

# 重力変動ががん治療薬の効果に与える影響の解明

平田 大賀（北大・遺制研）、山口 茜（株式会社エイ・イー・エス）、梅村 さや香（JAXA）、嶋津 徹（エルエスアイ合同会社）、田中 浩則（株式会社松尾製作所）、遠藤 均（ヤマト科学株式会社）、森口 卓哉（北大・遺制研）、福田 純己（北大・遺制研）、山村 凌大（北大・遺制研）、稲富 裕光（JAXA）、高橋 昭久（群大・重粒子）、園下 将大（北大・遺制研）

## Delineating the effect of microgravity on the efficacy of anti-cancer drugs

Taiga Hirata\*, Akane Yamaguchi\*\*, Sayaka Umemura\*\*\*, Toru Shimazu\*\*\*\*, Hironori Tanaka#, Hitoshi Endo##, Takuya Moriguchi\*, Junki Fukuda\*, Ryodai Yamamura\*, Yuko Inatom####, Akihisa Takahashi####, Masahiro Sonoshita\*

\*Institute for Genetic Medicine, Hokkaido Univ, Sapporo 060-0815

\*\*Advanced Engineering Services Co., Ltd., Tsukuba 305-0032

\*\*\*Japan Exploration Agency, Tsukuba 305-8505

\*\*\*\*Space Life Science International LLC, Tokyo 101-0062

#Matsuo Industries Inc., Obu-shi 474-0001

##Yamato Scientific Co., Ltd. Kanagawa.243-0003

###Japan Aerospace Exploration Agency, Sagami 252-5210

####Gunma Univ Heavy Ion Medical Center, Maebashi 371-8511

E-Mail: msonoshita@igm.hokudai.ac.jp

Abstract: Based upon recent advancements in the field of space aviation, the feasibility of medium to long-term stays in deep space is increasing. Consequently, the development of treatment options for diseases in space has become an urgent priority. Utilizing *Drosophila*, we have recently discovered the possibility that cancer drug efficacy may decrease under simulated microgravity conditions. The next steps involve confirming the reproducibility of these results in the "Kibo" module in International space station and laying the foundation for similar analyses in deep space. Through these efforts, the goal is to elucidate the impact and mechanisms of the space environment on cancer drug efficacy, paving the way for the development of effective cancer treatments in space.

Key words; Space experiment, International space station, Space Cancer Therapeutics, *Drosophila*

### 1. はじめに

近年、深宇宙探査ゲートウェイ構想やアルテミス計画が立案され、それらの実現に向けた宇宙開発が顕著に進捗しており、将来の中長期的な有人宇宙飛行や月および火星への滞在の実現可能性も高まりつつある。それに伴い、これらの際に発生する疾患の制御法の研究が大きな課題となっている。これまでに、筋力低下や骨密度低下などの短期的な影響についての解析は大きく進んだが、より長期的な飛行や滞在が生活習慣病など様々な疾患の発症やその治療法の効果に与える影響は十分に解析されていない。

我々は最近、代表的な難治がんである膵がんの患者の遺伝子変異パターンを模倣したショウジョウバエを作出し、このハエを用いた地上実験から、既存の治療法が微小重力下では十分な効果を発揮できない可能性があることを見出した。そこで我々は、実際の宇宙環境におけるこの結果の再現性を取得すべく、「きぼう」における解析準備を進めている。さらに、将来的に月軌道上や月面、火星面での解析も視野に入れており、宇宙環境ががん治療薬の効果に与える影響とその機序を解明し、宇宙で有効ながん治療薬と将来の「宇宙がん

