を集め始めているが、大腸癌や大腸癌の肝転移に対する治療効果の検討はまだ十分に解析されていないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究は脂肪酸合成酵素阻害剤に着目し、副作用のない安全で強力な大腸癌肝転移治療法を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 脂肪酸合成酵素阻害剤のヒト大腸癌細胞への効果の確認

ヒト大腸癌細胞株HCT116およびRKOに脂肪酸合成酵素阻害剤セルレニンおよびエピガロカテキンを添加し、抗腫瘍効果を検討する。殺細胞効果としてWST-8、増殖抑制効果としてBrdU試験を行う。

(2) 脂肪酸合成酵素阻害剤セルレニンとFOLFOXとの相互作用の検討

現在大腸癌肝転移に対する化学療法で最も標準的なFOLFOXレジメンで用いられているオキサリプラチンとの相互作用を見るため、HCT116およびRKOにセルレニンとオキサリプラチンを添加して抗腫瘍効果を検討する。またメカニズム解析として脂肪酸合成酵素、リン酸化Akt、p38、p53、p21、活性化Caspase 3の発現を検討する。

脂肪酸合成酵素阻害剤セルレニンとオキサリプラチンのin vivoでの効果をヒト大腸癌細胞株HCT116のSCIDマウスへの移植モデルで確認する。

(3) ヒト大腸癌肝転移モデルマウスに対する

エピガロカテキンの抑制効果

ヒト大腸癌細胞株RKOをSCIDマウスの脾臓に注入して肝転移モデルマウスを作成する。エピガロカテキンを腹腔内投与して肝転移巣の面積を測定し、抗腫瘍効果を検討する。

4. 研究成果

(1) ヒト大腸癌細胞株HCT116およびRKOにセルレニン (Figure 1) およびエピガロカテキン (Figure 2) を添加すると著明な抗腫瘍効果が認められた。

Figure 1 セルレニン投与によるヒト大腸癌抑制効果

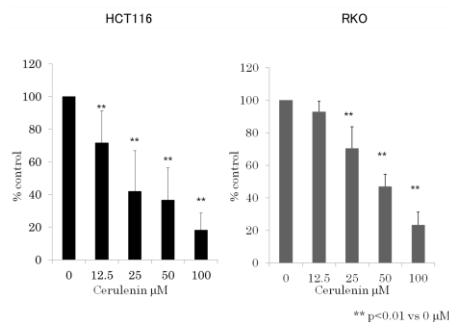
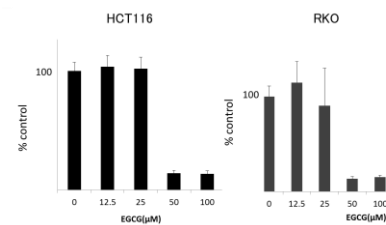
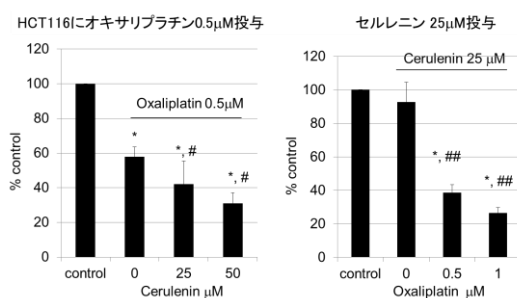


Figure 2 エピガロカテキン投与によるヒト大腸癌抑制効果



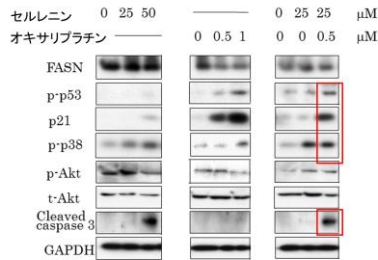
(2) HCT116にオキサリプラチンを投与すると濃度依存的に抗腫瘍効果が認められた。セルレニンとオキサリプラチンを併用して作用を確認したところ、セルレニンはオキサリプラチンの抗腫瘍効果を増強した (Figure 3)。

