

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：17201

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2013

課題番号：25670452

研究課題名(和文)包接化合物シクロデキストリンの抗腫瘍作用とそのメカニズム解析

研究課題名(英文)Anticancer effect of 2-Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin

研究代表者

久保田 寧 (Kubota, Yasushi)

佐賀大学・医学部・講師

研究者番号：60570413

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円、(間接経費) 810,000円

研究成果の概要(和文)：シクロデキストリン(CyDs)は、内腔に種々の分子を包接することができる環状オリゴ糖で、実験系においては細胞膜脂質ラフトからコレステロールを引き抜き、その構造を破壊する。水溶性で生体適合性に優れ、小児の難治性脂肪蓄積病であるNiemann-Pick病C型に既に使用されているHP-b-CyDに着目し、その抗腫瘍効果を白血病モデルで検討した。In vitroでは、HP-b-CyD使用群でアポトーシスとG2/M期での細胞周期停止をきたした。In vivoではHP-b-CyD投与群が無治療群と比較して有意に生存期間の延長が見られた。したがってHP-b-CyDは抗腫瘍剤として有望である。

研究成果の概要(英文)：We investigated anticancer activities of HP-b-CyD using BCR-ABL-induced leukemia models. We show that HP-b-CyD-mediated cholesterol efflux inhibits leukemic cell proliferation by induction of apoptosis and cell-cycle arrest. Furthermore, we found that HP-b-CyD is also effective to inhibit the proliferation of CML cells harboring the T315I mutation and stem cell-like CML cells. In vivo, systemic administration of HP-b-CyD in murine BCR-ABL-induced leukemia models suppressed leukemia progression, resulting in improved survival. Based on these novel findings, we provide evidence that HP-b-CyD is a promising anticancer agent.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・血液内科学

キーワード：血液腫瘍学 抗腫瘍薬 コレステロール 脂質ラフト シクロデキストリン 白血病 アポトーシス 細胞周期停止

1. 研究開始当初の背景

デンプンに酵素を作用させて得られるシクロデキストリン(cyclodextrin: CyD) は、包接剤として使用されている。Methyl- β -CyD (M- β -CyD)は、腫瘍細胞で発現が上昇する脂質ラフトからコレステロールを遊離させることで、ラフト阻害剤として利用され (Cell, 2001)、M- β -CyD が担癌マウスにおいて抗腫瘍効果を示すとの報告がある (Br J Cancer, 1998)。ごく最近、慢性骨髄性白血病 (chronic myeloid leukemia: CML) においても *in vitro* 実験のみだが、M- β -CyD が CML 細胞のアポトーシスを誘導し、かつ分子標的薬剤 imatinib と組み合わせることで相乗効果を有することが報告された (Anticancer Drugs, 2012)。しかし M- β -CyD は高濃度条件では毒性が強く、注射剤への応用は困難である。一方、2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CyD) は安全性が高く、抗真菌薬として世界的に広く使われている itraconazole などの HP- β -CyD 含有注射剤が市販されているだけでなく、未だ世界で数例だが (佐賀大学では 1 例に使用中) 製剤添加剤としてではなく、そのもの単体が、既に Niemann-Pick (NP) 病 C 型の治療薬として使用されている (<http://webofhope.com/>)。そこで、申請者らは HP- β -CyD の抗腫瘍作用について検討を志した。

2. 研究の目的

本研究では HP- β -CyD の抗腫瘍作用、とそのメカニズムを明らかにし、白血病 (特に高齢者) に対する臨床試験を行うに足る結果を出すことを主な目的とする。

3. 研究の方法

(*in vitro*) 様々な白血病細胞株を用いて、IC50 や増殖曲線を求めた。アポトーシスアッセイならびに細胞周期測定 (Annexin V) も行った。また、1 つの評価モデルとして、イマチニブ耐性細胞株や低酸素適応細胞株を用いて、それらの親株と比較して HP- β -CyD の細胞増殖抑制効果に差があるかどうかを検討した。(*in vivo*) BCR-ABL 関連白血病モデルマウスを作成 (同種移植、異種移植モデルとも) し、無治療群と HP- β -CyD 投与群間でのマウス生存率の比較を行った。

4. 研究成果

腫瘍細胞の急速な増殖にはコレステロールの取り込み増加が必須とされ、コレステロール代謝制御は、新規抗がん剤開発のターゲットとなりうる。シクロデキストリン (CyDs) は、内腔に種々の分子を包接する環状オリゴ糖であり、実験系では細胞膜脂質ラフトからコレステロールを引き抜き、その構造を破壊するのに用いられる。私達は、小児の難治性脂肪蓄積病、Niemann-Pick 病 C 型の治療薬としても既に使われている 2-ヒドロキシプロピル- β -CyD (HP- β -CyD) に着目し、その抗腫瘍効果を検討した。様々な白血病細胞株に対す

