

抗がん剤が体の低温耐性を強くする

(約 4000 種類の薬剤から低温耐性を増強する薬剤を 2 つ発見)

甲南大学大学院自然科学研究科の久原篤 教授、岡畑 美咲 客員研究員（大阪大学大学院生命機能研究科 特任研究員 兼任）、太田茜 特任研究講師、武田薬品工業株式会社 中尾賢治 研究員(研究当時)らの研究チームは、「抗がん剤として知られるレプトマイシン B とカンプトテシンが体の低温耐性を増強させる」ことを線虫の解析から明らかにしました。

研究チームはシンプルな実験動物である線虫 *C. エレガンス*^{※1)} を用いて低温耐性を解析してきました。今回、線虫の低温耐性の実験系を用いて約 4000 種類の薬剤を使い、低温耐性が強くなる薬剤を見つけ出す解析を行ったところ、抗がん剤として知られるレプトマイシン B とカンプトテシンを線虫に投与することにより低温耐性が獲得されることを明らかにしました。レプトマイシン B あるいはカンプトテシンを投与すると、ストレス応答因子などの遺伝子の発現量が変化することが見付き、それらの遺伝子の機能が欠損した変異体において低温耐性異常がみられました。これまでに、腸が低温耐性に関わることを報告しており、レプトマイシン B とカンプトテシンは腸に指令を出す細胞で低温耐性に影響を与えていることが示唆されました。

以上の解析から、線虫を用いることで、短期間で安価に、体の低温耐性に関わる薬剤のスクリーニングを行う実験系を確立しました。本研究で同定した抗がん剤を用いることにより、体に低温耐性を獲得させることができました。ヒトにおいて同様の現象が存在すれば、将来、遠隔地から重篤患者を輸送する際の数時間の低温延命などに役に立つ可能性があると期待されます。本研究の成果は、2024 年 3 月 5 日に、Springer Nature 出版の国際科学誌である「*Scientific Reports* 誌」のオンライン速報版で公開されました。

- (1) 本件につきましては、文部科学記者会、科学記者会、兵庫県教育委員会記者クラブ、神戸市政記者クラブ、大阪科学・大学記者クラブにご連絡しております。
- (2) 取材をご希望の場合は下記担当者にご連絡いただきますようお願い申し上げます。
甲南学園 広報部 Tel : 078-435-2314 E-mail : kouhou@adm.konan-u.ac.jp

<研究の背景と経緯>

医薬品は私たちの健康を維持するために欠かせないものです。普段私たちが服用している薬ができるまでには新薬となる候補化合物をスクリーニングし、薬剤が細胞に与える影響を調べ、臨床試験を経て、臨床の場で使用できるようになります。新薬の開発は難しく、実際に使用できるようになるまでは、非常に長い年月と費用がかかります。そこで、本研究チームは、線虫 *C. エレガンス* の低温耐性現象を指標に薬剤スクリーニングの実験系を立ち上げました。線虫 *C. エレガンス* は体長約 1mm ほどの動物で、わずか 959 個の細胞から構成されています。安価で飼育することができ、20℃で飼育すると約 3 日で卵から成虫に成長します。*C. エレガンス* は非常にシンプルなモデル動物ですが、ヒトと相同な遺伝子を多く持っており、重要な生体メカニズムは線虫からヒトまで保存されています。

これまでに、本研究チームは *C. エレガンス* の低温耐性現象を指標に研究をおこなってきました。低温耐性とは、例えば、15℃で飼育した線虫は低温耐性を持ち、2℃に移されても生存

可能ですが、25℃で飼育した線虫は低温耐性を持たず、2℃では死滅する現象です（図1）。これまでに、頭部の温度受容ニューロンが温度を受容し、腸にその温度情報が伝達されることで低温耐性が獲得されることがわかってきました（Ohta et al., *Nature Commun.*, 2014; Motomura et al., *PNAS*, 2022）。それらの研究から、低温耐性現象は神経から組織間ネットワークを調べるためのハイスループットな実験系として使えることがわかっています。そこで、この低温耐性の実験系を指標として、武田薬品工業との共同研究で、体の低温耐性を強くするための薬剤スクリーニングの実験系を立ち上げることになりました。

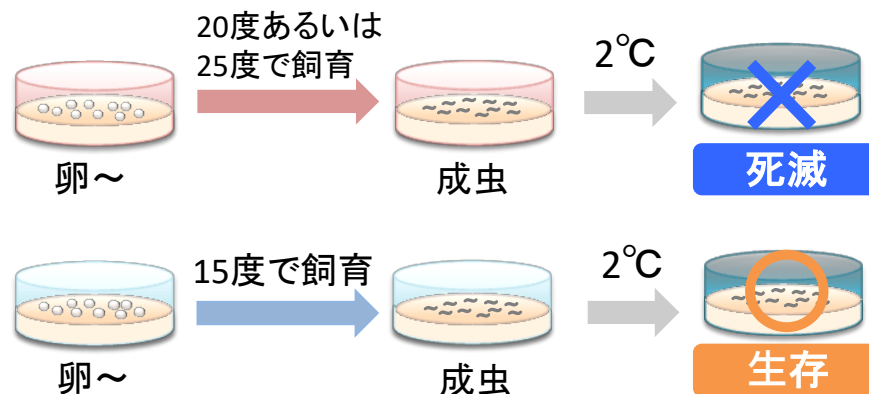


図1 線虫 *C. エレガンス* の低温耐性現象

25℃で飼育された線虫は2℃に置かれると死滅するが、15℃で飼育された線虫は2℃に置かれても生存できる。

<研究の内容>

低温耐性に影響を与える薬剤の網羅的スクリーニング

低温耐性に影響を与える薬剤を同定するために、約 4000 種類の薬剤を 1 つずつ線虫に暴露し、低温耐性を調べました（図2）。薬剤を与えずに 22~25℃で飼育した線虫は2℃で死滅しますが、抗がん剤として知られていたレプトマイシン B とカンプトテシンを暴露すると低温耐性が獲得されることがわかりました。レプトマイシン B は、細胞内のタンパク質を核から細胞質への輸送を抑制する化学物質として知られており、カンプトテシンは DNA 複製を抑制する化学物質として知られています。

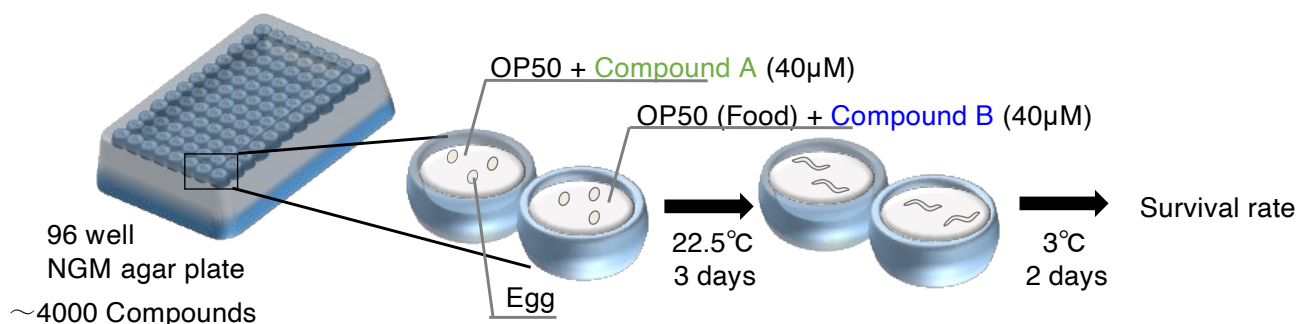


図2. 低温耐性現象を指標とした薬剤スクリーニング

約 4000 種類の薬剤を線虫 *C. エレガンス* に暴露し、低温耐性を測定した。22.5 度で飼育した線虫は死滅するのに対して、薬剤暴露により低温耐性が獲得された薬剤をスクリーニングした。

レプトマイシン B とカンプトテシンが影響を与える遺伝子の探索

スクリーニングした薬剤が影響を与える遺伝子を調べるために、トランスクリプトーム解析(RNA シーケンス解析)^{※2)}を行いました。薬剤を添加した培地で低温刺激を与えた線虫と薬剤添加なしの培地で低温刺激を与えた線虫で発現する遺伝子の種類と量を比較しました。低温刺激下においてレプトマイシン B で暴露すると、ストレス応答に関わる遺伝子を含む 1166 種類の遺伝子の発現量が上昇し、553 種類の遺伝子の発現量が減少していました。レプトマイシン B によって影響を受ける低温耐性に関わる遺伝子を調べるために、レプトマイシン B によって発現変動がみられた遺伝子の機能が欠損した変異体の低温耐性を調べました。その結果、レプトマイシン B の暴露により、発現量が減少していた遺伝子であるカドヘリンファミリー *cdh-10* と二価陽イオン輸送体 *smf-3* の変異体において低温耐性の異常がみられました。

次に、カンプトテシンによって影響を受ける低温耐性に関わる遺伝子を調べました。低温下でカンプトテシンを暴露すると、ストレス応答に関わる遺伝子を含む 695 種類の遺伝子の発現量が増加し、細胞外物質や転写因子に関わる遺伝子を含む 734 種類の遺伝子の発現量が顕著に低下していました。カンプトテシン暴露により、発現量が低下していたアルキルグリセロールモノオキシゲナーゼ *agmo-1* とセリンスレオニンキナーゼ *sad-1* の遺伝子の変異体は、低温耐性異常を示しました。

腸で低温耐性を制御する DAF-2 は薬剤の下流で低温耐性を制御する

線虫の低温耐性において、温度は頭部の温度受容ニューロンで受け取られ、そのニューロンがインスリンを分泌し、腸で発現するインスリン受容体 DAF-2 がインスリンを受容することで低温耐性が制御されます (Ohta et al., *Nature Commun.*, 2014)。腸で低温耐性に関わるインスリン受容体 DAF-2 とレプトマイシン B とカンプトテシンの遺伝学的な関係性を調べました。野生株にレプトマイシン B を暴露すると、低温耐性が上昇しますが、*daf-2* 変異体はレプトマイシン B の影響を受けませんでした。同様に、カンプトテシン暴露により野生株の低温耐性は上昇するのに対して、*daf-2* 変異体ではカンプトテシンによる低温耐性への影響はみられませんでした。これらのことから、腸の DAF-2 はレプトマイシン B あるいはカンプトテシンの下流で低温耐性を制御することが示唆されました (図 3)。

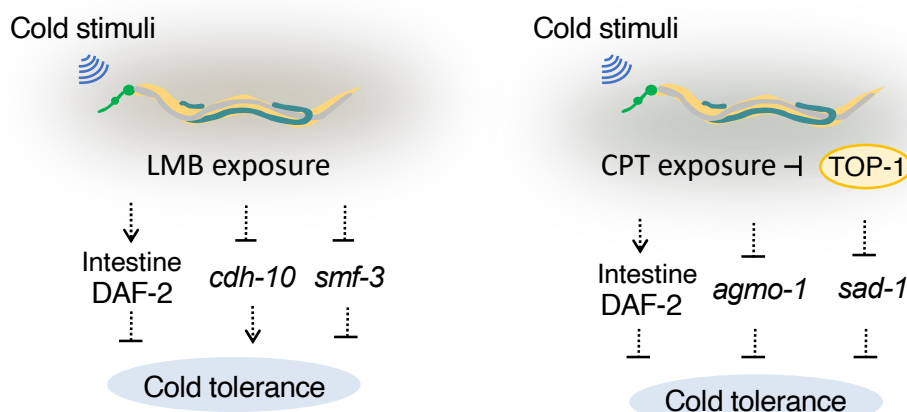


図 3. 薬剤が低温耐性に影響を与える分子経路モデル

レプトマイシン B はカドヘリンファミリー *cdh-10* と二価陽イオン輸送体 *smf-3* の発現量を低下させる。カンプトテシンはアルキルグリセロールモノオキシゲナーゼ *agmo-1* とセリンスレオニンキナーゼ *sad-1* の発現量を低下させる。これらの遺伝子の変異体は低温耐性異常を示した。抗がん剤レプトマイシン B とカンプトテシンの下流で腸の DAF-2 が低温耐性を制御する。

<今後の展開>

線虫の低温耐性現象を用いることにより、安価でかつ短期間で体の低温耐性に関わる薬剤のスクリーニングを行う実験系を構築することに成功しました。さらに、膨大な薬剤の中から、体の低温耐性を増強する薬剤を絞り込むだけでなく、薬剤が影響を与える遺伝子を見つけることができました。薬品が臨床の場で使われるようになるには、多くの時間とコストがかかりますが、本研究の実験系を使うことにより、薬剤スクリーニングから、作用機序の研究までの基礎研究をハイスループットで行うことが可能です。

本研究で同定した抗がん剤レプトマイシンBとカンプトテシンを投与することにより、線虫において低温耐性を獲得することが示されました。この研究を進めることで、将来、ヒトにおいて同様の現象が存在するのであれば、遠隔地から重篤患者を輸送する際の数時間の低温延命などに役に立つ可能性があるかと期待されます。

<研究支援>

本研究は、木下記念事業団、内藤記念科学振興財団、武田科学振興財団、甲南学園平生太郎基金科学研究奨励助成、旭硝子財団、光科学技術研究振興財団、島津科学技術振興財団、ブレインサイエンス振興財団、東レ科学振興会、日本学術振興会科学研究補助金、川西記念新明和教育財団、日本医療研究開発機構（AMED）革新的先端研究開発支援事業（PRIME）の研究費によって行われました。

<用語解説>

注1) *C. elegans*

正式名称はカエノラブディティス・エレガンス。非寄生性の線虫で、土壌中に生息している。古くから分子遺伝学的解析に使用されており、1998年には多細胞生物で初めて全ゲノムDNAの解読が終了した。ヒトの遺伝子数と同等に約2万個の遺伝子を持ち、類似の遺伝子も多い。

注2) トランスクリプトーム解析(RNAシーケンス解析)

遺伝子の発現量を調べるための手法のひとつ。次世代DNAシーケンサーを用いて、遺伝子がどれくらい転写されているかを調べることができる。

<掲載論文名>

“Screening for cold tolerance genes in *C. elegans*, whose expressions are affected by anticancer drugs camptothecin and leptomycin B”

(抗がん剤 camptothecin と leptomycin B を用いた線虫 *C. elegans* の低温耐性に関わる遺伝子スクリーニング)

英国科学雑誌「*Scientific Reports*」

14, Article number: 5401 (2024)

<https://doi.org/10.1038/s41598-024-55794-z>