

Title	膵臓がんにおける免疫特性を指標とした新規天然化合物の同定と複合免疫療法の開発
Sub Title	Identification of immunomodulating natural products for combined immunotherapy of pancreatic tumor.
Author	松下, 麻衣子(Matsushita, Maiko)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2024
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>我々は、膵臓がんを初めとする免疫チェックポイント阻害薬が効きにくい難治がんに対して、薬剤によって免疫原性細胞死 (ICD) を誘導することで抗がん免疫反応を増強する治療法の確立を目指している。本年度は、主に前年度に新規天然由来化合物のスクリーニングの結果見出した化合物について、さらに詳細なICD誘導機構の解析を行った。また、ICD誘導能のin vivo実験系を確立した。</p> <p>ICD誘導の指標であるCRT表出にはERストレスおよびUnfolded Protein Response (UPR) が関与することが報告されている。そこで化合物Xでがん細胞を処理後にUPR経路の各シグナル変動について検討した。薬剤処理後1時間でPERKの下流にあるeIF2αのリン酸化が増強し、その後CHOPの発現が上昇した。また、PERK阻害剤を併用した際にCRT表出の抑制が確認された。これらのことから、化合物XによるICD誘導にはPERK-eIF2α経路の活性化が関与していると考えられた。なお、トランスクリプトーム解析においても、ATF3を含めたUPR関連シグナル遺伝子群の発現が上昇することが判明した。加えて天然化合物Zについても膵臓がん細胞株を用いて薬剤処理後のCRT表出について検討したが、こちらは前年度に見出した化合物と比較してCRT表出の程度は軽度であった。</p> <p>また、マウス腫瘍細胞を皮下移植したBALB/cCrSlcマウスに天然由来化合物を投与し、腫瘍縮小後に腫瘍および脾臓、リンパ節における免疫担当細胞について評価したところマウス腫瘍内におけるCD80陽性の樹状細胞の割合は増加し、樹状細胞が活性化されることが示唆された。ただしCD8陽性T細胞数およびFoxP3陽性の制御性T細胞数が減少する傾向が認められたため、最終的な抗がん免疫反応増強効果についてはより詳細に解析する必要がある。本研究で見出された新規ICD誘導剤について今後もin vivoを含めた解析を進めることで、膵臓がん患者に対してより有効な治療戦略の開発を進めていく予定である。</p> <p>We have been trying to develop a treatment for refractory cancers, such as pancreatic cancer, where immune checkpoint inhibitors are less effective, by inducing immunogenic cell death (ICD) using natural compounds to enhance anti-cancer immune responses. This year, we conducted further analysis of the mechanism of ICD induction by the compounds identified through our previous screening. Additionally, we established an in vivo experimental system for evaluating the ICD-inducing ability of the compounds.</p> <p>It has been reported that endoplasmic reticulum (ER) stress and Unfolded Protein Response (UPR) are involved in the expression of calreticulin (CRT), an indicator of ICD induction. Therefore, we examined the activation of various signals involved in the UPR pathway after treating cancer cells with compound X. We found that phosphorylation of eIF2α was enhanced one hour after drug treatment, and subsequently, the expression of CHOP increased. Furthermore, when co-administered with the PERK inhibitor, CRT expression decreased. These findings suggest that activation of the PERK-eIF2α pathway is involved in ICD induction by compound X. Transcriptome analysis also revealed an increase in the expression of UPR-related signaling genes, including ATF3. Next, we investigated the expression of CRT after drug treatment with another natural compound, Z, in pancreatic cancer cell lines Panc1 and PK1. However, the degree of CRT expression was mild compared to compounds identified in the previous year.</p> <p>Furthermore, to evaluate ICD induction by natural compounds in vivo, we administered natural compounds to BALB/cCrSlc mice with subcutaneously transplanted tumor cells and evaluated immune effector cells in tumors, spleens, and lymph nodes after tumor regression. The results suggested an increase in the proportion of CD80-positive dendritic cells within the tumor, indicating activation of dendritic cells. However, a tendency of decrease was observed in the number of CD8-positive T cells and FoxP3-positive regulatory T cells, suggesting the need for further detailed analysis of the immune microenvironment in vivo to determine the final effect on anti-cancer immune responses. By continuing to analyze novel ICD inducers discovered in this study, including in vivo analysis, we expect to develop more effective treatment strategies for pancreatic cancer patients.</p>
Notes	

Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2023000014-20230001

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2023年度 学事振興資金（部門横断型共同研究） 研究成果実
績報告書

