

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 natural products with immunomodulatory effects and development of novel combined immunotherapy against pancreatic cancer
Author	松下, 麻衣子(Matsushita, Maiko)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2023
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2022.)
JaLC DOI	
Abstract	我々は免疫原性細胞死(ICD)に着目し、がん細胞に作用して患者の抗がん免疫反応を増強し得る天然由来化合物の同定を試みた。42種の新規天然化合物群を用いて、MUM24細胞をモデルケースとしてICDを誘導する化合物の探索を行った。まず、WST-1 assayにより、5μMおよび50μMで細胞増殖抑制能を有する化合物を6種類抽出した。次に薬剤処理後のがん細胞においてICDマーカーであるCalreticulin(CRT)表出をflow cytometryにより検討したところ、低濃度でCRT発現を誘導し得る2種の化合物X、Yを抽出した。続いて、Western blot法にてもう一つのICDマーカーであるHigh Mobility Group Box 1(HMGB1)の細胞外放出を検討したところ、がん細胞からのHMGB1の放出量増加が認められた。この際化合物Xについては類縁体2種についてもHMGB1の細胞外放出を検討したが、リード化合物Xと有意差は認められなかった。さらに化合物Xで処理したMUM24細胞をヒト末梢血単核球由来樹状細胞 (DCs) と共培養すると、活性化マーカーのCD80とHLA-DRが顕著に増加し、DCsの成熟が観察された。以上より、化合物X、YはICD誘導能を有すると考えられた。化合物XはICD誘導因子である活性酸素の産生を促進することが報告されているため、抗酸化剤を化合物Xに併用したところ、CRTの表出は抑制されなかった。従って、化合物XによるICDは活性酸素を介さない新たな機序で起こっていることが推測された。さらに、化合物X添加前後のMUM24よりtotal RNAを抽出し、RNAシーケンスによりICDを誘導する遺伝子変化について解析中である。化合物Yについては、Panc1細胞に添加したところ、5μMおよび50μMにおいてCRT表出が増強した。今後、これらの化合物の免疫修飾作用について作用機序の解明を行うと同時に、正常細胞への毒性の検討など、膵がん細胞に対する臨床応用を目指した基礎データを積み重ねていく。 We have focused on immunogenic cell death (ICD), and tried to identify natural products which could enhance anti-cancer immune response of patients. First, we checked cytotoxicity of 42 novel natural products against MUM24 cells and found 6 candidates. We next evaluated cell surface expression of calreticulin (CRT) after treatment with these products. Compound X and Y were found to induce CRT with low dose. We could also detect secretion of High Mobility Group Box 1(HMGB1) from MUM24 treated with those compounds. Then we evaluated maturation of dendritic cells (DCs) co-cultured with compound-treated cancer cells and found that expression of CD80 and HLA-DR increased. These results suggest that X and Y are ICD Inducers. Compound X has been reported to produce ROS, however, we found that CRT expression was not abolished by addition of anti-oxidants, suggesting that there are other new pathways of ICD induced by the natural products. Therefore, we are now analyzing gene expression of MUM24 after treatment with compound X. We also found that CRT expression increased in PANC1 cells after treatment with compound Y. We are going to study the precise mechanism of immunomodulatory effects of these compounds. At the same time we will evaluate the effects of these compounds on normal cells and obtain basic data for the clinical use of these compounds in pancreatic cancer.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2022000012-20220001

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.

研究代表者	所属	薬学部	職名	准教授	補助額	1,300 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 natural products with immunomodulatory effects and development of novel combined immunotherapy against pancreatic cancer						
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						
我々は免疫原性細胞死(ICD)に着目し、がん細胞に作用して患者の抗がん免疫反応を増強し得る天然由来化合物の同定を試みた。42 種の新規天然化合物群を用いて、MUM24 細胞をモデルケースとして ICD を誘導する化合物の探索を行った。まず、WST-1 assay により、5 μ M および 50 μ M で細胞増殖抑制能を有する化合物を 6 種類抽出した。次に薬剤処理後のがん細胞において ICD マーカーである Calreticulin(CRT)表出を flow cytometry により検討したところ、低濃度で CRT 発現を誘導し得る2種の化合物 X、Y を抽出した。続いて、Western blot 法にてもう一つの ICD マーカーである High Mobility Group Box 1(HMGB1)の細胞外放出を検討したところ、がん細胞からの HMGB1 の放出量増加が認められた。この際化合物Xについては類縁体 2 種についても HMGB1 の細胞外放出を検討したが、リード化合物Xと有意差は認められなかった。さらに化合物 X で処理した MUM24 細胞をヒト末梢血単核球由来樹状細胞(DCs)と共培養すると、活性化マーカーの CD80 と HLA-DR が顕著に増加し、DCs の成熟が観察された。以上より、化合物 X、Y は ICD 誘導能を有すると考えられた。化合物 X は ICD 誘導因子である活性酸素の産生を促進することが報告されているため、抗酸化剤を化合物 X に併用したところ、CRT の表出は抑制されなかった。従って、化合物 X による ICD は活性酸素を介さない新たな機序で起こっていることが推測された。さらに、化合物 X 添加前後の MUM24 より total RNA を抽出し、RNA シークエンスにより ICD を誘導する遺伝子変化について解析中である。化合物Yについては、Panc1 細胞に添加したところ、5 μ M および 50 μ M において CRT 表出が増強した。今後、これらの化合物の免疫修飾作用について作用機序の解明を行うと同時に、正常細胞への毒性の検討など、膵がん細胞に対する臨床応用を目指した基礎データを積み重ねていく。						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
We have focused on immunogenic cell death (ICD), and tried to identify natural products which could enhance anti-cancer immune response of patients. First, we checked cytotoxicity of 42 novel natural products against MUM24 cells and found 6 candidates. We next evaluated cell surface expression of calreticulin (CRT) after treatment with these products. Compound X and Y were found to induce CRT with low dose. We could also detect secretion of High Mobility Group Box 1(HMGB1) from MUM24 treated with those compounds. Then we evaluated maturation of dendritic cells (DCs) co-cultured with compound-treated cancer cells and found that expression of CD80 and HLA-DR increased. These results suggest that X and Y are ICD Inducers. Compound X has been reported to produce ROS, however, we found that CRT expression was not abolished by addition of anti-oxidants, suggesting that there are other new pathways of ICD induced by the natural products. Therefore, we are now analyzing gene expression of MUM24 after treatment with compound X. We also found that CRT expression increased in PANC1 cells after treatment with compound Y. We are going to study the precise mechanism of immunomodulatory effects of these compounds. At the same time we will evaluate the effects of these compounds on normal cells and obtain basic data for the clinical use of these compounds in pancreatic cancer.						
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)			