Figure 3 セルレニンとオキサリプラチンの併用効果の検討



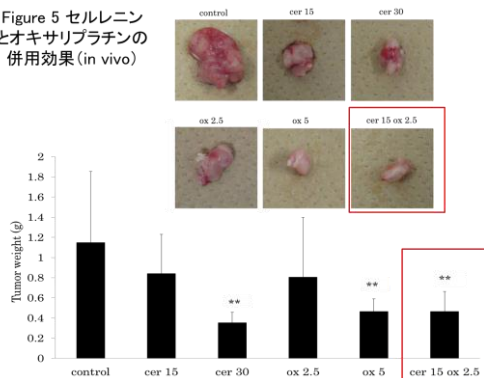
セルレニンの添加によりヒト大腸癌細胞株 HCT116のp38活性化とAkt抑制が起こり活性化 Caspase 3が増加した。オキサリプラチンは p53とp21の活性化を引き起こした。セルレニンとオキサリプラチンの併用によりp38, p53, p21が活性化し活性型のCaspase 3がさらに増加した (Figure 4)。

Figure 4 セルレニンとオキサリプラチンの併用効果のメカニズム解析



HCT116をSCIDマウスの皮下に移植した系でセルレニンとオキサリプラチンの相乗効果を検討した。セルレニン30mg/kg, オキサリプラチン5mg/kgを4回投与すると著明な抗腫瘍効果が見られた。セルレニン15mg/kg, オキサリプラチン2.5mg/kgでは有意な抗腫瘍効果は見られなかった。しかし、セルレニン15mg/kgとオキサリプラチン2.5mg/kgを併用すると有意な抗腫瘍効果が認められた。このことからセルレニン、オキサリプラチンの併用によりそれぞれの投与量が半減できることが確認された (Figure 5)。

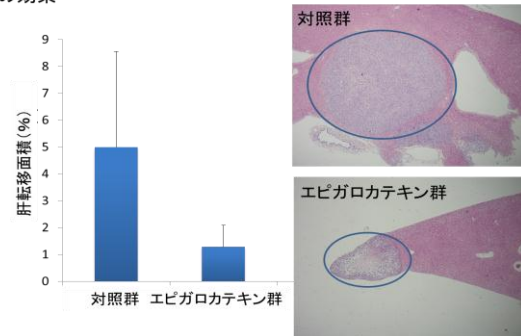
Figure 5 セルレニンとオキサリプラチンの併用効果 (in vivo)



(3) ヒト大腸癌肝転移モデルマウスに対するエピガロカテキンの抑制効果

エピガロカテキン投与により肝転移面積は著明に縮小した (Figure 6)。

Figure 6 ヒト大腸癌肝転移モデルにおけるエピガロカテキンの効果



これらのことから脂肪酸合成酵素阻害剤セルレニンとオキサリプラチンは大腸癌抑制効果を有することが明らかとなった。セルレニンは現在大腸癌肝転移に対するキードラッグであるオキサリプラチンの作用増強効果を認めた。オキサリプラチンは末梢神経障害が治療継続の足かせとなるが、セルレニンを併用することでより低濃度で治療を継続させることが可能になると考えられた。またエピガロカテキンは緑茶に含まれる安価な製剤で、今後化学療法のコスト化に貢献できる期待の薬剤になりうると考えられた。

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 11 件)

- Shiragami R, Murata S, Kosugi C, Tezuka T, Yamazaki M, Hirano A, Yoshimura Y, Suzuki M, Shuto K, Koda K. Enhanced antitumor activity of cerulenin combined with oxaliplatin in human colon cancer cells. International Journal of Oncology. In press. 査読あり
- Takahashi K, Kozuma Y, Suzuki H, Tamura T, Maruyama T, Fukunaga K, Murata S, Ohkohchi N. Human platelets promote

