

論 文 内 容 要 旨

題目 High antitumor activity of pladienolide B and its derivative
in gastric cancer
(プラジエノライドB及びその誘導体は胃癌に対して高い抗腫瘍
活性を有する)

著者 Momoko Sato, Naoki Muguruma, Tadahiko Nakagawa, Koichi
Okamoto, Tetsuo Kimura, Shinji Kitamura, Hiromi Yano,
Katsutaka Sannomiya, Takahiro Goji, Hiroshi Miyamoto,
Toshiya Okahisa, Hiroaki Mikasa, Satoshi Wada, Masao
Iwata, Tetsuji Takayama

平成 26 年発行 Cancer Science に掲載予定

内容要旨

プラジエノライドBはスプライシングを阻害することにより抗腫瘍活性を呈する新しい抗腫瘍薬であり、肺癌や乳癌に抗腫瘍活性を示すことが報告されている。しかし、胃癌に対する抗腫瘍活性や初代培養細胞に対する抗腫瘍活性を調べた研究はなく、その効果予測因子に関する研究も報告されていない。そこで本研究では、まず胃癌培養細胞株および胃癌症例の癌性腹水から得られた初代培養癌細胞を用いて、プラジエノライドB及びその誘導体の *in vitro* 及び *in vivo* における抗腫瘍活性を検討した。6種類のヒト胃癌培養細胞株に対するプラジエノライドBとその誘導体の抗腫瘍効果をMTTアッセイにより検討したところ、 IC_{50} はそれぞれ $1.6 \pm 1.2 \text{ nM}$ 、 $1.2 \pm 1.1 \text{ nM}$ であり、高い抗腫瘍活性を示した。胃癌12症例から得られた初代培養癌細胞に対するプラジエノライドB誘導体の IC_{50} は $4.9 \pm 4.7 \text{ nM}$ であり、培養細胞と同様に高い抗腫瘍効果を認めた。胃癌3症例から得られた初代培養癌細胞を用いて計18匹のマウスにxenograftを作製し、プラジエノライドB誘導体の腹腔内投与を行ったところ、薬剤投与後2週間以内に全ての腫瘍は肉眼的に完全に消失し、マウスの病理組織からもすべての腫瘍が完全に消失していることを確認した。50日後においても腫瘍の再発は認められず、全例で完全治癒となった。

プラジエノライドB及びその誘導体の作用機序を検討するため、ヒト胃癌細胞株MKN74に *in vitro* でプラジエノライドB誘導体を添加して4時間培養し、

様式(8)

RNA を抽出して複数の遺伝子の RT-PCR を行ったところ、いずれもスプライシングの不完全な未成熟な mRNA が同定された。同様に、MKN74 を移植した SCID マウス (xenograft モデル) にプラジエノライド B 誘導体を腹腔内投与し、腫瘍を摘出して RNA を調べたところ、未成熟な mRNA が同定された。また、MKN74 細胞にプラジエノライド B 誘導体を添加して 48 時間培養して TUNEL 染色を行ったところ、用量依存的にアポトーシスが増加した。同様に、プラジエノライド B 誘導体を投与したマウスの xenograft ではアポトーシスが認められた。

次いで、プラジエノライド B 誘導体の抗腫瘍効果を予測するバイオマーカーを検索するため、前述の胃癌 12 症例より採取した生検組織を用いて各種細胞周期制御因子の免疫染色を行った。その結果、 IC_{50} の低い症例では、高い症例に比べて p16 の陽性率は有意に高く、サイクリン E の陽性率は高い傾向を認めた。つまり、p16 及びサイクリン E の発現が、プラジエノライド B の有効性を示すバイオマーカーになりうることが示唆された。

本研究では、プラジエノライド B 及びその誘導体が、ヒト胃癌細胞株のみならず、胃癌の癌性腹水から得られた初代培養細胞に対しても *in vitro* 及び *in vivo* で高い抗腫瘍活性を示すことを見出した。また、プラジエノライド B は、胃癌細胞に RNA スプライシングの阻害を来し、アポトーシスを誘導することが明らかとなった。さらに、細胞周期制御因子である p16 及びサイクリン E はプラジエノライド B の抗腫瘍効果を予測するバイオマーカーになりうることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1186 号	氏名	佐藤 桃子
審査委員	主査 六反 一仁 副査 片桐 豊雅 副査 西岡 安彦		

題目 High antitumor activity of pladienolide B and its derivative
in gastric cancer

(プラジェノライドB及びその誘導体は胃癌に対して高い抗腫瘍
活性を有する)

著者 Momoko Sato, Naoki Muguruma, Tadahiko Nakagawa, Koichi
Okamoto, Tetsuo Kimura, Shinji Kitamura, Hiromi Yano,
Katsutaka Sannomiya, Takahiro Goji, Hiroshi Miyamoto,
Toshiya Okahisa, Hiroaki Mikasa, Satoshi Wada, Masao Iwata,
Tetsuji Takayama
平成26年発行 Cancer Science に掲載予定
(主任教授 高山哲治)

要旨 プラジェノライドBはスプライシングを阻害することにより抗
腫瘍活性を呈する新しいタイプの抗腫瘍薬であり、肺癌や乳癌に
抗腫瘍活性を示すことが報告されている。しかし、胃癌に対する
抗腫瘍効果や初代培養胃癌細胞に対する抗腫瘍活性を調べた研
究は無く、その効果予測因子も報告されていない。そこで本研究
では、ヒト胃癌細胞株および胃癌症例の癌性腹水から得られた初
代培養胃癌細胞を用いて、プラジェノライドB及びその誘導体の
in vitro 及び *in vivo*における抗腫瘍活性を検討した。また、
プラジェノライドB誘導体を用いて作用機序の詳細を調べるとと
もに、その効果を予測するバイオマーカーの検索を行った。得ら

れた結果は以下の通りである。

1. ヒト胃癌細胞株(6種類)に対するプラジェノライドB及びその誘導体の IC_{50} は、それぞれ 1.6 ± 1.2 nMと 1.2 ± 1.1 nMであり、いずれも高い抗腫瘍活性を示した。
2. 胃癌12症例の癌性腹水より得られた初代培養胃癌細胞に対するプラジェノライドB誘導体の IC_{50} は 4.9 ± 4.7 nMであり、高い抗腫瘍活性を示した。
3. 胃癌3症例の腹水初代培養胃癌細胞をSCIDマウス(18匹)に接種してxenograftを作製し、プラジェノライドB誘導体を投与したところ、いずれの腫瘍も完全に消失した。
4. プラジェノライドB誘導体は、*in vitro*及び*in vivo*において胃癌細胞のpre-mRNAのスプライシングを阻害し、アポトーシスを誘導した。
5. 胃癌組織におけるp16やサイクリンEが高発現している症例では、プラジェノライドB誘導体の抗腫瘍活性がより高いことが示された。

以上の結果により、プラジェノライドB及びその誘導体は胃癌細胞に対して*in vitro*及び*in vivo*で高い抗腫瘍活性を示すことが明らかとなった。また、プラジェノライドB誘導体は胃癌細胞においてpre-mRNAのスプライシングを阻害し、アポトーシスを誘導することが示唆された。さらに、細胞周期制御因子であるp16やサイクリンEは、プラジェノライドB誘導体の効果を予測する因子として有用である可能性も示唆された。本研究は、今後の胃癌治療の進歩に大きく寄与するものと考えられ、学位授与に値すると判定した。