

【総説】

サリノマイシンの抗がん剤としての作用機序

細川洋一郎*¹ 嵯峨涼*¹ 寺島真悟*¹

(2023年10月5日受付, 2023年11月10日受理)

要旨 : 悪性腫瘍内部には、少数の癌幹細胞と呼ばれる細胞が存在し、自己複製能と分化能を保持しながら、腫瘍塊を構成する大多数の癌細胞を供給している。そして癌幹細胞が、薬剤耐性、腫瘍の再発、および転移を引き起こすと考えられている。従って癌の予後改善のためには、多くの非癌幹細胞と幹細胞の両方を根絶することが重要になる。Streptomyces albus から分離されたモノカルボン酸ポリエーテル系抗生物質であるサリノマイシンは、アポトーシス、オートファジーなどのメカニズムによって、癌幹細胞を殺傷することができる。またサリノマイシンが癌細胞増殖、浸潤、遊走を阻害し、微小環境を変化させて腫瘍の成長と転移を防ぐことができるという研究が増えつつある。したがって癌治療の予後改善のためサリノマイシンは有望な薬剤と考えられる。本総説では、現在まで解明されているサリノマイシンの抗癌作用機序の研究を中心に紹介し、今後の癌治療の展望について概説した。

キーワード : サリノマイシン, 癌幹細胞, 再発, 転移, 抗癌剤

I. はじめに

癌治療は、手術、放射線、化学療法、免疫療法によって行われており、これら治療法は日々進歩を続けている。しかし、本邦における2021年のがん死亡数は38万人で、死亡総数の26.5%を占めており、1981年から41年連続で死因の1位である¹⁾。また世界的にも癌は死因の2番目に位置し、癌に罹患した多くの患者が、転移、再発、薬剤や放射線の耐性により死亡しているのが実情である^{2,3)}。人の死に直接結びつく、転移、再発、耐性獲得などの癌の特性は、過去20年間の研究により、腫瘍内の癌幹細胞によってもたらされると考えられている⁴⁾。Shinbueらは、癌幹細胞に対して従来の治療法の効果は十分ではなく、癌幹細胞による再発の重大さを指摘している⁵⁾。従って、さらなる治療成績の向上に向けて、癌幹細胞の細胞死の誘導や活性の低下が重要な課題となっている。

サリノマイシンは、Streptomyces albus 由来のモノカルボン酸ポリエーテル系抗生物質で、グラム陽性菌、真菌、寄生虫、原生動物に対して広域スペクトルを示し、生体膜に機能し、陽イオン、特にカリウムに対して高い親和性を示し、浸透圧に影響を与え、細胞の内側と外側の間のイオン濃度のバランスを崩すことによって細胞破壊を惹起する⁶⁾。サリノマイシンは畜産業において抗コクシジウム薬として広く使用されており、反芻動物に与えることで、栄養吸収を促し、成長を促進する⁷⁾。抗癌剤として利用されているサリノマイシンは、ヒトに対する使用においても毒性の低いことが知られている⁸⁾。

サリノマイシンはこのように抗生剤として広く使用されていたが、抗癌効果のあることが示され、特に注目されたのは癌幹細胞や抗癌剤耐性細胞にも有効であったことである⁹⁾。乳癌の癌幹細胞に対する有効性を明確に示したのはGuptaらで、乳癌の癌幹細胞に対する化学物質のスクリーニングを行い、有効性がある物質を特定し、その中でもサリノマイシンの有効性が最も高いと結論している¹⁰⁾。その後、前立腺癌、脳腫瘍、造血器腫瘍、肝臓癌、肺癌などの腫瘍細胞を使った実験で、癌幹細胞に対するサリノマイシンの有効性が報告されている¹¹⁾。また抗癌剤であるドキソルビシン、シスプラチン、イマニチブ、ゲムシタピン、テモゾロミドなどに対する耐性細胞においても、サリノマイシンが効果のあることが報告されている¹²⁾。

現在、本邦においてサリノマイシンはヒトに対して使用されていない。しかし今後、サリノマイシンは有効な癌治療薬になることが期待されており、癌の増殖、浸潤、および細胞死に与える影響を中心に、サリノマイシンの作用機序に関する現在までの知見を紹介する。

