

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 26 日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19692

研究課題名(和文)メラノーマの増殖、浸潤、転移におけるHSF1のターゲット遺伝子の同定と機能解析

研究課題名(英文) Identification and functional analysis of target gene of HSF1 in proliferation, invasion and metastasis of melanoma

研究代表者

中村 好貴 (NAKAMURA, Yoshitaka)

山口大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：00448292

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：熱ショック因子HSF1は熱ショック応答を制御する転写因子であり、癌の発生や維持、進行に重要な役割を演じていることが示されている。われわれの以前の研究から、HSF1はヒトメラノーマの維持、浸潤、転移に必要な因子であることが示されている。トリプトライドはHSF1の転写活性を阻害することが過去に報告されている。今回の研究で、メラノーマにおいてトリプトライドがHSF1の転写活性を阻害することにより、抗腫瘍効果を発揮することを明らかとした。この結果はHSF1がメラノーマの有望な治療ターゲットとなり得ることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：Heat shock factor 1 (HSF1) is a major transactivator of the heat shock response. Recent studies have demonstrated that HSF1 is involved in tumor initiation, maintenance, and progression by regulating the expression of heat shock proteins (HSPs) and other molecular targets. Furthermore, HSF1 was identified as a potent proinvasion oncogene in human melanomas. Our previous studies demonstrated that silencing HSF1 suppressed proliferation, migration and invasiveness of human melanoma cells in vitro and HSF1 is required for melanoma invasion and metastasis, as well as tumorigenic potential in vivo. Triptolide is a pharmacologically active compound that has previously been shown to abrogate transactivation of HSF1. In this study, we found that triptolide suppressed tumorigenic potential of human melanoma via inhibiting transactivation of HSF1. These findings suggest that HSF1 could be a promising new therapeutic target for melanoma patient.

研究分野：皮膚科

キーワード：メラノーマ 熱ショック因子HSF1 熱ショック応答

### 1. 研究開始当初の背景

癌細胞は熱ショック応答を強く発現させて、それを利用することで、ストレス条件下でも増殖できることが解明されてきており、様々な組織由来の癌細胞の増殖が熱ショック因子 (Heat shock factor 1 : HSF1) に依存することが示され、近年 HSF1 が癌治療の新しいターゲットとして注目を集めるようになってきている。

これまでにわれわれは、メラノーマ細胞の増殖能、遊走能、浸潤能の維持には HSF1 が必要であることを明らかにしてきた。また、最近の研究により HSF1 はメラノーマの浸潤誘発に必要な因子の 1 つであると報告されている。

### 2. 研究の目的

クロツルから抽出される生薬である雷公藤は抗炎症作用を持ち中国では関節リウマチや SLE の治療に用いられており、その主成分であるトリプトライドは抗炎症作用だけでなく白血病細胞など癌細胞のアポトーシスを誘導することが明らかとなっている。また、トリプトライドは HSF1 の転写活性を阻害することも報告されている。今回われわれは、メラノーマ細胞におけるトリプトライドの抗腫瘍効果を検討した。

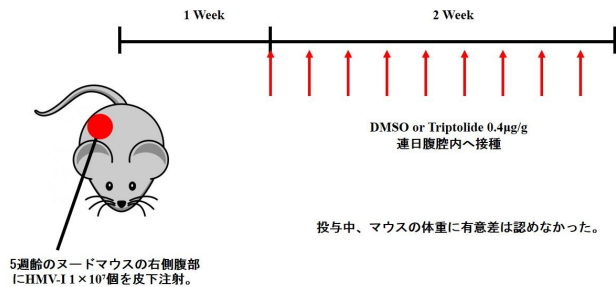
### 3. 研究の方法

(1) ヒトメラノーマ細胞である HMV-I、HT-144 にトリプトライドを濃度 0、10、25、50、75、100nM 作用させて、回収後に Western blot 法にて HSF1 蛋白を測定した。