創薬学」の創出への道筋を作ることを目指している。

### 2. ショウジョウバエを哺乳類モデルと連動させたがん研究

地上においてがんは、我が国の死因の第1位を過去40年以上にわたって占めるなど、世界的に極めて重大な福祉課題となっている。地上におけるこれまでの研究で、がん発生に関与する遺伝子が多数発見され、治療薬やその候補の開発が進められてきた。しかし、宇宙飛行ががんの病態や治療薬の効果に与える影響は、がん細胞を sounding rocketや国際宇宙ステーションで飛行させて回収し、その飛行が遺伝子発現全般に与える影響を解析する等にとどまっており、個体レベルの解析は十分とは言えない<sup>1</sup>。筆者らはこれまで、ヒト培養がん細胞や遺伝子改変マウスモデルを用いて、プロスタグランジンE2による血管新生の促進やNotchシグナル伝達経路によるがん細胞の増殖・運動能亢進など、大腸がんの発生機序の解明や新規治療標的の同定に成功してきた<sup>2-5</sup>。しかし、マウスは飼育・操作の煩雑さや、解析に必要な人的労力および研究資源の大きさが足枷となっており、

このことはより詳細ながん発生機序の解析や新薬の開発を遅延させる極めて重大な要因となっている。

これを解決すべく筆者らは近年、ショウジョウバエをこれら哺乳類実験系と組み合わせた研究を展開している。ハエは、哺乳類実験系を補完する以下の特徴を有する<sup>6,7</sup>。すなわち、ハエはヒトとの間の遺伝的保存度が高く（ヒト疾患で異常が確認されている遺伝子の75%以上がハエゲノムにも存在）、各種遺伝子のノックアウト系統が既に入手可能なため個体レベルでの遺伝学実験が容易で（全遺伝子のノックアウト・ノックダウン系統を1系統あたり約1,000円で購入可能）、繁殖も安価かつ容易（1匹あたりの飼育費用はマウスの約1/1,000で、動物倫理による実験制約が少なく、約10日間で次世代の取得が可能）であるなど数々の利点を備える。さらに重要なのは、がんに関連する遺伝子の機能やキナーゼ阻害薬に対する応答がヒトと極めて類似している点である。実際に筆者らは最近、この研究基盤を活用して認可済みキナーゼ阻害薬の毒性が発現する機序を解明した。そして、その情報を元に当該薬の構造を改変して毒性を大幅に低減する論理的創薬手法「Rational Polypharmacology」を開発し、がんモデルマウスで顕著な抗腫瘍効果を発揮する新規キナーゼ阻害薬リードを開発することに成功した<sup>8,9</sup>。この成果は、長年困難な状況が続いているがん治療薬開発において既存の治療法を補完するものとして高く評価されており<sup>10</sup>、創出したリードは米国特許を取得済みである<sup>11</sup>。

これらの研究基盤を活用し、筆者らは最近、代表的な難治がんである膵がんの研究に取り組んでいる。膵がんはがんの中でも特に治療の選択肢が少なく、患者の5年生存率は10%程度と各種のがんの中で最低である<sup>12</sup>。現在がん死因の第4位を占めるが、2030年までに第2位に浮上すると予想されており<sup>13</sup>、厚生労働省も膵がんの治療成績向上が喫緊の福祉課題であると宣言している。このように、膵がんの予防や治療薬の開発は極めて重要なアンメットニーズとなっている。

膵がんでは、特に4遺伝子の変異（がん遺伝子 *KRAS* の活性化、がん抑制遺伝子群 *TP53*・*P16*・

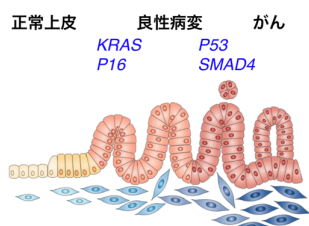


図1：膵がんの多段階発がん仮説。複数の遺伝子変異が蓄積して悪性化すると考えられている。Morris et al. 2010 を改変。

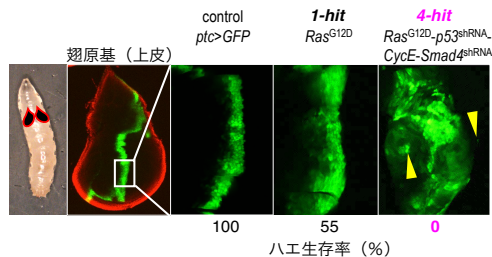


図2：膵がん遺伝子型モデルハエ群における形質転換表現型。幼虫の翅原基の帯状の領域で遺伝子操作を実施。赤：翅原基輪郭。黒：野生型領域。Ras 活性化により、上皮細胞の増殖が亢進して帯が広くなる（1-hit：右から2枚目）。遺伝子変異が蓄積した4-hitハエでは一層増殖が活発になり、遊走能が亢進して元の領域から離脱する細胞が出現し（右：矢頭）、ハエは致死となる。CycE：ハエには *p16* が存在しないため、*p16* の不活性化を模倣するハエ *Cyclin E* の過剰発現にて代替。shRNA：shRNA による遺伝子ノックダウン。