II. 癌幹細胞とサリノマイシン

現在考えられている仮説によれば、癌は正常組織の階層的組織分化を反映しており、腫瘍塊における階層の上流に癌幹細胞が存在する¹³⁾。そして腫瘍塊は、癌幹細胞による自己複製による癌幹細胞と、癌幹細胞の異種分化により引き起こされた非癌幹細胞により構成され、この非癌幹細胞の増殖能は低く、従って腫瘍形成能を失うと考えられている^{14,15)}。このように正常組織発生と同様に階層的分化をするのであれば、腫瘍内においても、エピジェネティックで後天的なシグナル伝達経路が、この階層的分化の構造的および組織的調節をしていると考えられる。そしてこのエ

*1 弘前大学医学部保健学科
Hirosaki University School of Health Sciences
〒036-8564 青森県弘前市本町 66-1 TEL:0172-33-5111
66-1, Honcho, Hirosaki-shi, Aomori, 036-8564, Japan
Correspondence Author hosokawa@hirosaki-u.ac.jp

ピジエネティックな変化を通じて自分自身を更新し、新しい突然変異を獲得し、環境に迅速に適応し、それによって最初の腫瘍とは異なる分子特性を持つ新しい腫瘍を形成する。この様な過程を経て、癌幹細胞は薬剤耐性や放射線耐性を獲得し再発を起こし、また転移を生じると考えられている¹⁶⁾。すなわち、分化した非癌幹細胞のみ死滅させても、癌幹細胞の排除ができない場合は悪性腫瘍の再発は避けられないと考えられ、分化した非癌幹細胞の消失と、癌幹細胞の特異的な排除を並立させることが、癌治療の分野における重要な研究課題となっている。

この様な背景から、サリノマイシンによる癌幹細胞減少の研究が、いろいろな角度から行われている¹⁷⁻¹⁹⁾。Guptaらは、サリノマイシンは現在の標準的治療薬であるパクリタキセルより、癌幹細胞に対して100倍以上の効果があると報告した²⁰⁾。また、サリノマイシンは、Bcl-2発現を低下し、癌幹細胞特性の指標となるスフィア形成能を有する細胞のアポトーシスを増加させ、c-MycおよびSnail発現の低下による細胞浸潤能を低下させる²¹⁾。また、乳癌細胞による実験では、サリノマイシンはWntやHedgehogシグナル伝達、またはアルデヒド脱水素酵素活性に影響を与え、スフィア形成能の抑制、細胞アポトーシスを誘導して細胞増殖の阻害を行う²²⁾。前立腺癌細胞における研究では、サリノマイシンはアルデヒド脱水素酵素活性とMyc、およびERGの発現を低下させ、nuclear factor-kappa B (NF-κB)活性を阻害することが報告されている²³⁾。サリノマイシンの癌幹細胞ならびに非癌幹細胞に対する効果の根底にある作用機序は完全には解明されていないが、新しい研究が、その分子メカニズムと作用機序に関する新知見を提供しており、その概要を紹介する。

III. アポトーシスについて

正常組織においても、アポトーシスは、胚発生、組織の恒常性、および免疫調節中に、不要あるいは有害な細胞の除去に関わる細胞死経路である²⁴⁾。癌の治療においては、アポトーシスによる癌細胞の細胞死が達成されれば、再発のない治療法としてアポトーシスの役割は重要である。抗癌剤治療や放射線治療において、アポトーシスを起こしやすしい造血器腫瘍には特に有効で、それに比較して固形癌ではアポトーシスを起こす割合は多くないが、それでも癌細胞の増殖抑制方法としての意義は大きい²⁵⁾。アポトーシスは複数のシグナル経路によって引き起こされ、複数の複雑な外因性および内因性リガンドによって調節されている。外因性アポトーシスは、膜貫通受容体媒介相互作用がかかわり、これら多くは腫瘍壊死因子受容体遺伝子スーパーファミリーのメンバーである細胞死受容体にかかわる。内因性アポトーシスは、多様な非受容体媒介性刺激にかかわり、それは細胞内の標的に直接作用する細胞内シグナルを生成し、ミトコンドリアによって開始された事象である²⁶⁾。