(2) HMV-I、HT-144 にトリプトライド 25nM で処理後に細胞数を測定し、増殖能を計測した。

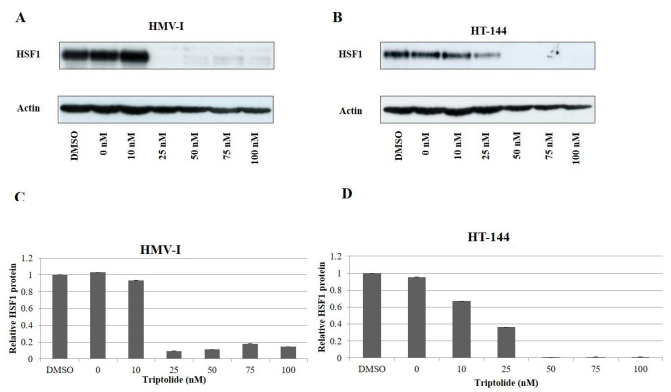
(3) HMV-I、HT-144 にトリプトライド 25nM で処理後に Mound healing assay、Migration assay、Invasion assay を行い、遊走能、浸潤能を測定した。

(4) 5 週齢のヌードマウスの右側腹部に HMV-I  $1 \times 10^7$  個を皮下注射し、腫瘍移植を行った。Triptolide 0.4 $\mu$ g/g 2 週間連日腹腔内へ接種した後に、安楽死させ腫瘍の大きさ、重量を測定した。