*SMAD4* の不活性化) が単独あるいは組み合わせとして高頻度に観察される（図1）。そして、最も予後が悪い患者群がこれら4遺伝子全ての異常を有することが報告されている<sup>14</sup>。しかしこれまでにこの遺伝子型を模倣した組換えモデルマウスは存在せず、膵がんの創薬研究は難航していた。

そこで筆者は最近、ハエ遺伝学を駆使し、上記4遺伝子変異型の初のモデル動物となる膵がん遺伝子型モデルハエ（4-hitハエ）を作出した（図2）。そしてこのハエの網羅的遺伝学解析により、がん促進タンパク RAS のエフェクター因子 MEK（MAPK/ERK kinase）や AURKB（AURORA キナーゼ B）の抑制が腫瘍形質を抑制することを見出すとともに、MEK 阻害薬 trametinib や AURKB 阻害剤 BI-831266 がヒト膵がん移植モデルマウスでも有効な治療薬シーズであることを発見した<sup>15,16</sup>（図3）。これらの結果は、ハエを活用することで個体レベルで初めて膵がんの新規治療標的や治療薬候補の同定が可能になったことを示している。

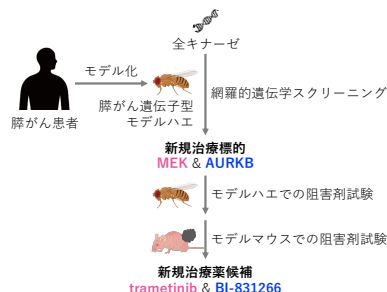


図3：ハエの表現型スクリーニングを起点とする新規膵がん治療薬シーズの同定。

### 3. 微小重力ががん治療薬の効果に及ぼす影響の解析

上述の通り筆者らは、腫瘍形質が遺伝子変異の蓄積に起因することを見出したが、一方で腫瘍形

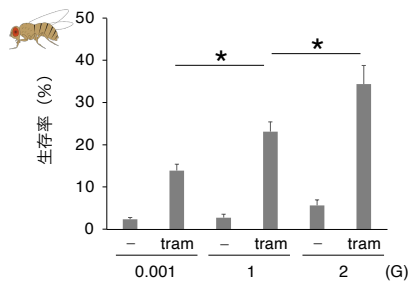


図4：重力変化はがん治療薬の効果に影響を与える。trametinib 投与および非投与 4-hit ハエをクリノスタットに搭載し、重力を変化させた際のがん形質を、14 日後のハエ生存率を指標にして定量化した。G, gravity. tram, trametinib. \* $P < 0.05$  in Dunnett's test.

質はこういった内的要因のほかにも外的要因にも影響を受ける。外的要因としては重力、温度、圧力など多数の因子が挙げられ、筆者らはこれらのうち重要な因子を炙り出すスクリーニングを 4-hit ハエで実施する着想を得た。

この中で筆者らは擬似微小重力環境を再現したクリノスタットでの 4-hit ハエの飼育実験から、擬似微小重力下では通常重力下と比較して trametinib の効果が減弱することを見出した (図4)。この要因として薬物の摂取量の低下や体内動態の変化等が考えられたが、非遺伝子組換えハエを使用した解析で trametinib の最大耐量に変化がないことも分かり、これらはこの減弱に寄与していないものと考えられる。一方興味深いことに、クリノスタットを使用した過重力下では逆に薬効が上昇することも分かった (図4)。これらの結果は、重力の変動ががん治療薬の効果に影響を与えることを示唆している。さらに擬似微小重力の結果は、宇宙の微小重力環境においては地上における薬効を期待通りに得ることができないという、宇宙における福祉に大きな影響が出る可能性も示すものである。