この二つに分類されたアポトーシスの個々の分子生物学的経路は数多く枝分かれし、複雑であるが、サリノマイシンの研究のいくつかは、その解明に焦点を当てている。細胞が耐性を持つ場合、細胞膜のABC輸送体が増加し細胞内からの薬剤の排出が増える。Fuchsらの研究によると、このABC輸送体が高発現しているヒト急性骨髄性白血病細胞に由来する薬剤耐性癌幹細胞様細胞にサリノマイシンを作用させると、アポトーシスが増加した²⁷⁾。Arafatらは、非小細胞肺癌細胞にサリノマイシンを作用させると、カスパーゼ3/7経路が活性化し、アポトーシスにより癌細胞が減少したと報告している²⁸⁾。また、乳癌細胞に抗癌剤とサリノマイシンを添加した場合、抗癌剤単独の場合と比較して、DNA2重鎖切断が増加し、p53のリン酸化を起こしγH2AXの発現が上昇し、アポトーシスが増加した²⁹⁾。他の乳癌細胞を使った研究では、サリノマイシンを添加すると活性酸素が発生し、アポトーシス促進タンパク質Baxの発現を誘導するが、一方、抗アポトーシスタンパク質Bcl-2の発現を阻害し、Bax/Bcl-2比の増加がアポトーシスを誘発していた^{30,31)}。また、Tyagiらはシスプラチン抵抗性乳癌細胞にサリノマイシンを投与すると、NF-κBが減少し、ミトコンドリアの障害が生じ、アポトーシスを引き起こしたと報告している³²⁾。また、Serttasらもサリノマイシンのアポトーシスによる抗腫瘍活性は、NF-κB蛋白の移行の減少、カスパーゼ3の誘導、およびHIF-1α/VEGF (hypoxia-inducible factor, HIF) (vascular endothelial growth factor, VEGF)の低下によると述べている³³⁾。以上のように、サリノマイシンによる癌細胞のアポトーシス誘導経路はいくつか報告されているが、アポトーシス誘導が特定の細胞あるいは癌幹細胞に依存している可能性もあり、今後の研究が待たれる。

IV. オートファジーについて

オートファジーは、リソソームを介して細胞自身の細胞内小器官の分解を調節するプロセスであり、細胞質にオートファジー液泡が出現することを特徴としている。これは、損傷した細胞内小器官のリサイクルとエネルギー供給のための生理学的プロセスと見なすことができ、広範囲に活性化されると細胞死につながる。低レベルでは、オートファジーはエネルギーを供給しながら損傷したタンパク質と細胞内小器官を除去することにより、細胞の生存を促進するが、オートファジーの過剰かつ長期的な促進は、最終的にはタンパク質と細胞内小器官を破壊し、細胞死を引き起こす³⁴⁾。

オートファジーの概念の発見は比較的新しく、未知の領域が多いこともあり、オートファジーを題材とした癌治療に対する研究が、現在、盛んに行われている^{35,36)}。その場合、オートファジーは、細胞死を誘発する癌治療に貢献する立場と、逆に癌細胞の生存を促進する可能性の両面性を

もっていることに注意しなければならない。従って、癌幹細胞の抵抗性がオートファジーに関連している可能性も考えられ、その研究も多い³⁷⁾。このような背景から現段階による確定的記述は困難で、ここではサリノマイシンによるオートファジーの誘導および阻害による、抗癌作用を中心に紹介する。

サリノマイシンが癌細胞のオートファジーを誘導することを最初に報告したのは Verdoordt らで、サリノマイシンを大腸癌細胞と乳癌細胞に添加すると、すべての細胞株でアポトーシスの特徴が検出されたが、MCF-7 細胞と SW620 細胞は、細胞質空胞や LC3 プロセッシングなどのオートファジーの特徴を示した³⁸⁾。そのためサリノマイシンを添加すると、カスパーゼ依存性アポトーシスの誘導前に、オートファジーの開始が重要な働きをしている場合があると結論している。サリノマイシンはミトコンドリア膜電位の低下と Reactive Oxygen Species (ROS) の蓄積を引き起こすことが知られており、これがオートファジーの活性化において重要な役割を果たしていると考えられている^{39,40)}。例えばサリノマイシン誘導オートファジーにおける ROS の役割を明らかにするために、U2OS 細胞を ROS 阻害剤である N-アセチル-L-システイン(N-acetyl cysteine, NAC)で前処理すると LC3-II の急激な減少と acidic vesicular organelles の集積が検出される³⁹⁾。また、Xipell らによると、神経膠芽腫細胞では、サリノマイシンは小胞体のストレスを誘発し、ミトコンドリアとリソソームの変化による異常なオートファジーの流れを引き起こすが、それは ROS の発生により調整されていたと報告している⁴¹⁾。このようにサリノマイシンの効果が ROS 産生によるものとする研究結果は、他にもいくつか見られる⁴²⁾。

一方、Klose らはサリノマイシンを肝臓癌細胞に添加すると、オートファジーの後期段階が抑制され、ROS 産生の増加がみられ、リサイクル障害と機能不全ミトコンドリアの蓄積を引き起こし、アポトーシスを誘導すると結論している⁴³⁾。また、サリノマイシンを介した ROS 産生がミトコンドリア機能障害を引き起こし、NAC がオートファジーを減衰させ、アポトーシスが誘導されることが、MDA-MB-231 細胞の実験で観察されている⁴⁴⁾。これらの結果はサリノマイシンによって誘導されるアポトーシスが、オートファジー阻害に関連することを示唆する。以上、オートファジーが癌治療のために有効か、あるいは癌細胞の延命効果をもたらすか議論があるが、サリノマイシンによって誘発される 2 つの異なる生理学的反応であるオートファジーとアポトーシスの相関関係が、癌細胞の運命において重要な役割を果たすことが推察される⁴⁵⁾。

V. 上皮間葉転換と遊走性、浸潤性について

上皮間葉転換は胚発生に関与する独特の分化プロセスであり、それによって細胞は上皮の特徴を失い、間葉性を獲

得し、さらに間葉系幹細胞に似た多系統に分化する能力を持つことが報告されている^{46,47)}。腫瘍で観察された上皮間葉転換を受けている細胞は、紡錘状形態を示し、細胞極性の喪失、タイトジャンクションの消失、上皮細胞マーカーである E カドヘリン低下、そして間葉系細胞マーカーであるビメンチン上昇、などの発生的上皮間葉転換を受けた細胞と類似の特徴があり、より侵襲性、転移性で、治療に対して抵抗性を示す⁴⁸⁾。すなわち腫瘍における上皮間葉転換マーカーの発現増加は、腫瘍の遊走性や浸潤性を促進すると考えられ、遠隔転移および予後不良と関連することから、上皮間葉転換と癌幹細胞の関連も注目されている⁴⁹⁾。上皮間葉転換が誘導されるシグナル伝達では、transforming growth factor- β (TGF- β)の活性化から始まり、Smad(p-Smad2 / 3 および Snail1 および非 Smad(β -カテニン および p-p38 MAPK)等によって上皮間葉転換の誘導を協調的に促進するのが代表的経路である⁵⁰⁾。一方、上皮間葉転換とその逆のプロセスである間葉上皮転換という現象があることが知られており、この 2 つの転換過程が制御されて生じることにより、組織や臓器の形成や損傷組織の再構築などが行われる⁵¹⁾。

いくつかの研究が、サリノマイシンが、癌細胞の遊走性および浸潤性を阻害することを示している。例えばサリノマイシンを膀胱癌細胞株 T24 に添加すると、E カドヘリンの高発現とビメンチン発現レベルの低下を示し、遊走能および浸潤能が低下した⁵²⁾。そしてヒト乳がん細胞株 MCF-7 の TGF- β 1 によって誘導される上皮間葉転換の表現型転移を、サリノマイシンが阻害した⁵⁰⁾。

さらにサリノマイシンは、従来の化学療法薬と相乗的に作用して、癌細胞の遊走性や浸潤性を抑制する。原発性マンツル細胞リンパ腫では、転写因子 ZEB1 が発現しており、Wnt シグナル伝達によって癌の転移を促進する。それに対しサリノマイシンは Wnt シグナル伝達を阻害し、ZEB1 をダウンレギュレーションすることによりゲムシタピン、シタラピン、およびドキシソルピシンの細胞毒性効果を高めた⁵³⁾。非小細胞肺癌細胞株 A549 および HCC4006 において、メトホルミンにサリノマイシンを併用することにより、TGF- β 1 誘導性上皮間葉転換をブロックし、上皮間葉転換誘導性細胞遊走を阻害することできた⁵⁴⁾。また肝癌細胞においてサリノマイシンは、FOXO3a の活性化を生じることによりドキシソルピシン誘発性上皮間葉転換を阻害し、ドキシソルピシン誘発性上皮間葉転換に関与する ZEB1, CyclinD1, c-Myc などの下流標的も抑制した⁵⁵⁾。

癌細胞の転移は、人体にとって全体的悪影響を及ぼす大きな要因であり、それを引き起こす一つの鍵が上皮間葉転換だとすると、それを抑制するサリノマイシンの研究が期待される。

VI. 血管新生について

腫瘍細胞は、異常な腫瘍新生血管形成を促進する血管内皮増殖因子またはサイトカインの分泌によって微小環境を変化させることができ、それが腫瘍増殖のための栄養と転移の経路を誘導している⁵⁶⁾。このように血管新生は癌細胞において重要な役割を果たしているため、血管新生の阻害は腫瘍の進行を抑制する効果的な戦略と考えられている⁵⁷⁾。

