



平成 28 年 9 月 16 日

新しい三次元ドラッグ・スクリーニングシステムを利用して

癌細胞の形質転換を抑える薬を発見

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科（歯）の江口傑徳助教は、ORGANOGENIX 社の新井一也とハーバード大学のスチュアート・カルダーウッドと共同で、微細加工 3 次元細胞培養プレート（商品名：ナノカルチャープレート）を利用した新しい三次元ドラッグ・スクリーニングシステムをつくり、そのシステムを利用して癌細胞の形質転換の一種である上皮間葉転換（EMT）を抑える薬を見つけました。本研究成果は 9 月 13 日、米国のオンライン科学雑誌「*PLOS ONE*」に掲載されました。

本研究成果により、癌細胞の形質転換や転移を抑制するために有用な薬への応用が期待されます。

<背景>

日本の人口の約半分は、一生のうちで一度はがんにかかり、約 1/3 はがんで亡くなっているという疫学調査結果が報告されています。癌には血液のがんとさまざまな臓器の癌（固形癌）があります。固形癌の多くでは、正常な細胞同士の接着が失われて運動性の高い細胞へと変化する上皮間葉転換（EMT）という現象が起こることが知られています。

EMT は $TGF\beta$ と呼ばれる増殖因子によって引き起こされます（図 1）。培養皿の中で癌細胞を培養し $TGF\beta$ を加えると、細胞が上皮様の接着を失って紡錘形に変化することを顕微鏡下で見ることができます。このとき $TGF\beta$ は、癌細胞の表面にある $TGF\beta$ 受容体に結合して、細胞内にシグナルが伝達され、E カドヘリンと呼ばれる細胞間接着因子の量が減ることが分かっています。EMT を抑えることができれば、癌細胞の浸潤や転移を防ぐことができるかもしれません。しかし、そのような薬（EMT 阻害薬）やこれを探索する方法は今までありませんでした。

<業績>

癌細胞をナノカルチャープレートという特殊な細胞培養皿の上で培養すると、プレートの上にプリントされた特殊なグリッドを足場にして、癌細胞が運動をしながら三次元（3D）の細胞塊（スフェロイド）をつくります。そこに $TGF\beta$ を加えると細胞間接着が失われ、スフェロイドがあまりつくられません（図 1）。逆に、 $TGF\beta$ 受容体の阻害薬を加えると、E カドヘリンが増えて細胞間接着が強まるため、スフェロイドは大きくなります。さらに、スフェロイドの中には酸素が行き届かないため、低酸素（ハイポキシア）状態となります。スフェロイドの低酸素の程度は、ハイポキシアプローブと呼ばれる薬を細胞に加



PRESS RELEASE

えて、低酸素の程度に応じて細胞が赤く光ることで測ることができます。つまり、EMTが進むとスフェロイドが小さくなり酸素濃度が上がるため、細胞は光りません。EMTが抑えられるとスフェロイドが大きくなり低酸素となるため、細胞が光ります。

このような原理を利用して、ORGANNOGENIX 社の新井一也らは、EMT を抑える新しい薬をつくるためのシステムをつくりました。このシステムは、上記の原理によるため、ロボットとコンピュータを利用して大量の薬の中からどの薬が EMT を抑えるのかを見つける、いわゆるハイスループットスクリーニング（HTS）に適しています。

実際に、本グループはこのシステムを活用し、東京大学創薬機構から提供を受けた 1,330 種類の小分子化合物から EMT を抑える薬を探索して、TGF β の受容体の働きを抑える SB525334 と、細胞周期を抑えることが知られていた SU9516 が EMT を抑えることを見つけました。SU9516 は、癌細胞の形質転換や転移を抑制するために有用である可能性が考えられます。

<キーワード>

癌、上皮間葉転換、創薬、3D 培養、ナノカルチャープレート、スフェロイド、ハイポキシアプローブ、TGF β 、E カドヘリン、ハイスループットスクリーニング、ドラッグリポジショニング