以上を踏まえ筆者らは、真の微小重力環境である低軌道上においても薬効低下が再現するか検討することを企図して、JAXA の 2020 年度「きぼう」利用フィジビリティスタディ (FS) 募集に「宇宙環境ががん治療薬の効果に与える影響の解明」を応募し、採択された。これは、「きぼう」で 4-hit ハエを飼育して trametinib を投与し、その効果を軌道上や地上の対照と比較するとともに、被投与ハエを地上に戻して遺伝子発現解析し薬効規定機序を同定する一連の解析の実現を目指し、評価項目や課題を同定・解決するものである。これまでに軌道上実験に使用するハエ飼育容器の設計・試作やハエへの薬物投与プロトコルの策定等の FS を進め、2023 年の審査会にて無事に宇宙実験「Space Cancer Therapeutics」の準備を進めることが承認された。2025 年の実験実施に向け、現在も鋭意準備

を進めている。この FS の中で筆者らは、4-hit ハエの RNA-seq 解析により擬似微小重力下でがん形質に影響を与える可能性のある遺伝子も見出しており、今後更なる解析を進める予定である。

#### 4. 深宇宙における薬効解析基盤の確立に向けて

上述のように筆者らは、低軌道における薬効低下の可能性を見出したが、近年深宇宙探査ゲートウェイ構想やアルテミス計画が立案され、将来の中長期的な有人宇宙飛行や月および火星への滞在の実現可能性が一層高まっている。2024 年 1 月 25 日の小型月着陸実証機「SLIM」の月へのピンポイント着陸成功など、これらの実現可能性を大きく上げる技術開発も進展している。

この状況を鑑み筆者らは、月軌道上や月面等におけるがん治療薬の薬効を検討する解析の実施に向け、2023 年度フロントローディング研究に応募した。これは、実際の月面や火星面での解析の前段階として「きぼう」において月面重力 (1/6G) や火星面重力 (3/8G) を再現し、4-hit ハエを活用して trametinib の効果を解析する FS の提案を目指すものである。「がん治療薬の効果検証モデルハエによる深宇宙実験システムの確立」と銘打ったこの課題も幸い採択され、これらの環境でも有効な治療薬を創出することを目指して研究がスタートした。この取り組みは、筆者らが所属する日本宇宙生物学会が掲げるロードマップ (2015 年発表) や、日本マイクログラビティ応用学会が掲げる微小重力科学ロードマップ (2015 年発表) における、2020 年代前半の生命科学の推進や 2020 年代後半の分子治療薬の開発の推進に合致するものである。

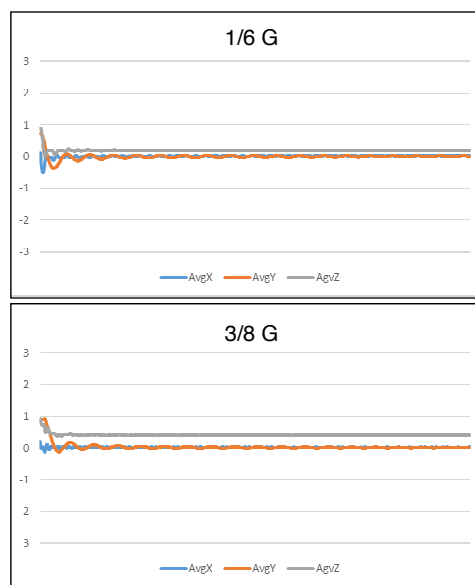


図5：各重力の再現試験。Z 軸 (灰) にて、動作開始から約 20 秒後に安定した結果を得られた。X 軸 (青)、Y 軸 (橙) の回転速度は固定であり、13 rpm と 11 rpm である。上、1/6G 再現試験。下、3/8G 再現試験。

現在筆者らは、クリノスタットにおけるこれらの重力の再現やハエ撮像機構の搭載、クリノスタット解析対象ハエ数の増加を狙う新規ハエ飼育バイアル取り付け用アタッチメントの開発等を進めている。このうち前者については、地上のクリノスタットにおいてモーター制御機構の改良による回転速度の安定化やウェイト搭載による重量バランスの均一化等により、1/6Gや3/8Gを再現することに成功している（図5）。

