Sub Title Exploration of inginivestigation of its 分木, 小夜(Suzuki, Publisher 慶應義塾大学 Publication year 2023  Jtitle 学事振興資金研究 3LC DOI Abstract 皮膚がんを含む様れるingenol 骨格を近年はがん免対開胞する難光に割の細胞する難光によれにはおれてIMがもしくはそれの調合においてIMがもしくはそれの調合においてIMがもしくはそれの割合に対し、1年目であ細胞におもの割合に著変必ずに別別により、1年目である2022年の膵がん細胞により、1年目である2022年の膵がん細胞により、2012年間がんにはある。10年間がより、1年間である2022年の時がには、1年間である2022年の時がには、1年間である2022年の時がには、1年間である2022年の時がには、1年間である2022年の時がには、1年間である2022年の時がには、1年間である2022年の時がには、1年間である2022年の時がには、1年間には	
investigation of its 会木, 小夜(Suzuki, Publisher 慶應義塾大学 Publication year 2023  Jtitle 学事振興資金研究 3021  Jtitle 学事振興資金研究 3022 学事振興資金研究 3022 学事振興資金研究 3022 学事振興資金研究 402 学事振興資金研究 402 学事振興資金研究 502 学事振興資金研究 502 学事振興資金研究 502 学事振興資金研究 502 学事振興資金研究 502 学校 502	mechanisms. , Sayo)  成果実績報告書 (2022.)  でな疾病の治療に民間伝承薬として用いられてきたトウダイグサ科植物に含まを有する化合物は抗腫瘍効果を有することが報告されている。 法が注目されているが、膵がんのような免疫学的不活性な cold tumor ではがん治療反応性が低く、依然として殺細胞性抗がん薬による有効かつ安全な治療法が不可欠である。本研究ではingenol 骨格を有するIngenol mebutate (IM)に着に対する有効性を明らかにし、将来的にはingenol骨格を有する化合物を基盤と対する新たな治療法開発を目的としている。我々はすでに、ヒト膵がん細胞株Pが5種類の既存の膵がん治療薬(CDDP、L-OHP、5-FU、GEM、SN-38)と同等の細胞増殖抑制作用を有する可能性を明らかにしており、研究計画3年のうちの年度は、主にヒトPanc-1細胞を用いて、まずはIMでする細胞増殖抑制に関わる細胞死メカニズムに関する研究を行った。 いて、IM曝露後のcaspase-3/7活性はコントロール(IM非曝露)と比較して上昇のの有意な変化は認められなかった。細胞周期解析においてもG2/M及びG0/G1とあられず、少なくともPanc-1細胞に対するIMの細胞増殖抑制機序におけるこれも高くないと考えられた。一方、PKCδ 特異的阻害剤
Publisher	成果実績報告書 (2022.)  「マな疾病の治療に民間伝承薬として用いられてきたトウダイグサ科植物に含まを有する化合物は抗腫瘍効果を有することが報告されている。 法が注目されているが、膵がんのような免疫学的不活性な cold tumor ではがん治療反応性が低く、依然として殺細胞性抗がん薬による有効かつ安全な治療法が不可欠である。本研究ではingenol 骨格を有するIngenol mebutate (IM)に着に対する有効性を明らかにし、将来的にはingenol骨格を有する化合物を基盤と対する新たな治療法開発を目的としている。我々はすでに、ヒト膵がん細胞株別が5種類の既存の膵がん治療薬(CDDP、L-OHP、5-FU、GEM、SN-38)と同等の細胞増殖抑制作用を有する可能性を明らかにしており、研究計画3年のうちの年度は、主にヒトPanc-1細胞を用いて、まずはIMでする細胞増殖抑制に関わる細胞死メカニズムに関する研究を行った。いて、IM曝露後のcaspase-3/7活性はコントロール(IM非曝露)と比較して上昇のの有意な変化は認められなかった。細胞周期解析においてもG2/M及びG0/G1とあられず、少なくともPanc-1細胞に対するIMの細胞増殖抑制機序におけるこれも高くないと考えられた。一方、PKC8特異的阻害剤
Publication year 2023  Jtitle 学事振興資金研究  Jalc DOI  Abstract 皮膚がんを含む様れるingenol 骨格を近年はがん免対開発自し、対力を発力を発表を発するや新規薬剤の細胞する難治性がんにanc-1においてIMがもしくはそれの以上1年目である2022年の膵がん細胞におもの割合に与は見られたもの割合に与したの割合に与したの割合に与したの割合に対し、関連が表別を表別である。現在、アモデルトのは、中国では、中国では、中国では、中国では、中国では、中国では、中国では、中国で	は々な疾病の治療に民間伝承薬として用いられてきたトウダイグサ科植物に含また有する化合物は抗腫瘍効果を有することが報告されている。 法が注目されているが、膵がんのような免疫学的不活性な cold tumor ではがん治療反応性が低く、依然として殺細胞性抗がん薬による有効かつ安全な治療法が不可欠である。本研究ではingenol 骨格を有するIngenol mebutate (IM)に着に対する有効性を明らかにし、将来的にはingenol骨格を有する化合物を基盤と対する新たな治療法開発を目的としている。我々はすでに、ヒト膵がん細胞株Pが5種類の既存の膵がん治療薬(CDDP、L-OHP、5-FU、GEM、SN-38)と同等の細胞増殖抑制作用を有する可能性を明らかにしており、研究計画3年のうちの年度は、主にヒトPanc-1細胞を用いて、まずはIMでする細胞増殖抑制に関わる細胞死メカニズムに関する研究を行った。で、IM曝露後のcaspase-3/7活性はコントロール(IM非曝露)と比較して上昇のの有意な変化は認められなかった。細胞周期解析においてもG2/M及びG0/G1とあられず、少なくともPanc-1細胞に対するIMの細胞増殖抑制機序におけるこれも高くないと考えられた。一方、PKCδ特異的阻害剤
