

新規治療ツールを用いた微小管関連タンパク STMN1 標的治療戦略による膵臓癌制御と治療抵抗性克服を目指した基礎的研究

群馬大学大学院 医学系研究科 先端腫瘍免疫治療学講座

横堀 武彦

I 要 旨

微小管ダイナミックスと呼ばれる微小管の重合・脱重合バランスによって細胞骨格、細胞分裂など重要な細胞プロセスが制御されている。がん細胞にとっても微小管は細胞生存に重要であり、微小管を不安定化する Stathmin 1 (STMN1) という癌特異的タンパクはがんマーカー、治療標的分子として注目されている。申請者はさまざまな固形癌で STMN1 が過剰蓄積し癌進行、予後不良と関連すること、微小管標的タキサン系抗がん剤の耐性を誘導することをこれまで報告してきた。そこで、膵臓がん細胞における STMN1 を特異的に抑制することで膵臓がん細胞に抗腫瘍効果、抗がん剤増感効果を誘導できるのではと考え本研究を立案した。またピロールイミダゾームポリアミド (PIP) 化合物と呼ばれる任意の DNA 配列に特異的結合することで遺伝子発現を抑制することが可能な新規の治療ツールに着目している点も本研究の特徴と言える¹⁾。本研究の目的は「難治性かつ有望な治療標的の存在しない膵臓癌に対する新規治療ツールを開発するために、膵臓癌で過剰蓄積し悪性度に関与する微小管関連タンパク STMN1 発現²⁾を PIP 化合物で特異的に抑制する治療戦略が有望かを細胞実験、動物実験にて明らかにすること」である。現時点では膵臓がん細胞株 SUIT2 に対して STMN1 特異的 PIP を投与することで、STMN1 発現が抑制されること、抗腫瘍効果を示すことが確認できている。現在、STMN1 特異的 PIP 処理を受けた膵臓が

ん細胞株の網羅的遺伝子発現プロファイルの解析し、抗腫瘍効果が誘導されるメカニズムをより詳細に検討する計画である。また膵臓がんモデルマウスを用いて STMN1 PIP の抗腫瘍効果、タキサン系抗がん剤との併用効果を検証する実験も予定している。

II 目 的

本研究の目的は「難治性かつ有望な治療標的の存在しない膵臓癌に対する新規治療ツールを開発するために、膵臓癌で過剰蓄積し悪性度に関与する微小管関連タンパク STMN1 発現を PIP 化合物で特異的に抑制する治療戦略が有望かを細胞実験、動物実験にて明らかにすること」である。

III 方 法

- 1 STMN1 特異的 PIP 合成
- 2 STMN1 特異的 PIP による STMN1 発現制御を RT-PCR, WB で検証
- 3 STMN1 特異的 PIP ががん細胞株の増殖能、タキソール感受性に与える影響を CCK8 アッセイで評価
- 4 STMN1 特異的 PIP 処理を行ったがん細胞株の遺伝子発現プロファイルの解析
- 5 動物実験による STMN1 特異的 PIP の抗腫瘍効果、タキソール増感効果の検証

IV 結 果

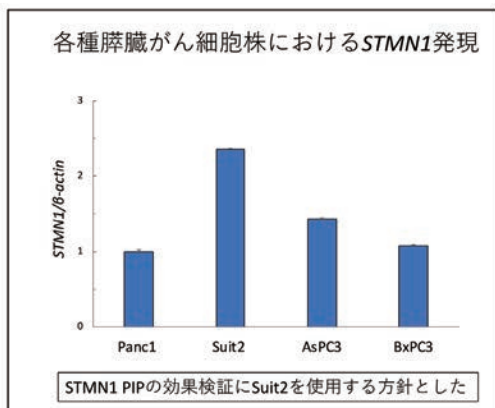
1 STMN1 特異的 PIP 合成

千葉県がんセンター研究所 がん先進治療開発研究室において新規に PIP を合成し、以下に示す細胞実験を開始した。

2 STMN1 特異的 PIP による STMN1 発現制御を RT-PCR, WB で検証

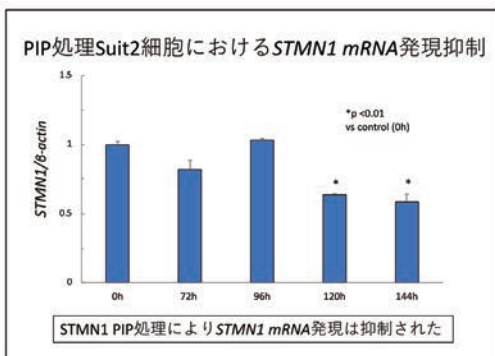
- 各種膵臓がん細胞株における *STMN1* の baseline mRNA 発現評価