- liver regeneration with Kupffer cells in SCID mice. *J Surg Res.* 180(1);62-72. 2013. 査読あり
- ③ Maruyama T, Murata S, Takahashi K, Tamura T, Nozaki R, Ikeda N, Fukunaga K, Oda T, Sasaki R, Ohkohchi N. Platelet transfusion improves liver function in patients with chronic liver disease and cirrhosis. *Tohoku J Exp Med.* 229(3);213-20. 2013. 査読あり
- ④ Tamura T, Kondo T, Pak S, Nakano Y, Murata S, Fukunaga K, Ohkohchi N. Interaction between Kupffer cells and platelets in the early period of hepatic ischemia-reperfusion injury--an in vivo study. *J Surg Res.* 178(1);443-451. 2012 査読あり
- ⑤ Matsuzaka T, Atsumi A, Matsumori R, Nie T, Shinozaki H, Suzuki-Kemuriyama N, Kuba M, Nakagawa Y, Ishii K, Shimada M, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Takekoshi K, Sone H, Yahagi N, Suzuki H, Murata S, Nakamuta M, Yamada N, Shimano H. Elovl6 promotes nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 56(6); 2199-2208. 2012 査読あり
- ⑥ Nozaki R, Murata S, Nowatari T, Maruyama T, Ikeda N, Kawasaki T, Fukunaga K, Ohkohchi N. Effects of thrombopoietin on growth of hepatocellular carcinoma: Is thrombopoietin therapy for liver disease safe or not? *Hepatol Res.* In press. 2012 査読あり
- ⑦ Takahashi K, Murata S, Ohkohchi N. Novel therapy for liver regeneration by increasing the number of platelets. *Surg Today.* In press. 2012. 査読なし
- ⑧ Ikeda N, Murata S, Maruyama T, Tamura T, Nozaki R, Kawasaki T, Fukunaga K, Oda T, Sasaki R, Homma M, Ohkohchi N. Platelet derived adenosine 5'-triphosphate suppresses activation of human hepatic stellate cell: In vitro study. *Hepatol Res.* 42(1);91-102. 2012 査読あり
- ⑨ Nagai K, Kohno K, Chiba M, Pak S, Murata S, Fukunaga K, Kobayashi A, Yasue H, Ohkohchi N. Differential expression profiles of sense and antisense transcripts between HCV-associated hepatocellular carcinoma and corresponding non-cancerous liver tissue. *Int J Oncol.* 40(6);1813-1820. 2012 査読あり
- ⑩ Sasaki R, Kondo T, Oda T, Murata S, Wakabayashi G, Ohkohchi N. Impact of three-dimensional analysis of multidetector row computed tomography cholangioportography in operative planning for hilar cholangiocarcinoma. *Am J Surg.* 202(4);441-448. 2011 査読あり
- ⑪ Chiba M, Murata S, Myronovych A, Kohno K, Hiraiwa N, Nishibori M, Yasue H, Ohkohchi N. Elevation and characteristics of Rab30 and S100a8/S100a9 expression in an early phase of liver regeneration in the mouse. *Int J Mol Med.* 27(4);567-574. 2011 査読あり

[学会発表] (計 6 件)

- ① 白神 梨沙、村田 聡一郎、小杉 千弘、

- 平野 敦史、吉村 雪野、山崎 将人、鈴木 正人、首藤 潔彦、幸田 圭史。
ヒト大腸癌細胞 HCT116 に対する脂肪酸合成酵素阻害剤と FOLFOX の併用効果の検討。第 113 回日本外科学会定期学術集会。2013. 4. 11. 福岡
- ② 村田 聡一郎、小杉 千弘、手塚 徹、山崎 将人、平野 敦史、幸田 圭史。
大腸癌細胞に対する脂肪酸合成酵素阻害剤とオキサリプラチンの相乗効果の検討。第 67 回日本大腸肛門病学会学術集会。2012. 11. 17. 福岡
- ③ 村田 聡一郎、幸田 圭史、小杉 千弘、手塚 徹、山崎 将人、今井 健一郎、平野 敦史、安田 秀喜。脂肪酸合成酵素阻害剤セルレニン[®]はオキサリプラチンの効果を増強しヒト大腸癌細胞を抑制する。第 20 回日本消化器関連学会週間。2012. 10. 13. 神戸
- ④ 丸山 岳人、村田 聡一郎、小川 光一、野渡 剛之、田村 孝史、野崎 礼史、大河内 信弘。
Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) はヒト大腸癌肝転移を抑制する。第 48 回日本肝癌研究会。2012. 7. 21. 金沢
- ⑤ 丸山 岳人、村田 聡一郎、野渡 剛之、高橋 一広、野崎 礼史、池田 直哉、大河内 信弘。
Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) はヒト大腸癌肝転移を抑制する。第 48 回日本肝臓学会総会。2012. 6. 7. 金沢
- ⑥ 丸山 岳人、村田 聡一郎、田村 孝史、高橋 一広、野崎 礼史、永井 健太郎、池田 直哉、高野 恵輔、大河内 信弘。
ヒト大腸癌肝転移モデルを用いた Epigallocatechin-3-Gallate の抗腫瘍効果の検討。第 19 回日本消化器関連学会週間。2011. 10. 23. 福岡

〔図書〕 (計 1 件)

- ① Maruyama T, Murata S, Ohkohchi N. Treatment for liver metastases from colorectal cancer with inhibitor of fatty acid synthase. Horizons in cancer research vol 49, Editor Hiroto S. Watanabe, chapter IV, p. 153-p. 178, 2012 Nova Science Publishers Inc.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村田 聡一郎 (MURATA SOICHIRO)
帝京大学・医学部・講師
研究者番号：40436275