Jtitle 学事振興資金研究  JalC DOI  Abstract 皮膚がんを含む様々 近年はがんの発力を発見を発見を発見した。 大きな で からな で 大きな で からな で で からな で で からな で	は々な疾病の治療に民間伝承薬として用いられてきたトウダイグサ科植物に含また有する化合物は抗腫瘍効果を有することが報告されている。 法が注目されているが、膵がんのような免疫学的不活性な cold tumor ではがん治療反応性が低く、依然として殺細胞性抗がん薬による有効かつ安全な治療法が不可欠である。本研究ではingenol 骨格を有するIngenol mebutate (IM)に着に対する有効性を明らかにし、将来的にはingenol骨格を有する化合物を基盤と対する新たな治療法開発を目的としている。我々はすでに、ヒト膵がん細胞株Pが5種類の既存の膵がん治療薬(CDDP、L-OHP、5-FU、GEM、SN-38)と同等の細胞増殖抑制作用を有する可能性を明らかにしており、研究計画3年のうちの年度は、主にヒトPanc-1細胞を用いて、まずはIMでする細胞増殖抑制に関わる細胞死メカニズムに関する研究を行った。で、IM曝露後のcaspase-3/7活性はコントロール(IM非曝露)と比較して上昇のの有意な変化は認められなかった。細胞周期解析においてもG2/M及びG0/G1とあられず、少なくともPanc-1細胞に対するIMの細胞増殖抑制機序におけるこれも高くないと考えられた。一方、PKCδ特異的阻害剤
JaLC DOI Abstract 皮膚がんを含む様を近角を含いたを含性を変更を発展を発生を変更を変更を変更を変更を変更を変更を変更を変更を変更を変更を変更を変更を変更を	は々な疾病の治療に民間伝承薬として用いられてきたトウダイグサ科植物に含また有する化合物は抗腫瘍効果を有することが報告されている。 法が注目されているが、膵がんのような免疫学的不活性な cold tumor ではがん治療反応性が低く、依然として殺細胞性抗がん薬による有効かつ安全な治療法が不可欠である。本研究ではingenol 骨格を有するIngenol mebutate (IM)に着に対する有効性を明らかにし、将来的にはingenol骨格を有する化合物を基盤と対する新たな治療法開発を目的としている。我々はすでに、ヒト膵がん細胞株Pが5種類の既存の膵がん治療薬(CDDP、L-OHP、5-FU、GEM、SN-38)と同等の細胞増殖抑制作用を有する可能性を明らかにしており、研究計画3年のうちの年度は、主にヒトPanc-1細胞を用いて、まずはIMでする細胞増殖抑制に関わる細胞死メカニズムに関する研究を行った。で、IM曝露後のcaspase-3/7活性はコントロール(IM非曝露)と比較して上昇のの有意な変化は認められなかった。細胞周期解析においてもG2/M及びG0/G1とあられず、少なくともPanc-1細胞に対するIMの細胞増殖抑制機序におけるこれも高くないと考えられた。一方、PKCδ特異的阻害剤
JaLC DOI Abstract 皮膚がんを含む様を近角を含いたを含性を変更を発展を発生を変更を変更を変更を変更を変更を変更を変更を変更を変更を変更を変更を変更を変更を	は々な疾病の治療に民間伝承薬として用いられてきたトウダイグサ科植物に含また有する化合物は抗腫瘍効果を有することが報告されている。 法が注目されているが、膵がんのような免疫学的不活性な cold tumor ではがん治療反応性が低く、依然として殺細胞性抗がん薬による有効かつ安全な治療法が不可欠である。本研究ではingenol 骨格を有するIngenol mebutate (IM)に着に対する有効性を明らかにし、将来的にはingenol骨格を有する化合物を基盤と対する新たな治療法開発を目的としている。我々はすでに、ヒト膵がん細胞株Pが5種類の既存の膵がん治療薬(CDDP、L-OHP、5-FU、GEM、SN-38)と同等の細胞増殖抑制作用を有する可能性を明らかにしており、研究計画3年のうちの年度は、主にヒトPanc-1細胞を用いて、まずはIMでする細胞増殖抑制に関わる細胞死メカニズムに関する研究を行った。で、IM曝露後のcaspase-3/7活性はコントロール(IM非曝露)と比較して上昇のの有意な変化は認められなかった。細胞周期解析においてもG2/M及びG0/G1とあられず、少なくともPanc-1細胞に対するIMの細胞増殖抑制機序におけるこれも高くないと考えられた。一方、PKCδ特異的阻害剤