## 5. おわりに

筆者らが得た知見は、重力変化が薬物応答性を含むがん形質に影響を与える可能性を示唆している。今後は、「きぼう」でのハエ飼育やリターンサンプルの解析、哺乳類モデルでの結果確認、そして月面等における解析を目指す新規FS提案に向けた解析を推進することで、宇宙でも有効ながん治療薬を開発する「宇宙がん創薬学」の創出を一層推進したい。

## 参考文献

1. Prasad, B. *et al.* Exploration of space to achieve scientific breakthroughs. *Biotechnol. Adv.* **43**, 107572 (2020).
2. Sonoshita, M. *et al.* Acceleration of intestinal polyposis through prostaglandin receptor EP2 in Apc(Delta 716) knockout mice. *Nat. Med.* **7**, 1048–1051 (2001).
3. Sonoshita, M., Takaku, K., Oshima, M., Sugihara, K.-I. & Taketo, M. M. Cyclooxygenase-2 expression in fibroblasts and endothelial cells of intestinal polyps. *Cancer Res.* **62**, 6846–6849 (2002).
4. Sonoshita, M. *et al.* Suppression of colon cancer metastasis by Aes through inhibition of Notch signaling. *Cancer Cell* **19**, 125–137 (2011).
5. Sonoshita, M. *et al.* Promotion of colorectal cancer invasion and metastasis through activation of NOTCH-DAB1-ABL-RHOGEF protein TRIO. *Cancer Discov.* **5**, 198–211 (2015).
6. Yamamura, R., Ooshio, T. & Sonoshita, M. Tiny *Drosophila* makes giant strides in cancer research. *Cancer Sci.* **112**, 505–514 (2021).
7. Jiang, H., Kimura, T., Hai, H., Yamamura, R. & Sonoshita, M. *Drosophila* as a toolkit to tackle cancer and its metabolism. *Front. Oncol.* **12**, (2022).
8. Sonoshita, M. *et al.* A whole-animal platform to advance a clinical kinase inhibitor into new disease space. *Nat. Chem. Biol.* (2018) doi:10.1038/nchembio.2556.
9. Ung, P. M. U. *et al.* Integrated computational and *Drosophila* cancer model platform captures previously unappreciated chemicals perturbing a kinase network. *PLoS Comput. Biol.* **15**, e1006878 (2019).
10. Su, T. T. Drug screening in *Drosophila*; why, when, and when not? *Dev. Biol.* **8**, e346 (2019).
11. Dar, A. C., Cagan, R. L., Scopton, A. P. & Sonoshita, M. Kinase inhibitor compounds, compositions, and methods of treating cancer. US Patent 11,066,370B2.
12. Morris, J. P., Wang, S. C. & Hebrok, M. KRAS, Hedgehog, Wnt and the twisted developmental biology of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Nat. Rev. Cancer* **10**, 683–695 (2010).
13. Rahib, L., Wehner, M. R., Matrisian, L. M. & Nead, K. T. Estimated Projection of US Cancer Incidence and Death to 2040. *JAMA Netw Open* **4**, e214708 (2021).
14. Qian, Z. R. *et al.* Association of Alterations in Main Driver Genes With Outcomes of Patients With Resected Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *JAMA Oncol* (2017) doi:10.1001/jamaoncol.2017.3420.
15. Sekiya, S. *et al.* *Drosophila* Screening Identifies Dual Inhibition of MEK and AURKB as an Effective Therapy for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cancer Res.* **83**, 2704–2715 (2023).
16. 園下将大, 関谷翔, 平野聡. 抗がん剤をスクリーニングする方法及び膵がんの治療のためのキナーゼ阻害剤の組み合わせ医薬. 国際特願 PCT/JP2021/007651.

## 謝辞

これらの研究を推進するにあたり、橋爪藤子様（株式会社エイ・イー・エス）、山盛徹様（日本宇宙フォーラム）、中川浩二郎様（北川鉄工所株式会社）、桐間惇也様（JAXA）から大変貴重なご助力を賜りました。深くお礼申し上げます。