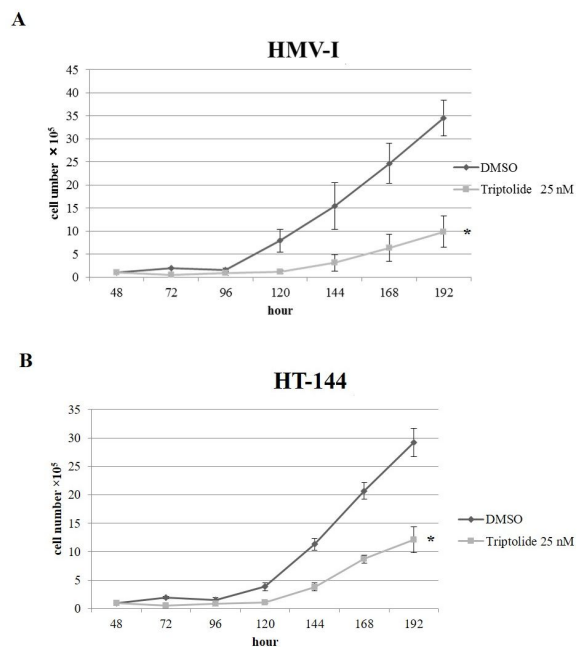


### 4. 研究成果

(1) トリプトライドはヒトメラノーマ細胞 HMV-I、HT-144 において濃度依存性に HSF1 の発現を低下させた。

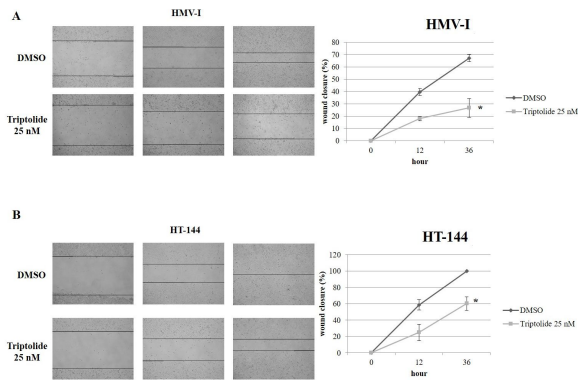


(2) トリプトライドはヒトメラノーマ細胞 HMV-I、HT-144 の細胞増殖能を低下させた。

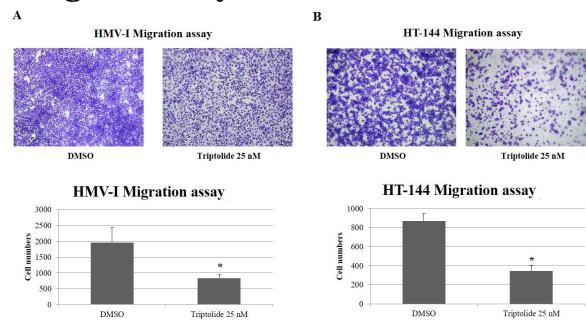


(3) トリプトライドはヒトメラノーマ細胞 HMV-I、HT-144 の遊走能、浸潤能を低下させた。

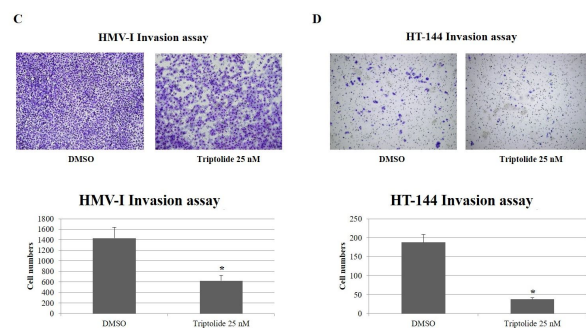
## Mound healing assay



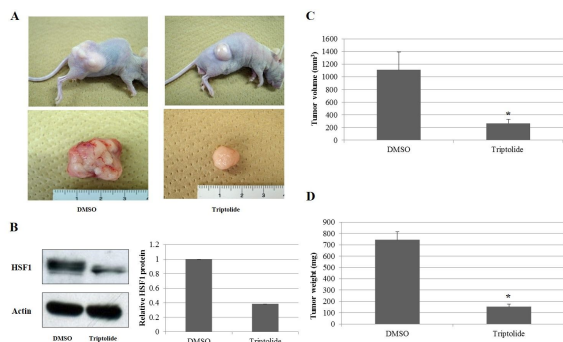
## Migration assay



## Invasion assay



(4) トリプトライドはヌードマウスを用いた腫瘍移植実験において、HSF1 を介して抗腫瘍効果を示した。



## (5) 考察

これらの結果から、トリプトライドはメラノーマ細胞においてHSF1を抑制することにより、抗腫瘍効果を発揮することが明らかとなった。HSF1 を制御することはメラノーマ治療の有望な標的の1つになりうる事が示唆された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

Nakamura Y, Nakamura A, Muto M, A case of pleomorphic fibroma of the skin presenting as intradermal nodule, Am J dermatopathol, 査読有, 2015 年, 37 巻, 175-176

DOI ; 10.1097/DAD.0b013e318288cd71

Nakamura Y, Kashiwagi K, Nakamura A, Muto M, Verrucous carcinoma of the foot diagnosed using p53 and Ki-67 immunostaining in a patient with diabetic neuropathy, Am J dermatopathol, 査読有, 2015 年, 37 巻, 257-259

DOI ; 10.1097/DAD.0000000000000117

[学会発表](計 3 件)

中村好貴、トリプトライドはメラノーマ細胞において熱ショック因子 HSF1 を介して抗腫瘍効果を発揮する、第 11 回臨床ストレス応答学会、2016 年 11 月 11~12 日、宇部市 (山口大学)

Nakamura Yoshitaka, Triptolide induces antitumor activity in human melanoma cell via inhibiting transactivation of heat shock factor 1, The 40<sup>th</sup> annual meeting of the Japanese society for investigative dermatology, 2015 年 12 月 11~13 日、岡山市 (岡山コンベンションセンター)

中村好貴、メラノーマと熱ショック因子 (HSF1): HSF1 はメラノーマの診断・治療のターゲットになり得るか? 第 67 回日本皮膚科学会西部支部学術大会、2015 年 10 月 17~18 日、長崎市 (長崎ブリックホール・長崎新聞文化ホール)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕  
ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 好貴 (NAKAMURA, Yoshitaka)

山口大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：00448292

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし