

# 生体における新規ポリエチレングリコール化合物PEG-Bによる 抗腫瘍効果の検討

長崎(前岡)瑛里<sup>1)</sup>, 藤原恭子<sup>2,3)</sup>, 大日方大亮<sup>4)</sup>, 石橋直也<sup>5)</sup>, 越永従道<sup>1)</sup>, 金田英秀<sup>1)</sup>

## Analysis of anti-tumor function of new polyethylene glycol derivative PEG-B in vivo

Eri NAGASAKI-MAEOKA<sup>1)</sup>, Kyoko FUJIWARA<sup>2,3)</sup>, Daisuke OBINATA<sup>4)</sup>,  
Naoya ISHIBASHI<sup>5)</sup>, Tsugumichi KOSHINAGA<sup>1)</sup>, Hide KANEDA<sup>1)</sup>

### 要旨

本研究では、神経芽腫における新規ポリエチレングリコール化合物PEG-Bの抗腫瘍効果を検討した。*in vitro*の解析から、PEG-Bはp21<sup>WAF1</sup>を誘導して細胞周期を停止させ、神経芽腫細胞SK-N-ASの増殖を抑制していると考えられた。神経芽腫モデルマウスを作成しPEG-Bを週1回3週間尾静脈投与すると、有意差は認められないもののPEG-Bによる腫瘍増殖抑制傾向が認められた。以上の結果はPEG-Bが神経芽腫に対する新規治療薬として有望である可能性を示唆しており、今後は投与方法を変更し再検討する予定である。

### 1. はじめに

神経芽腫は胎生期の神経堤細胞に由来する腫瘍であり、脳腫瘍を除く小児悪性固形腫瘍で最も高頻度で認められる<sup>1)</sup>。集学的治療を行っても高リスク群の5年生存率は50%である<sup>1)</sup>ため、新規治療法の開発が切望される。

子囊菌由来ポリエチレングリコール化合物の誘導體として合成されたPEG-B(特許第5364532号, 図1A)は、培養系および動物実験において、膵癌などの悪性腫瘍に対して強い腫瘍増殖抑制効果を示す<sup>2)</sup>。このためPEG-Bは新規の抗腫瘍薬として期待できるが、神経芽腫における効果は未だ明らかでない。

本研究では、神経芽腫細胞株SK-N-ASに対するPEG-Bの抗腫瘍効果と作用機序を解析した。さらに、神経芽腫皮下腫瘍モデルマウスを作成し、PEG-Bの経尾静脈投与による腫瘍増大抑制効果を検討した。

### 2. 対象及び方法

神経芽腫細胞SK-N-ASにPEG-B 1  $\mu$  M添加し、24時間毎に1週間WST-8 assayを行い、細胞増殖能を検討した。グラフは、PEG-B添加前(day0)を1とした増殖曲線で示した。またPEG-B添加後の細胞周期関連遺伝子p21<sup>WAF1</sup>の発現変化について、Real-time PCRで解析した。

さらに腫瘍モデルマウスを作成し、生体におけるPEG-Bの抗腫瘍効果を検討した。NOD/SCIDマウス(週令5, メス)の右側腹部皮下にSK-N-AS細胞を1頭あたり $2 \times 10^5$ 個ずつ移植した。週1回、腫瘍の長径(a), 短径(b), 高さ(c)(mm)を計測し、腫瘍体積(V)(mm<sup>3</sup>)を以下の式で求めた:  $V=1/2 \times a \times b \times c$ 。腫瘍容積が200mm<sup>3</sup>を超えた時点で、PEG-B(15mg/kg body weight)または溶媒(水)を週1回3週間経尾静脈投与した。最終投与日の1週間後に安楽死させ、剖検および腫瘍の摘出を行った。腫瘍増

1) 日本大学医学部外科学系小児外科学分野  
2) 日本大学医学部内科学系総合診療学分野  
3) 日本大学歯学部解剖学等I講座  
4) 日本大学医学部泌尿器科学系泌尿器科学分野  
5) 日本大学医学部放射線医学系放射線医学分野  
金田英秀: kaneda.hide@nihon-u.ac.jp

大率は、PEG-B投与開始時の腫瘍容積を1としたときの解剖時の腫瘍容積の比で算出した。

### 3. 結果

SK-N-ASにおいて、PEG-B 1  $\mu$  M添加後の細胞増殖能を解析すると、PEG-B添加後に細胞増殖は全くみられず、添加後1日目より非添加群との間に有意な差を認めた (図1B, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ )。

PEG-Bの細胞増殖抑制効果が確認できたことから、細胞周期の停止に関与する $p21^{WAF1}$ の発現状態への影響についての検討を行った。Real-time PCRで解析した結果、PEG-B添加により $p21^{WAF1}$ の発現が亢進した (図1C, \*\* $P < 0.01$ )。