れるingenol 骨格を 近年はがん免疫する 免疫療規解がに別れる 日本の 日本の 日本の 日本の 日本の 日本の 日本の 日本の 日本の 日本の	を有する化合物は抗腫瘍効果を有することが報告されている。 法が注目されているが、膵がんのような免疫学的不活性な cold tumor ではがん 治療反応性が低く、依然として殺細胞性抗がん薬による有効かつ安全な治療法 が不可欠である。本研究ではingenol 骨格を有するIngenol mebutate (IM)に着 に対する有効性を明らかにし、将来的にはingenol骨格を有する化合物を基盤と 対する新たな治療法開発を目的としている。我々はすでに、ヒト膵がん細胞株P が5種類の既存の膵がん治療薬(CDDP、L-OHP、5-FU、GEM、SN-38)と同等 の細胞増殖抑制作用を有する可能性を明らかにしており、研究計画3年のうちの 年度は、主にヒトPanc-1細胞を用いて、まずはIM する細胞増殖抑制に関わる細胞死メカニズムに関する研究を行った。 て、IM曝露後のcaspase-3/7活性はコントロール(IM非曝露)と比較して上昇 のの有意な変化は認められなかった。細胞周期解析においてもG2/M 及びG0/G1 められず、少なくともPanc-1細胞に対するIMの細胞増殖抑制機序におけるこれ も高くないと考えられた。一方、PKCδ 特異的阻害剤
human Panc-1 cel change although to cycle analysis also that the contributio other hand, both E were observed to indicating that PKO We are also curren compounds from E effects of these co	の阻害が観察され、IMによる細胞増殖抑制機序において一部にPKCの関与の可に向けたトウダイグサ科植物からのインゲノール関連化合物の抽出及び担がんいた予備検討を実施中である。 in in recent years, immunologically inactive "cold tumors" such as pancreatic response to immunotherapy, and it is still essential to develop effective and safe vtotoxic anticancer drugs and new drugs. As our final goal is to develop new ctable cancer such as pancreatic cancer based on ingenol related compounds his purpose, we firstly aimed to clarify the mechanisms of ingenol mebutate (IM) is cancer cells in this study, because we have already found that IM potentially all comparable to or greater than those of already clinically used anticancer drugs -FU, GEM, and SN-38) for pancreatic cancer. The cell death mechanism of IM against pancreatic cancer cells, mainly using lls. Caspase-3/7 activity in Panc-1 cells after IM exposure did not significantly there was a tendency of an increase compared to controls (no IM exposure). Cell of showed no significant changes in both G2/M ratio and G0/G1 ratio, suggesting on of these mechanisms to cell growth inhibition is not necessarily high. On the BJE6-106, a PKCδ-specific inhibitor, and rottlerin, a non-PKC selective inhibitor, inhibit the cell growth inhibitory effect of IM at concentrations of 1 μM or higher, C may be partially involved in the mechanism of cell growth inhibition by IM. Intly conducting a preliminary study on the extraction of ingenol-related Euphorbiaceae plants and on mouse xenograft models to investigate antitumor ompounds as the next step of this research in subsequent years.
Notes	imposition as the flext step of this research in subsequent years.
Genre Research Paper	mipounds as the next step of this research in subsequent years.
URL https://koara.lib.ke	ompounds as the next step of this research in subsequent years.

