

中央実験施設

Central Research Resource Branch 中央実験施設

Professor Kunio Matsumoto 松本 邦夫
Associate Professor Yoshio Endo 遠藤 良夫, Kouji Kuno 久野 耕嗣

【 Abstract 】

An iron metabolism-targeting drug with antitumor activity enhances the effect of 5-ALA-based photodynamic therapy (Endo Y)

A precursor of protoporphyrin IX (PpIX), 5-aminolevulinic acid (ALA), is widely used for PpIX-dependent photodynamic diagnosis (PDD) and photodynamic therapy (PDT) in the treatment of various cancers. Previously, we reported high expression of iron metabolism-related genes in cells established from human gastric cancer cell line MKN-45 that had acquired resistance to ALA-PDT. Furthermore, we have demonstrated the enhancing activity of deferoxamine mesylate (DFX), an iron chelator, on ALA-PDT in cells with the ALA-PDT resistance. DFX could effectively increase intracellular PpIX accumulation and overcome the acquired resistance in the ALA-PDT-resistant cells. Recently, we found that the continuous exposure to DFX results in direct anti-proliferative activity in the ALA-PDT-resistant cells and the parental MKN-45 cells. The sensitivity of the ALA-PDT-resistant cells to DFX was clearly higher than that of parental MKN-45 cells. Interestingly, DFX also inhibited the growth of various human cancer cells. These findings indicate that iron metabolism-related molecules are important targets for enhancing the therapeutic effect of ALA-PDT in cancer cells and that DFX may be a potent enhancer of ALA-PDT.

Analysis of the functional roles of ADAMTS-1 in female genital organs (Kuno)

ADAMTS-1 is an extracellular matrix (ECM)-anchored metalloproteinase that degrades ECM molecules such as proteoglycans and regulates ECM remodeling. Our Previous studies showed that ADAMTS-1 is involved in the ovulatory process and in the ovarian follicular development. Recently, we found that ADAMTS-1 null mice on a BALB/c background exhibited impaired parturition. In this study, ADAMTS-1 null mice showed normal progesterone withdrawal but displayed significantly reduced expression of uterine genes encoding for contraction-associated proteins (CAPs), suggesting that ADAMTS-1 is required for uterine activation process prior to parturition. Reduced expression of the CAP genes may lead to decreased contractile responses to uterotonins as well as decreased spontaneous contractile activity, both of which were measured by means of uterine strips prepared from ADAMTS-1 null mice. These results demonstrate that parturition failure in ADAMTS-1 null

mice was due to their impaired uterine contractile ability. In addition, we found that the morphology of the decidual tissue in ADAMTS-1 null mice sometimes differed from that observed in the control mice. We are currently investigating the role of ADAMTS-1 in the organization and activation of myometrial and decidual tissues during the prepartum period.

<2020年の研究成果, 進捗状況及び今後の計画>

鉄代謝を標的とする 5-アミノレブリン酸を用いるがん光線力学的療法の効果増強とその抗腫瘍作用に関する研究 (遠藤)

これまでの研究で我々は、プロトポルフィリン (PpIX) の前駆物質である 5-アミノレブリン酸 (ALA) を用いる光線力学的治療 (PDT) に対して耐性を獲得したヒト胃癌 MKN-45 細胞では鉄代謝系を促進するとともに、PpIX からヘムを生成し、それを分解する経路が活性化していること、鉄のキレーターで PpIX からプロトヘムの合成を阻害するデフェロキサミンは、MKN-45 の ALA-PDT 獲得耐性細胞に対して耐性克服効果を示すことを報告してきた。今年度の研究では、デフェロキサミンが ALA-PDT 獲得耐性細胞に対して直接的な増殖抑制活性を示し、耐性細胞の感受性は親株よりも高いこと見出した。さらに、デフェロキサミンは ALA-PDT に低感受性の様々な腫瘍細胞に対しても直接的な増殖抑制活性を示し、このデフェロキサミンの増殖抑制活性は鉄の添加により抑制された。以上の結果から、鉄代謝系は ALA-PDT 効果増強のための有用な分子標的となることが示唆された。さらに、本年度、我々は膜輸送系を標的とする ALA-PDT 効果増強剤として有望な新規化合物を見出した。今後、この化合物をリードとした誘導体展開を実施する予定である。

ADAMTS-1 の雌生殖機能における役割の解析 (久野)