最近の研究によって、腫瘍による血管新生の分子機構が解明されつつあり、VEGFが血管新生促進因子である場合、サイトカインは、VEGFR1 (Flt-1), VEGFR2 (KDR/Flk-1), VEGFR3などの異なる受容体チロシンキナーゼに特異的に結合し、その生物学的機能を発揮する⁵⁸⁾。これらのキナーゼのうち、特にVEGFR2は血管新生シグナルの伝達において主要な役割を果たしており、VEGFR2上のTyr1175の自己リン酸化により、下流のシグナル伝達イベントが活性化される⁵⁹⁾。また、VEGFR2シグナル伝達経路の活性化は、細胞の分化、増殖、転移、炎症にも関与する⁶⁰⁾。内皮細胞シグナル伝達カスケードの中では、転写活性化因子3 (signal transduction and activator of transcription3, STAT3)が、さまざまなヒト悪性腫瘍の形質転換および進行に関連している。活性化されたSTAT3はホモ二量体を形成し、その後、核に移行し、細胞増殖(サイクリンD1など)、生存(BCL-2, BCL-x1など)、浸潤(マトリックスメタロプロテイナーゼ-9など)および血管新生(VEGF)に関与する遺伝子の発現を調整する⁶¹⁾。現在、ソラフェニブ、スニチニブ、バンデタニブなどのFDA承認薬を含む、VEGFR2を標的とするいくつかの化合物が臨床で使用されており、さらに、YLT192やSKLB261など、多数の小分子VEGFR2阻害剤が前臨床評価中である^{62,63)}。しかし、副作用も観察されており、より安全な血管新生阻害剤の開発が必要である。

こうした背景の中、サリノマイシンによる血管新生阻害研究が、数件みられる。Dewanganらは乳癌細胞に対するサリノマイシンの効果を検討している。その結果、サリノマイシンはHIF-1a/VEGFシグナル伝達を遮断して、VEGF誘導の血管新生の成長を阻害し、さらに血管新生促進細胞表面マーカーCD31の発現を阻害し、それによって内皮細管形成を抑制した。また、内皮細管形成を中断し、ヒト乳癌細胞のHRE配列へのHIF-1aの結合を減少させ、移植マウスモデルでも血管新生を抑制したと報告している⁶³⁾。Biらは神経膠腫に対するサリノマイシンの効果を検討している。その結果、サリノマイシンを投与すると、VEGF-VEGFR2-AKT/FAKシグナル伝達系の活性を低下させ、内皮細胞および毛細血管様血管の増生を抑制したと述べている⁶⁴⁾。またLiらは、ラットを使用したサリノマイシンの腹腔内注射による実験で、明らかな毒性を引き起こすことなく、移植したヒト胃癌の血管新生および増殖を著しく抑制したと報告しており、これらの結果から、サリノ

マイシンは有望な抗がん剤候補であると述べている⁶⁵⁾。

VII. おわりに

サリノマイシンは、家畜のコクシジウム抑制剤として使用されてきたが、今では効果的な抗癌剤として注目されている。その大きな理由の一つが、サリノマイシンが多くの種類の癌における癌幹細胞を標的とする点である。またサリノマイシンは標準治療で使用される抗癌剤と併用しても、抗癌剤使用後の抵抗性癌においても、効果的であることが示されている。以上、サリノマイシンは癌治療において予後改善の鍵となる可能性が高く、基礎研究を重ね、臨床的安全性と有効性を評価するための臨床試験の実施が期待される⁸⁾。

利益相反 開示すべき利益相反はありません。

引用文献

- 1) 癌の動向.
https://www.jcancer.jp/about_cancer_and_knowledge
(2023-09-01)
- 2) Sung H, Ferlay J, et al.: Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*, 71: 209-249, 2021.
- 3) Ganesh K, Massagué J.: Targeting metastatic cancer. *Nat Med*, 27: 34-44, 2021.
- 4) Yin W, Wang J, et al.: Cancer and stem cells. *Exp Biol Med*, 246: 1791-1801, 2021.
- 5) Shibue T, Weinberg RA.: EMT, CSCs, and drug resistance: the mechanistic link and clinical implications. *Nat Rev Clin Oncol*, 4: 611-629, 2017.
- 6) Antoszczak M, Huczyński A.: Salinomycin and its derivatives - A new class of multiple-targeted "magic bullets". *Eur J Med Chem*, 176: 208-227, 2019.
- 7) Naujokat C, Fuchs D, et al.: Salinomycin in cancer: a new mission for an old agent. *Mol Med Rep*, 3: 555-559, 2010.
- 8) Naujokat C, Steinhart R.: Salinomycin as a drug for targeting human cancer stem cells. *J Biomed Biotechnol*, 2012: 950658, 2012.
- 9) Fuchs D, Heinold A, et al.: Salinomycin induces apoptosis and overcomes apoptosis resistance in human cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 390: 743-749, 2009.
- 10) Gupta PB, Onder TT, et al.: Identification of Selective Inhibitors of Cancer Stem Cells by High-Throughput Screening. *Cell*, 138: 645-659, 2009.
- 11) Antoszczak M.: A medicinal chemistry perspective on