さらに、神経芽腫のモデルマウスを作成し、生体

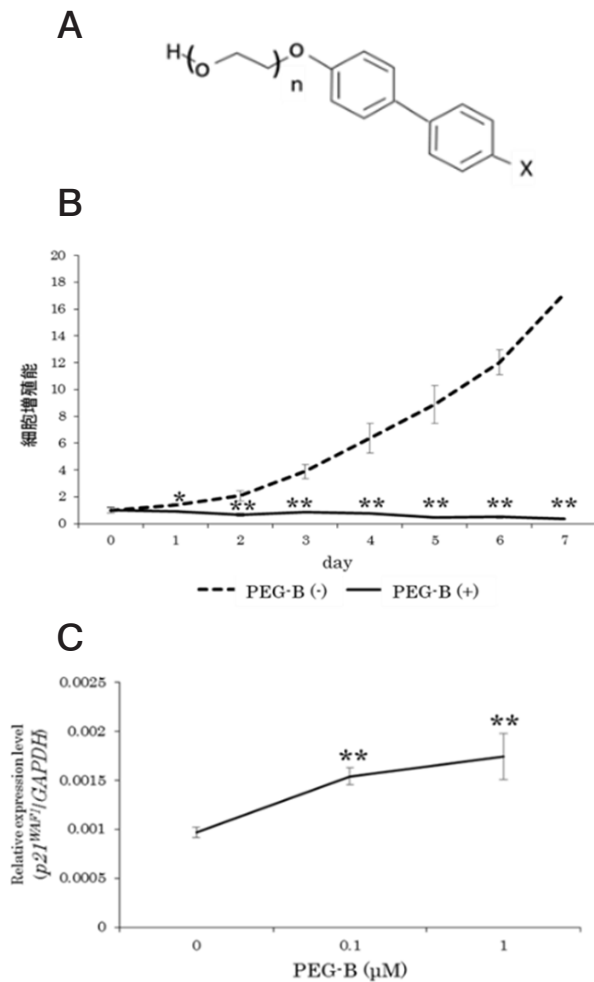


図1 PEG-Bは $p21^{WAF1}$ を誘導して神経芽腫細胞の増殖を抑制する (A) PEG-Bの構造. (B) SK-N-ASにおけるPEG-B添加後の細胞増殖能. (C) PEG-B添加後の細胞周期関連遺伝子 $p21^{WAF1}$ の発現変化。

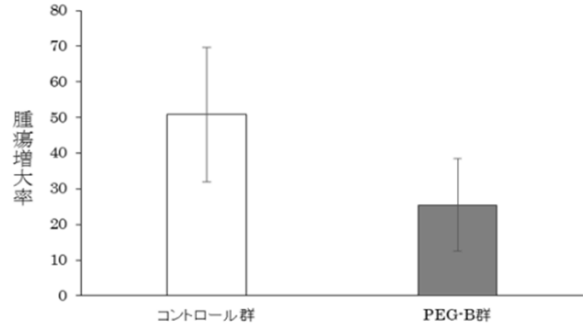


図2 in vivoにおいてPEG-B投与群では腫瘍増殖抑制傾向を認める

におけるPEG-Bの抗腫瘍効果を検討した。各群 $n=4$ で解析した結果、腫瘍増大率はコントロール群で $50.8 \pm 18.8$ 、PEG-B群で $25.5 \pm 13.1$ であった。PEG-B群で腫瘍増殖抑制傾向が認められたが、有意差は認めなかった (図2,  $P=0.069$ )。またコントロール群、PEG-B投与群とも、肉眼的に肝、肺に転移は認めなかった。

### 4. 考察

PEG-Bは $p21^{WAF1}$ を誘導して細胞周期を停止させ、SK-N-ASの増殖を抑制していると考えられた。 $p21^{WAF1}$ の発現はがん抑制遺伝子p53により制御されているため、p53依存的な細胞周期の停止を媒介している可能性は考えられる。現在、Western blottingによるp53蛋白のリン酸化状態の変化の検討、およびフローサイトメトリーによる細胞周期の解析を進めている。

神経芽腫モデルマウスにおいてPEG-Bを経尾静脈投与すると、PEG-B群では有意差は認めないものの、腫瘍増殖抑制傾向が認められた。今後はPEG-Bの投与量を変更して再実験する予定である。

### 5. 結語

PEG-Bは神経芽腫に対し細胞増殖抑制効果を示したが、生体内における抗腫瘍効果については引き続き投与量を変更し、最適な投与条件を検討する必要がある。

文 献

- 1) Park JR, Bagatell R, London WB, et al. Children's Oncology Group's 2013 blueprint for research: Neuroblastoma. *Pediatr Blood Cancer*. 2013; 60 (6) : 985-993.
- 2) Senka Pharmacy Co., Ltd. Polyethylene glycol derivatives and anticancer drugs containing them. JP5364532B2. 2013-12-11.