ADAMTS-1^{-/-}マウス (129/B6 遺伝子背景) は、排卵、卵胞生育過程に異常を示す。一方 BALB/c 遺伝子背景の ADAMTS-1^{-/-}マウスは分娩異常を示す。ADAMTS-1^{-/-}マウスでは、分娩開始のシグナルである Progesterone の低下は正常に起こるが、Oxytocin receptor, Connexin43 などの収縮調節タンパク (CAP) 遺伝子群の発現誘導が起こらないことから、ADAMTS1 は分娩前に CAP 遺伝子群の発現が誘導される過程に必要であることが示唆された。これら CAP 遺伝子群の発現低下は、同マウスの子宮条片を用いた収縮実験で観察される、Oxytocin、プロスタグランジンへの収縮応答性の低下や自発収縮力の低下に繋がっていると考えられる。結果的に、これらの子宮収縮機能の低下が、ADAMTS-1^{-/-}マウスの分娩異常の原因であると推定している。また組織学的な解析から、分娩前の ADAMTS-1^{-/-}マウスの子宮脱落膜組織は、しばしばコントロールマウスとは異なる形態を示すことも見出ししている。現在、ADAMTS-1^{-/-}マウスを用いて、ADAMTS-1 の子宮平滑筋、脱落膜組織の組織構築における役割や、分娩時の子宮活性化における役割、また子宮頸管熟化過程における役割について詳しい解析を行っている。また ADAMTS-1 によるがん微小環境の制御について解析を行う。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著（共同研究）

1. Bolidong D, Domoto T, Uehara M, Sabit H, Okumura T, Endo Y, Nakada M, Ninomiya I, Miyashita T, Wong RW, Minamoto T: Potential therapeutic effect of targeting glycogen synthase kinase 3 β in esophageal squamous cell carcinoma. *Sci Rep*. 2020 Jul 16;10(1):11807. doi: 10.1038/s41598-020-68713-9
2. Yamahana H, Takino T, Endo Y, Yamada H, Suzuki T, Uto Y: A novel celecoxib analog UTX-121 inhibits HT1080 cell invasion by modulating membrane-type 1 matrix metalloproteinase. *Biochem Biophys Res Commun*. 2020 Jan 1;521(1):137-144. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.10.092.

著書・総説

1. Kuno K: Chapter: ADAMTS-1. *In Handbook of Proteolytic Enzymes. 4th Edition, Volume 1, Metallopeptidases, ed. Neil D Rawlings, Elsevier, in press.*

< 学会発表 >

1. 遠藤良夫, 宇都 義浩, 篠原 侑成, 安部 千秋, 小幡 徹, 小倉 俊一郎, 米村 豊: アミノレブリン酸を用いるがん光線力学的療法に対する新規シッフ塩基誘導体の感受性増強作用 日本薬学会第 140 年会 2020 年 3 月 25 日-28 日 (国立京都国際会館) (中止)
2. 篠原侑成, 遠藤良夫, 安部千秋, 小幡徹, 小倉俊一郎, 米村豊, 宇都義浩: 5-ALA を用いた光線力学療法における新規シッフ塩基併用による増強作用 日本農芸化学会 2020 年度中四国支部大会(第 57 回講演会) 2020 年 9 月 17 日(木)~9 月 18 日(金) (WEB 開催)
3. Yoshio Endo, Yoshihiro Uto, Yusei Shinohara, Chiaki Abe, Tohru Obata, Yutaka Yonemura, Shun-ichiro Ogura: An iron metabolism-targeting drug with antitumor activity enhances the effect of 5-ALA-based photodynamic therapy. 鉄代謝を標的とする 5-アミノレブリン酸を用いるがん光線力学的療法の効果増強とその抗腫瘍作用に関する研究 第 79 回日本癌学会学術総会 2020 年 10 月 1 日 (木) ~3 日 (土) (リーガロイヤルホテル広島、メルパルク広島、広島県立総合体育館) (WEB 開催)

4. Hirari Yamahana, Takahisa Takino, Yoshio Endo, Takeshi Suzuki, Yoshihiro Uto: Development of a Novel Celecoxib Derivative UTX-121 as an Antimetastatic Agent. Celecoxib をリードとした MMPs 阻害能を有する抗転移剤 UTX-121 の創製 第 79 回日本癌学会学術総会 2020 年 10 月 1 日 (木) ~3 日 (土) (リーガロイヤルホテル広島、メルパルク広島、広島県立総合体育館) (WEB 開催)
5. Yusei Shinohara, Itasu Ninomiya, Yoshio Endo, Takahisa Takino, Yoshihiro Uto: Development of a Novel Amiloride Derivatives as a Na⁺/H⁺ Exchanger 5 Selective Inhibitor. Na⁺/H⁺ 交換輸送体 5 選択的阻害剤としての新規アミロライド誘導体の創製 第 79 回日本癌学会学術総会 2020 年 10 月 1 日 (木) ~3 日 (土) (リーガロイヤルホテル広島、メルパルク広島、広島県立総合体育館) (WEB 開催)
6. 遠藤良夫 : 鶏卵モデル確立の変遷 患者由来がんモデル講演会 2020 年 10 月 29 日 (木) ~30 日 (金) (国立がんセンター) (WEB 開催)

<外部資金>

科学研究費補助金 基盤研究 (C) 分担 : 遠藤 良夫 (直接経費 : 100 千円)
消化器癌における Na⁺/H⁺ 交換輸送体 5 の機能解析と特異的阻害薬の開発