- salinomycin as a potent anticancer and anti-CSCs agent. *Eur J Med Chem*, 164: 366-377, 2019.
- 12) Jiang J, Li H, et al.: Salinomycin, as an autophagy modulator- a new avenue to anticancer: a review. *J Exp Clin Cancer Res*, 37: 26, 2018.
 - 13) Reya T, Morrison SJ, et al.: Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*, 414: 105-111, 2001.
 - 14) Lee HE, Kim JH, et al.: An increase in cancer stem cell population after primary systemic therapy is a poor prognostic factor in breast cancer. *Br J Cancer*, 104: 1730-1738, 2011.
 - 15) Sugihara E, Saya H.: Complexity of cancer stem cells. *Int J Cancer*, 132: 1249-1259, 2013.
 - 16) Brooks MD, Burness ML, et al.: Therapeutic Implications of Cellular Heterogeneity and Plasticity in Breast Cancer. *Cell Stem Cell*, 17: 260-271, 2015.
 - 17) Pellegrini P, Dyczynski M, et al.: Tumor Acidosis Enhances Cytotoxic Effects and Autophagy Inhibition by Salinomycin on Cancer Cell Lines and Cancer Stem Cells. *Oncotarget*, 7: 35703-35723, 2016.
 - 18) Zhang JY, Luo Q, et al.: Regulating Stem Cell-Related Genes Induces the Plastic Differentiation of Cancer Stem Cells to Treat Breast Cancer. *Mol Ther Oncolytics*, 18: 396-408, 2020.
 - 19) An H, Kim JY, et al.: Salinomycin Possesses Anti-Tumor Activity and Inhibits Breast Cancer Stem-Like Cells Via an Apoptosis-Independent Pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 466: 696-703, 2015.
 - 20) Gupta PB, Onder TT, et al.: Identification of Selective Inhibitors of Cancer Stem Cells by High-Throughput Screening. *Cell*, 138: 645-659, 2009.
 - 21) He M, Fu Y, et al.: The Hedgehog Signalling Pathway Mediates Drug Response of MCF-7 Mammosphere Cells in Breast Cancer Patients. *Clin Sci*, 129: 809-22, 2015.
 - 22) Wang H, Zhang H, et al.: Anticancer Mechanisms of Salinomycin in Breast Cancer and Its Clinical Applications. *Front Oncol*, 11: 654428, 2021.
 - 23) Ketola K, Hilvo M, et al.: Salinomycin Inhibits Prostate Cancer Growth and Migration Via Induction of Oxidative Stress. *Br J Cancer*, 106: 99-106, 2012.
 - 24) Voss AK, Strasser A.: The essentials of developmental apoptosis. *F1000Res*, 9: F1000 Faculty Rev-148, 2020.
 - 25) Morana O, Wood W, et al.: The Apoptosis Paradox in Cancer. *Int J Mol Sci*, 23: 1328, 2022.
 - 26) Li P, Nijhawan D, et al.: Cytochrome C and dATP-Dependent Formation of Apaf-1/Caspase-9 Complex Initiates an Apoptotic Protease Cascade. *Cell*, 91: 479-489, 1997.
 - 27) Fuchs D, Daniel V, et al.: Salinomycin overcomes ABC transporter-mediated multidrug and apoptosis resistance in human leukemia stem cell-like KG-1a cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 394: 1098-1104, 2010.
 - 28) Arafat K, Iratni R, et al.: Inhibitory Effects of Salinomycin on Cell Survival, Colony Growth, Migration, and Invasion of Human Non-Small Cell Lung Cancer A549 and LNM35: Involvement of NAG-1. *PLoS One*. 8: e66931, 2013.
 - 29) Kim KY, Park KI, et al.: Inhibition of Autophagy Promotes Salinomycin-Induced Apoptosis via Reactive Oxygen Species-Mediated PI3K/AKT/mTOR and ERK/p38 MAPK-Dependent Signaling in Human Prostate Cancer Cells. *Int J Mol Sci*, 18: 1088, 2017.
 - 30) Lee HG, Lee JM, Shin SJ, et al.: Salinomycin inhibited cell proliferation and induced apoptosis in human uterine leiomyoma cells. *Obstet Gynecol Sci*, 57: 501-506, 2014.
 - 31) Zhang Y, Zuo Y, et al.: Salinomycin radiosensitizes human nasopharyngeal carcinoma cell line CNE-2 to radiation. *Tumour Biol*, 37: 305-311, 2016.
 - 32) Tyagi M, Patro BS.: Salinomycin reduces growth, proliferation and metastasis of cisplatin resistant breast cancer cells via NF-kB deregulation. *Toxicol In Vitro*, 60: 125-131, 2019.
 - 33) Serttas R, Erdogan S.: Pretreatment of prostate cancer cells with salinomycin and Wnt inhibitor increases the efficacy of cabazitaxel by inducing apoptosis and decreasing cancer stem cells. *Med Oncol*, 40: 194, 2023.
 - 34) Kocaturk NM, Akkoc Y, et al.: Autophagy as a molecular target for cancer treatment. *Eur J Pharm Sci*, 134: 116-137, 2019.
 - 35) Miller DR, Thorburn A.: Autophagy and organelle homeostasis in cancer. *Dev Cell*, 56: 906-918, 2021.
 - 36) Wang X, Lee J, et al.: Autophagy Regulation on Cancer Stem Cell Maintenance, Metastasis, and Therapy Resistance. *Cancers*, 14: 381, 2022.
 - 37) Babaei G, Aziz SG, et al.: EMT, cancer stem cells and autophagy; The three main axes of metastasis. *Biomed Pharmacother*, 133: 110909, 2021.
 - 38) Verdoodt B, Vogt M, et al.: Mirmohammadsadegh A. Salinomycin induces autophagy in colon and breast cancer cells with concomitant generation of reactive oxygen species. *PLoS One*, 7: e44132, 2012.
 - 39) Kim KY, Yu SN, et al.: Salinomycin-induced apoptosis of human prostate cancer cells due to accumulated reactive oxygen species and mitochondrial membrane depolarization. *Biochem Biophys Res Commun*, 413: 80-86, 2011.