(下図: qRT-PCR)



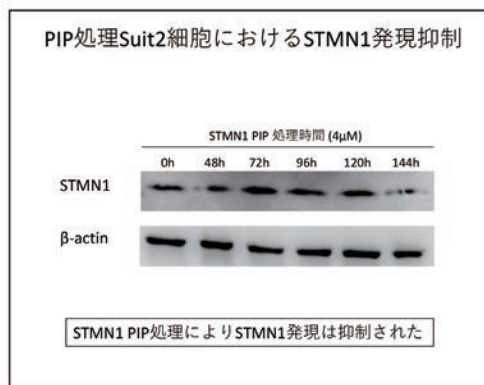
- 膵臓がん細胞株 Suit2 に対する STMN1 PIP 処理による STMN1 mRNA 発現変化

(下図: qRT-PCR)



- 膵臓がん細胞株 Suit2 に対する STMN1 PIP 処理による STMN1 タンパク発現変化

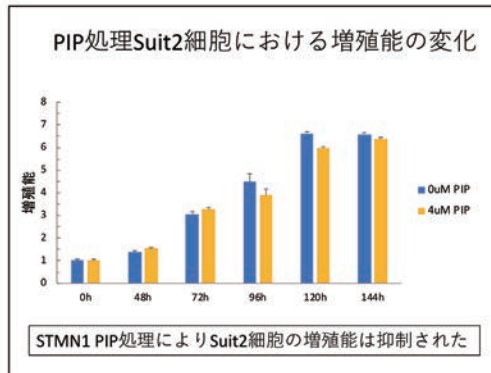
(下図: Western blot)



3 STMN1 特異的 PIP ががん細胞株の増殖能、タキソール感受性に与える影響を CCK8 アッセイで評価

- STMN1 PIP 処理による Suit2 細胞の増殖能変化

(下図: CCK8 assay)



現在、PIP とタキソールの併用効果を検証中。

4 STMN1 特異的 PIP 処理を行ったがん細胞株の遺伝子発現プロファイルの解析

PIP とタキソールの併用効果を示す条件を検討後に、遺伝子発現プロファイルの変化を網羅的に解析予定。

5 動物実験による STMN1 特異的 PIP の抗腫瘍効果、タキソール増感効果の検証

すでに実験動物を用いて Suit2 細胞の移植モデルの接種条件を検討中。モデル作成後に PIP 単独群、タキソール単独群、併用群での抗腫瘍効果を検討予定。

Patients with Pancreatic Cancer. Suzuki K, Watanabe A, Araki K, Yokobori T, Harimoto N, Gantumur D, Hagiwara K, Yamanaka T, Ishii N, Tsukagoshi M, Igarashi T, Kubo N, Gombodorj N, Nishiyama M, Hosouchi Y, Kuwano H, Shirabe K. *Anticancer Res.* 2018 Feb;38 (2) :939-944.

V 考 証

本研究で新規合成した STMN1 特異的 PIP により膵臓がん細胞株 Suit2 の STMN1 発現、増殖能が抑制されることが明らかとなった。

今後の方針として別の膵臓がん細胞株による PIP の薬効の再現性をとること、代表的なタキサン系抗がん剤であるタキソールと PIP の併用効果を解析し網羅的遺伝子発現解析によりそのメカニズムを解明する。最終的には動物実験での STMN1 PIP の薬効、タキソール併用効果を解析し、本研究で着目した PIP の治療ツールとしての可能性を明らかにする。

VI 結 語

膵臓がん細胞株を用いた実験において STMN1 特異的 PIP が STMN1 発現を制御し治療ツールとして有望であることが示された。今後、タキサン系抗がん剤の増感効果の有無や動物実験により実臨床における膵臓がん患者の治療ツールとなりうるかを検討していきたい。

参考文献

- 1) Inhibition of KRAS codon 12 mutants using a novel DNA-alkylating pyrrole-imidazole polyamide conjugate. Hiraoka K, Inoue T, Taylor RD, Watanabe T, Koshikawa N, Yoda H, Shinohara K, Takatori A, Sugimoto H, Maru Y, Denda T, Fujiwara K, Balmain A, Ozaki T, Bando T, Sugiyama H, Nagase H. *Nat Commun.* 2015 Apr 27;6:6706. doi: 10.1038/ncomms7706.
- 2) High STMN1 Expression Is Associated with Tumor Differentiation and Metastasis in Clinical