研究代表者	所属	薬学部	職名	准教授	補助額	1,650千円
	氏名	松下 麻衣子	氏名（英語）	Maiko Matsushita		
研究課題（日本語）						
膵臓がんにおける免疫特性を指標とした新規天然化合物の同定と複合免疫療法の開発						
研究課題（英訳）						
Identification of immunomodulating natural products for combined immunotherapy of pancreatic tumor.						
研究組織						
氏名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
松下 麻衣子 (Maiko Matsushita)		薬学部・病態生理学講座・准教授				
菊地 晴久 (Haruhisa Kikuchi)		薬学部・天然医薬資源学講座・教授				
北郷 実 (Minoru Kitago)		医学部・一般消化器外科・准教授				
1. 研究成果実績の概要						
<p>我々は、膵臓がんを初めとする免疫チェックポイント阻害薬が効きにくい難治がんに対して、薬剤によって免疫原性細胞死（ICD）を誘導することで抗がん免疫反応を増強する治療法の確立を目指している。本年度は、主に前年度に新規天然由来化合物のスクリーニングの結果見出した化合物について、さらに詳細なICD誘導機構の解析を行った。また、ICD誘導能のin vivo実験系を確立した。</p> <p>ICD誘導の指標であるCRT表出にはERストレスおよびUnfolded Protein Response（UPR）が関与することが報告されている。そこで化合物Xでがん細胞を処理後にUPR経路の各シグナル変動について検討した。薬剤処理後1時間でPERKの下流にあるeIF2αのリン酸化が増強し、その後CHOPの発現が上昇した。また、PERK阻害剤を併用した際にCRT表出の抑制が確認された。これらのことから、化合物XによるICD誘導にはPERK-eIF2α経路の活性化が関与していると考えられた。なお、トランスクリプトーム解析においても、ATF3を含めたUPR関連シグナル遺伝子群の発現が上昇することが判明した。加えて天然化合物Zについても膵がん細胞株を用いて薬剤処理後のCRT表出について検討したが、こちらは前年度に見出した化合物と比較してCRT表出の程度は軽度であった。</p> <p>また、マウス腫瘍細胞を皮下移植したBALB/cCrSlcマウスに天然由来化合物を投与し、腫瘍縮小後に腫瘍および脾臓、リンパ節における免疫担当細胞について評価したところマウス腫瘍内におけるCD80陽性の樹状細胞の割合は増加し、樹状細胞が活性化されることが示唆された。ただしCD8陽性T細胞数およびFoxP3陽性の制御性T細胞数が減少する傾向が認められたため、最終的な抗がん免疫反応増強効果についてはより詳細に解析する必要がある。本研究で見出された新規ICD誘導剤について今後もin vivoを含めた解析を進めることで、膵臓がん患者に対してより有効な治療戦略の開発を進めていく予定である。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<p>We have been trying to develop a treatment for refractory cancers, such as pancreatic cancer, where immune checkpoint inhibitors are less effective, by inducing immunogenic cell death (ICD) using natural compounds to enhance anti-cancer immune responses. This year, we conducted further analysis of the mechanism of ICD induction by the compounds identified through our previous screening. Additionally, we established an in vivo experimental system for evaluating the ICD-inducing ability of the compounds.</p> <p>It has been reported that endoplasmic reticulum (ER) stress and Unfolded Protein Response (UPR) are involved in the expression of calreticulin (CRT), an indicator of ICD induction. Therefore, we examined the activation of various signals involved in the UPR pathway after treating cancer cells with compound X. We found that phosphorylation of eIF2α was enhanced one hour after drug treatment, and subsequently, the expression of CHOP increased. Furthermore, when co-administered with the PERK inhibitor, CRT expression decreased. These findings suggest that activation of the PERK-eIF2α pathway is involved in ICD induction by compound X. Transcriptome analysis also revealed an increase in the expression of UPR-related signaling genes, including ATF3. Next, we investigated the expression of CRT after drug treatment with another natural compound, Z, in pancreatic cancer cell lines Panc1 and PK1. However, the degree of CRT expression was mild compared to compounds identified in the previous year.</p> <p>Furthermore, to evaluate ICD induction by natural compounds in vivo, we administered natural compounds to BALB/cCrSlc mice with subcutaneously transplanted tumor cells and evaluated immune effector cells in tumors, spleens, and lymph nodes after tumor regression. The results suggested an increase in the proportion of CD80-positive dendritic cells within the tumor, indicating activation of dendritic cells. However, a tendency of decrease was observed in the number of CD8-positive T cells and FoxP3-positive regulatory T cells, suggesting the need for further detailed analysis of the immune microenvironment in vivo to determine the final effect on anti-cancer immune responses. By continuing to analyze novel ICD inducers discovered in this study, including in vivo analysis, we expect to develop more effective treatment strategies for pancreatic cancer patients.</p>						

3. 本研究課題に関する発表

発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)