る HP- β -CyD の IC50 は 3.86-10.09 mM で、イマチニブ耐性株 (KBM-5/STI, MYL-R) でも親株とほぼ同等であった。また、HP- β -CyD の細胞増殖抑制効果にはアポトーシスと G2/M 期での細胞周期停止が関与していることが判明した。HP- β -CyD は白血病細胞からコレステロールを引き抜くが、代表的なラフト阻害剤、メチル- β -CyD よりもその作用は弱かった。さらに、T315I 変異を有するイマチニブ耐性 CML 細胞株や、白血病幹細胞様性質を示す低酸素適応細胞株に対しても強い増殖抑制効果を示した。BCR-ABL 白血病マウスモデル (同種、異種移植とも) を用いた HP- β -CyD 投与実験では、HP- β -CyD 投与群において vehicle 投与群と比較し、有意な生存期間の延長を認め、かつ HP- β -CyD 投与に伴う溶血などの有害事象は明らかではなかった。以上より、HP- β -CyD はコレステロールを標的とする、副作用の軽微な抗がん剤として有望であると思われる。

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 6 件)

1. 山田 麻里江, 山田 尚友, 久保田 寧, 木村 晋也, 東谷 孝徳, 末岡 榮三朗. 抗 M(IgM+IgG)において抗体価測定時に反応増強剤無添加間接抗グロブリン試験で一部陰性を示した妊婦の 1 例. 日本輸血細胞治療学会誌 2014;60(1):32-37. (査読あり)
2. 末岡 榮三朗, 山田 尚友, 山田 麻里江, 久保田 寧, 吉村 麻里子, 板村 英和, 出 勝, 横尾 眞子, 吉原 麻里, 蒲池 和晴, 北村 浩晃, 進藤 岳郎, 安藤 寿彦, 小島 研介, 東谷 孝徳, 木村 晋也. 電子カルテと輸血管理システムの連携による輸血後鉄過剰症モニタリングプログラムの運用とその課題. 日本輸血細胞治療学会誌 2014;60(1):12-17. (査読あり)
3. Yoshihara M, Itamura H, Fukushima N, Itoh M, Furukawa K, Nagatomo D, Kamachi K, Kitamura H, Shindo T, Kubota Y, Sueoka E, Morita S, Ichinohe T, Kimura S. Therapeutic management in cardiac lymphoma. Leuk Lymphoma. 2014 May;55(5):1215-1217. Epub 2013 Sep 3. (査読あり)
4. Kubota Y, Kimura S. Regulators of the proliferation of hematopoietic stem and progenitor cells during hematopoietic regeneration. Stem Cell Biology in Normal Life and Diseases. 2013 May: 3-15. (査読あり)
5. Sueoka E, Sueoka-Aragane N, Sato A, Ide M, Nakamura H, Sotomaru Y, Taya C, Yonekawa H, Kitagawa T, Kubota Y,

Kimura S, Nakachi K, Tanimoto K. Development of lymphoproliferative diseases by hypoxia inducible factor-1alpha is associated with prolonged lymphocyte survival. PLoS One. 2013 Apr 12;8(4):e57833. (査読あり)

- 6 . 末岡 榮三朗, 山田 尚友, 山田 麻里江, 久保田 寧, 蒲田 千紗子, 吉村 麻里子, 板村 英和, 久富 崇, 福島 伯泰, 出 勝, 横尾 眞子, 吉原 麻里, 蒲池 和晴, 北村 浩晃, 進藤 岳郎, 一戸 辰夫, 東谷 孝徳, 木村 晋也, 輸血後鉄過剰症の現状と問題点 . 日本輸血細胞治療学会誌 2013;59 (1): 73-78. (査読あり)

〔学会発表〕(計 12 件)