- 40) Kim SH, Choi YJ, et al.: Salinomycin simultaneously induces apoptosis and autophagy through generation of reactive oxygen species in osteosarcoma U2OS cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 473: 607-613, 2016.
- 41) Xipell E, Gonzalez-Huarriz M, et al.: Salinomycin Induced ROS Results in Abortive Autophagy and Leads to Regulated Necrosis in Glioblastoma. *Oncotarget*, 7: 30626-30641, 2016.
- 42) Zhu LQ, Zhen YF, et al.: Salinomycin activates AMP-activated protein kinase-dependent autophagy in cultured osteoblastoma cells: a negative regulator against cell apoptosis. *PLoS One*, 8: e84175, 2013.
- 43) Klose J, Stankov MV, et al.: Inhibition of autophagic flux by salinomycin results in anti-cancer effect in hepatocellular carcinoma cells. *PLoS One*, 9: e95970, 2014.
- 44) Kim KY, Park KI, et al.: Salinomycin induces reactive oxygen species and apoptosis in aggressive breast cancer cells as mediated with regulation of autophagy. *Anticancer Res*, 37: 1747-1758, 2017.
- 45) Yu SN, Kim SH, et al.: Salinomycin induces endoplasmic reticulum stress-mediated autophagy and apoptosis through generation of reactive oxygen species in human glioma U87MG cells. *Oncol Rep*, 37: 3321-3328, 2017.
- 46) Thiery JP, Acloque H, et al.: Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*, 139: 871-890, 2009.
- 47) Battula VL, Evans KW, et al.: Epithelial-mesenchymal transition-derived cells exhibit multilineage differentiation potential similar to mesenchymal stem cells. *Stem Cells*, 28: 1435-1445, 2010.
- 48) Shang Y, Cai X, et al.: Roles of epithelial-mesenchymal transition in cancer drug resistance. *Curr Cancer Drug Targets*, 13: 915-929, 2013.
- 49) Jie D, Zhongmin Z, et al.: Positive expression of LSD1 and negative expression of E-cadherin correlate with metastasis and poor prognosis of colon cancer. *Dig Dis Sci*, 58: 1581-1589, 2013.
- 50) Zhang C, Lu Y, et al.: Salinomycin suppresses TGF- β 1-induced epithelial-to-mesenchymal transition in MCF-7 human breast cancer cells. *Chem Biol Interact*, 248: 74-81, 2016.
- 51) Bigagli E, Cinci L, et al.: Transcriptomic Characterization, Chemosensitivity and Regulatory Effects of Exosomes in Spontaneous EMT/MET Transitions of Breast Cancer Cells. *Cancer Genomics Proteomics*, 16: 163-173, 2019.
- 52) Qu H, Ma B, et al.: Effect of salinomycin on metastasis and invasion of bladder cancer cell line T24. *Asian Pac J Trop Med*, 8: 578-582, 2015.
- 53) Sanchez-Tillo E, Fanlo L, et al.: The EMT activator ZEB1 promotes tumor growth and determines differential response to chemotherapy in mantle cell lymphoma. *Cell Death Differ*, 21: 247-257, 2014.
- 54) Koeck S, Amann A, et al.: The impact of metformin and salinomycin on transforming growth factor β -induced epithelial-to-mesenchymal transition in non-small cell lung cancer cell lines. *Oncol Lett*, 11: 2946-2952, 2016.
- 55) Zhou Y, Liang C, et al.: Salinomycin decreases doxorubicin resistance in hepatocellular carcinoma cells by inhibiting the β -catenin/TCF complex association via FOXO3a activation. *Oncotarget*, 6: 10350-10365, 2015.