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.

# 2022 年度 学事振興資金 (個人研究) 研究成果実績報告書

研究代表者	所属	薬学部	職名	教授	補助額	300	(A)	)千円
	氏名	鈴木 小夜	氏名 (英語)	Sayo Suzuki		300	(A)	

#### 研究課題 (日本語)

トウダイグサ科植物由来の抗腫瘍活性インゲノール関連化合物の探索とメカニズム研究

### 研究課題 (英訳)

Exploration of ingenol-related compounds from Euphorbiaceae plants with antitumor activity and investigation of its mechanisms.

## 1. 研究成果実績の概要

皮膚がんを含む様々な疾病の治療に民間伝承薬として用いられてきたトウダイグサ科植物に含まれる ingenol 骨格を有する化合物は抗腫瘍効果を有することが報告されている。 近年はがん免疫療法が注目されているが、膵がんのような免疫学的不活性な cold tumor ではがん免疫療法に対する治療反応性が低く、依然として殺細胞性抗がん薬による有効かつ安全な治療法や新規薬剤の開発が不可欠である。本研究では ingenol 骨格を有する Ingenol mebutate (IM)に着目し、膵がん細胞に対する有効性を明らかにし、将来的には ingenol 骨格を有する化合物を基盤とする難治性がんに対する新たな治療法開発を目的としている。我々はすでに、ヒト膵がん細胞株 Panc-1 において IM が 5 種類の既存の膵がん治療薬(CDDP、L-OHP、5-FU、GEM、SN-38)と同等もしくはそれ以上の細胞増殖抑制作用を有する可能性を明らかにしており、研究計画 3 年のうちの 1 年目である 2022 年度は、主にヒト Panc-1 細胞を用いて、まずは IM の膵がん細胞に対する細胞増殖抑制に関わる細胞死メカニズムに関する研究を行った。

Panc-1 細胞において、IM 曝露後の caspase-3/7 活性はコントロール (IM 非曝露) と比較して上昇傾向は見られたものの有意な変化は認められなかった。細胞周期解析においても G2/M 及び G0/G1 の割合に著変は認められず、少なくとも Panc-1 細胞に対する IM の細胞増殖抑制機序におけるこれらの寄与は必ずしも高くないと考えられた。一方、PKC  $\delta$  特異的阻害剤 BJE6-106、PKC 非選択的阻害剤 rottlerin いずれもそれぞれ 1  $\mu$ M 以上の濃度での併用時に IM による細胞増殖抑制効果の阻害が観察され、IM による細胞増殖抑制機序において一部に PKC の関与の可能性が示された。

現在、次年度以降に向けたトウダイグサ科植物からのインゲノール関連化合物の抽出及び担がんマウスモデルを用いた予備検討を 実施中である。

## 2. 研究成果実績の概要(英訳)

Ingenol-related compounds derived from Euphorbiaceae plants have been reported to exhibit antitumor effects against pancreatic cancer cells. Although cancer immunotherapy has been attracting attention in recent years, immunologically inactive "cold tumors" such as pancreatic cancer have a low response to immunotherapy, and it is still essential to develop effective and safe therapies using cytotoxic anticancer drugs and new drugs. As our final goal is to develop new therapies for intractable cancers such as pancreatic cancer based on ingenol related compounds in the future. For this purpose,we firstly aimed to clarify the mechanisms of ingenol mebutate (IM) against pancreatic cancer cells in this study, because we have already found that IM potentially inhibits cell survival comparable to or greater than those of already clinically used anticancer drugs (CDDP, L-OHP, 5-FU, GEM, and SN-38) for pancreatic cancer.

We investigated the cell death mechanism of IM against pancreatic cancer cells, mainly using human Panc-1 cells. Caspase-3/7 activity in Panc-1 cells after IM exposure did not significantly change although there was a tendency of an increase compared to controls (no IM exposure). Cell cycle analysis also showed no significant changes in both G2/M ratio and G0/G1 ratio, suggesting that the contribution of these mechanisms to cell growth inhibition is not necessarily high. On the other hand, both BJE6-106, a PKC  $\delta$ -specific inhibitor, and rottlerin, a non-PKC selective inhibitor, were observed to inhibit the cell growth inhibitory effect of IM at concentrations of 1  $\mu$ M or higher, indicating that PKC may be partially involved in the mechanism of cell growth inhibition by IM.

We are also currently conducting a preliminary study on the extraction of ingenol-related compounds from Euphorbiaceae plants and on mouse xenograft models to investigate antitumor effects of these compounds as the next step of this research in subsequent years.

years.								
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)					
Suzuki, Aya Jibiki, Yuta Yokoyama, Hitoshi Kawazoe, Susumu Kitanaka, Tomonori	Ingenol mebutate inhibits the growth of pancreatic cancer cells in vitro via STING with an efficacy comparable to that of clinically used anticancer agents.	Journal of Natural Medicines	2023 年 1 月					