<論文情報等>

論文名： A novel high-throughput 3D screening system for EMT inhibitors: a pilot screening discovered the EMT inhibitory activity of CDK2 inhibitor SU9516

新しいハイスループット 3D スクリーニングシステムによる EMT 阻害薬の開発

DOI : 10.1371/journal.pone.0162394

掲載誌： *PLOS ONE*

著者： Kazuya Arai, Takanori Eguchi, M Mamunur Rahman, Ruriko Sakamoto, Norio Masuda, Tetsuya Nakatsura, Stuart K Calderwood, Ken-ichi Kozaki, Manabu Itoh

発表論文はこちらからご確認いただけます。

<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0162394>

<お問い合わせ>

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科（歯）

助教 江口 傑徳

（電話番号）086-235-6662



<用語説明>

(1) 上皮間葉転換

上皮様の組織が細胞同士の接着を失って運動性の細胞に変化すること。腫瘍細胞の浸潤や転移に関わる（図1）。

(2) ナノカルチャープレート（Nano Culture Plate）

プレート表面にハニカムやグリッドのパターンの極小の凹凸を施した細胞培養皿。一般的な二次元培養皿と異なり、細胞がこのグリッドを足場として利用して運動をしながら、細胞塊（スフェロイド）をつくる。細胞の種類や培地中の成分によって、スフェロイドの大きさや形態は異なる。

(3) ハイポキシアプローブ（Hypoxia Probe, LOX-1）

細胞中の酸素濃度の低さによって赤いりん光を発する試薬。

(4) TGF β （トランスフォーミング成長因子）

上皮間葉転換を促進する成長因子。

(5) Eカドヘリン

正常な上皮細胞の細胞膜を貫通する一回膜貫通型分子であり、その細胞外ドメインは、Eカドヘリン同士が結合することによって細胞間接着を成立させる。またEカドヘリンの細胞内ドメインはカテニンやアクチンと結合することで上皮細胞の極性と細胞骨格を維持している。Eカドヘリンが失われると細胞間接着が失われ、細胞は運動性を獲得して、浸潤、転移が起こるとされている。

(6) ハイスループット（High Throughput）

処理量が多いということ。もともとコンピュータの情報処理量について使われていた用語であるが、バイオ実験や創薬においても使われるようになった。

(7) ドラッグリポジショニング

既存薬を新しい用途に使うようにすること。

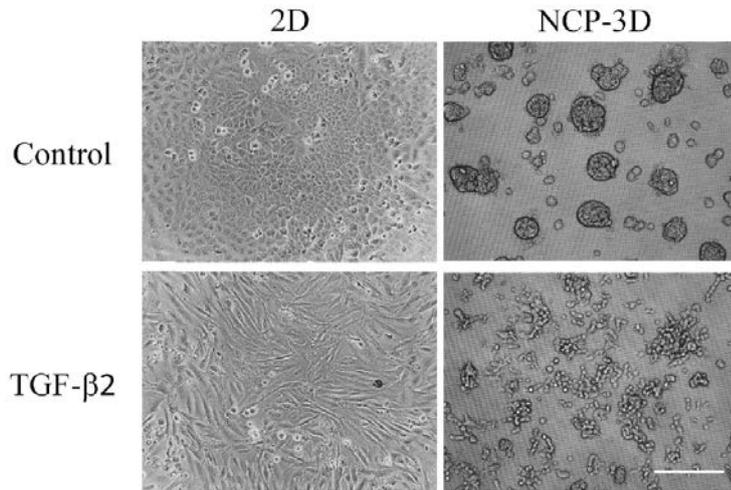


図1：肺癌細胞株 A549 は、二次元培養下で細胞間接着をもつ上皮様形態を示すが、TGF β による EMT 誘導によって紡錘形に変化する。三次元培養下でこれらの細胞は、スフェロイド（細胞塊）を形成し、TGF β はスフェロイド形成を阻害する。この原理を創薬に利用した。