- 56) Fokas E, McKenna WG, et al.: The impact of tumor microenvironment on cancer treatment and its modulation by direct and indirect antivasular strategies. *Cancer Metastasis Rev*, 31: 823-842, 2012.
- 57) Albini A, Sporn MB.: The tumour microenvironment as a target for chemoprevention. *Nat Rev Cancer*, 7: 139-147, 2007.
- 58) Liang X, Xu F, et al.: VEGF signal system: the application of antiangiogenesis. *Curr Med Chem*, 21: 894-910, 2014.
- 59) Weis SM, Cheresh DA.: Tumor angiogenesis: molecular pathways and therapeutic targets. *Nat Med*, 17: 1359-1370, 2011.
- 60) Vasudev NS, Reynolds AR.: Anti-angiogenic therapy for cancer: current progress, unresolved questions and future directions. *Angiogenesis*, 17: 471-494, 2014.
- 61) Johnston PA, Grandis JR.: STAT3 signaling: anticancer strategies and challenges. *Mol Interv*, 11: 18-26, 2011.
- 62) Xia Y, Song X, et al.: YLT192, a novel, orally active bioavailable inhibitor of VEGFR2 signaling with potent antiangiogenic activity and antitumor efficacy in preclinical models. *Sci Rep*, 4: 6031, 2014.
- 63) Dewangan J, Srivastava S, et al.: Salinomycin Inhibits Breast Cancer Progression Via Targeting HIF-1 α /VEGF Mediated Tumor Angiogenesis In Vitro and In Vivo. *Biochem Pharmacol*, 164: 326-335, 2019.
- 64) Bi YL, Mi PY, et al.: Salinomycin exhibits anti-angiogenic activity against human glioma in vitro and in vivo by suppressing the VEGF-VEGFR2-AKT/FAK signaling axis. *Int J Mol Med*, 39: 1255-1261, 2017.
- 65) Li T, Liu X, et al.: Salinomycin exerts anti-angiogenic and anti-tumorigenic activities by inhibiting vascular endothelial growth factor receptor 2-mediated angiogenesis. *Oncotarget*, 7: 26580-26592, 2016.

【Review】

Mechanism of salinomycin as a cancer drug

YOICHIRO HOSOKAWA^{*1} RYO SAGA^{*1}
SHINGO TERASHIMA^{*1}

(Received October 5, 2023 ; Accepted November 10, 2023)

Abstract: Cancer stem cells exist inside malignant tumors and supply the majority of cancer cells to maintain self-renewal and differentiation abilities. Cancer stem cells are thought to cause drug resistance, tumor recurrence, and metastasis. Therefore, eradication of both non-cancer stem cells and stem cells is important for improving the prognosis of cancer. Salinomycin, a monocarboxylic polyether antibiotic isolated from *Streptomyces albus*, can kill cancer stem cells through apoptosis and autophagy. Some studies reported that salinomycin inhibits cancer cell proliferation, invasion, and migration and alters the microenvironment to prevent tumor growth and metastasis. Therefore, salinomycin is considered to be a promising drug for improving the prognosis of cancer treatment. This review focused on the research on the anticancer action mechanism of salinomycin and outlined the prospects for future cancer treatments.

Keywords: Salinomycin, Cancer stem cell, Tumor recurrence, Metastasis, Chemotherapy