- 1 . Abe O, Yoshihara M, Kubota Y, Sueoka E, Kamachi K, Kitamura H, Itamura H, Nishi M, Shindo T, Fukushima N, Hamazaki Y, Kimura S. Deferasirox in iron -overloaded patients with hematopoietic diseased at Saga University Hospital. 第 75 回日本血液学会学術集会 . 2013 年 10 月 11 日 ~ 13 日、札幌 .
- 2 . 北村浩晃, 久保田 寧, 金子ゆかり, 蒲池和晴, 吉原麻里, 板村英和, 進藤岳郎, 福島伯泰, 安藤寿彦, 末岡榮三朗, 青木洋介, 木村晋也 . 造血器腫瘍患者の中心静脈カテーテル関連血流感染症の発生に環境による違いはあるのか? 第 75 回日本血液学会学術集会 . 2013 年 10 月 11 日 ~ 13 日、札幌 .
- 3 . Kamachi K, Fukushima N, Kitamura H, Yoshihara M, Itamura H, Yoshimura M, Yokoo M, Ide M, Shindo T, Kubota Y, Ando T, Ichinohe T, Sueoka E, Ohshima K, Kimura S. A case of anaplastic large cell lymphoma, ALK-with T-LGL leukemia expressing aberrant phenotype. 第 75 回日本血液学会学術集会 . 2013 年 10 月 11 日 ~ 13 日、札幌 .
- 4 . 末岡榮三朗, 柘植薫, 福島伯泰, 久保田 寧, 吉原麻里, 蒲池和晴, 北村浩晃, 板村英和, 吉村麻里子, 進藤岳郎, 一戸辰夫 . HTLV-1 ウイルス関連疾患診療ネットワーク構築のための佐賀県における総合的な取り組み . 第 75 回日本血液学会学術集会 . 2013 年 10 月 11 日 ~ 13 日、札幌 .
- 5 . Ureshino H, Miyahara M, Kamachi K, Yoshihara M, Kitamura H, Itamura H, Yoshimura M, Yokoo M, Ide M, Kubota Y, Shindo T, Fukushima N, Sueoka E, Kimura S. 10 cases of mogamulizumab treatment for adult T-cell leukemia in Saga prefecture. 第 75 回日本血液学会学術集会 . 2013 年 10 月 11 日 ~ 13 日、札幌 .
- 6 . Hisatomi T, Kondo S, Fukushima N, Matsuishi E, Kubota Y, Shindo T, Gondo H, Kimura S. Efficacy of melphalan/prednisolone/bortezomib (MPB) therapy for patients with multiple myeloma.

第 75 回日本血液学会学術集会 . 2013 年 10 月 11 日 ~ 13 日、札幌 .

- 7 . Yoshihara M, Itamura H, Fukushima N, Kamachi K, Kitamura H, Shindo T, Kubota Y, Sueoka E, Ichinohe T, Kimura S. Therapeutic management of cardiac lymphoma. 第 11 回日本臨床腫瘍学会学術集会 . 2013 年 8 月 29 日 ~ 31 日、仙台国際センター .
- 8 . 柘植 薫, 久保田 寧, 福島 伯, 一戸 辰夫, 木村 晋也, 末岡 榮三朗 . HTLV-1 専門外来におけるカウンセリング体制の整備と運用状況 . 第 61 回日本輸血・細胞治療学会総会 . 2013 年 5 月 16 日 ~ 18 日、パシフィコ横浜 .
- 9 . 末岡 榮三朗, 山田 尚友, 山田 麻里江, 久保田 寧, 福島 伯泰, 東谷 孝徳, 木村 晋也 . 電子カルテと輸血管理システムの連携による輸血後鉄過剰症モニタリングプログラムの運用 . 第 61 回日本輸血・細胞治療学会総会 . 2013 年 5 月 16 日 ~ 18 日、パシフィコ横浜 .
- 10 . 山田 麻里江, 山田 尚友, 東谷 孝徳, 久保田 寧, 木村 晋也, 末岡 榮三朗 . 不規則抗体が新生児に与える影響についての検討 . 第 61 回日本輸血・細胞治療学会総会 . 2013 年 5 月 16 日 ~ 18 日、パシフィコ横浜 .
- 11 . 山田 尚友, 山田 麻里江, 東谷 孝徳, 久保田 寧, 木村 晋也, 末岡 榮三朗 . 輸血部門から院内医療安全管理委員会に報告した「インシデント・アクシデント」レポートの解析 . 第 61 回日本輸血・細胞治療学会総会 . 2013 年 5 月 16 日 ~ 18 日、パシフィコ横浜 .
- 12 . 吉村 麻里子, 板村 英和, 横尾 眞子, 出 勝, 久富 崇, 久保田 寧, 福島 伯泰, 末岡 榮三朗, 木村 晋也 . 成人血球貪食性リンパ組織球症の診断契機と治療 . 第 53 回日本リンパ網内系学会総会 . 2013 年 5 月 16 日 ~ 18 日、国立京都国際会館 .

〔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
<http://www.intmed.med.saga-u.ac.jp/kenkyugroup/group/blood-hp/index.html>

6．研究組織

(1)研究代表者

久保田 寧 (KUBOTA, Yasushi)
佐賀大学・医学部・講師
研究者番号：60570413

(2)研究分担者

該当なし

(3)連携研究者

木村 晋也 (KIMURA, Shinya)
佐賀大学・医学部・教授
研究者番号：80359794

有馬 英俊 (ARIMA, Hidetoshi)
熊本大学・大学院生命科学研究部・教授
研究者番号：50260964

入江 徹美 (IRIE, Tetsumi)
熊本大学・大学院生命科学研究部・教授
研究者番号：60150546