

令和元年6月13日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09378

研究課題名(和文) 原発性肝癌の進展・転移におけるDYRKファミリーによる癌幹細胞制御機構の解明

研究課題名(英文) The role of DYRK2 in primary liver cancers

研究代表者

及川 恒一(Oikawa, Tsunekazu)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：20514491

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：原発性肝癌の根治的治療は外科的切除が第一で、早期には肝内病変治療としてラジオ波焼灼療法(RFA)、肝動脈塞栓療法(TACE)等が有効であるが、遠隔転移、脈管浸潤を呈すると予後不良であるため、早期の診断法の確立及び新規治療法が切望されている。現在、切除不能肝細胞癌に対して臨床で使用される分子標的薬の効果は非常に限定的である。本研究では、肝癌でリン酸化酵素DYRK2発現が低下しており、肝癌の増殖を亢進させ、低発現患者は予後不良であること、また、DYRK2を強制発現することで肝癌の増殖抑制とアポトーシス誘導を介した腫瘍縮小効果があることを見出し、将来的な新規治療法へ応用可能である可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

上記の結果は以下の論文に掲載され、今後の肝癌の新規治療法開発に向けた展望が期待される。

Yokoyama-Mashima S, Yogosawa S, Kanegae Y, Hirooka S, Yoshida S, Horiuchi T, Ohashi T, Yanaga K, Saruta M, Oikawa T, Yoshida K. Forced expression of DYRK2 exerts anti-tumor effects via apoptotic induction in liver cancer. *Cancer Lett.* 451,100-109,2019

研究成果の概要(英文)：The only curative treatments for liver cancers are surgical resection for early-stage patients. However, most patients are diagnosed at advanced stages. For the treatment of advanced HCC patients with unresectable tumors, transcatheter arterial chemoembolization and systemic chemotherapy, including TKI, but the effects are limited. Therefore, the identification of novel molecules that can become targets for future therapies is urgently needed. We have reported that dual-specificity tyrosine-regulated kinase 2 (DYRK2) functions as a tumor suppressor by regulating cell survival, differentiation, proliferation and apoptosis. In this study, we found that patients whose liver cancers were expressed with low levels of DYRK2 had a significantly worse overall survival than those with higher levels. Overexpression of DYRK2 inhibited cell proliferation and tumor growth and induced apoptosis. The forced expression of DYRK2 may become a potential target for gene therapy of liver cancer.

研究分野：肝癌

キーワード：肝癌 がん幹細胞

1. 研究開始当初の背景

原発性肝癌の根治的治療としては外科的切除が主体であり、早期にはラジオ波焼灼療法、経皮的エタノール注入療法、肝動脈塞栓療法、肝移植等がときに有効である。しかしながら、胆管・血管内浸潤や遠隔転移を呈するような症例の多くは予後不良であるため、より早期の診断法の確立と新規治療法が切望されている。近年、切除不能肝細胞癌に対して腫瘍細胞増殖と血管新生を阻害するソラフェニブやレンパチニブ等の分子標的薬が開発され、臨床で使用されているが、それらの効果は非常に限定的であり、新規治療標的分子の同定による新たな新規治療法の開発が急務であると考えられていた。

2. 研究の目的

我々は、これまでに世界に先駆けて世界に先駆けて p53 依存的細胞死誘導キナーゼとして DYRK2 を同定し、進行乳癌、卵巣癌、大腸癌等においてリン酸化酵素である DYRK2 発現低下が細胞周期の主要転写因子 c-Jun や c-Myc の蓄積を引き起こし細胞増殖が亢進することリプログラミング転写因子 KLF4 発現を誘導し癌幹細胞特性と化学療法抵抗性の獲得をもたらすこと Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) の主要転写因子 Snail 発現亢進による EMT を誘導することで癌の増殖、転移・浸潤に関与することを明らかにしてきた (Taira et al. *J Clin Invest*, 2012/ Mimoto et al. *Cancer Lett*, 2013 / Ito et al. *Cancer Sci*, 2017/ Mimoto et al. *Oncogene*, 2017)。

しかしながら、これまで肝癌における DYRK2 の役割については不明であった。そこで、肝癌においてリン酸化酵素である DYRK2 制御機構を解明することにより、肝癌に対する新規治療法開発応用を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

ヒト肝癌細胞株である HuH1, PLC/PRF/5 において、DYRK2 遺伝子の強制発現 (gain of function) または small hairpin RNA (shRNA) を利用した knockdown (loss of function) を行い、*in vitro* 培養系と *in vivo* xenograft 担癌マウスにおける腫瘍形成を評価することで肝癌細胞における DYRK2 の機能解析を行った。

具体的には、

1. *in vitro* 培養系での細胞増殖やアポトーシスへ与える影響を解析した。
2. *in vitro* 培養系において、細胞増殖、アポトーシスに関連する細胞周期関連およびアポトーシス関連遺伝子の発現をウェスタンブロットや免疫組織染色で解析した。
3. また、肝癌細胞株の DYRK2 遺伝子を knockdown した stable line を作成し、免疫不全マウスの皮下に移植した腫瘍細胞を IVIS イメージング装置を用いて、*in vivo* における生体内動態を解析した。
4. さらに将来的な治療応用を目指して、担癌免疫不全マウスに DYRK2 強制発現 (adenovirus による遺伝子導入) を行い、*in vivo* での抗腫瘍効果を解析した。

4. 研究成果

我々は、

ヒト肝癌組織において癌部では非癌部と比べ、DYRK2 の発現が大きく低下していること、ヒト肝癌細胞株では正常肝細胞より DYRK2 が低発現であり、その強制発現及び knockdown を行った機能解析の結果から DYRK2 が *in vitro* において腫瘍細胞の増殖抑制や apoptosis を誘導することヒト肝癌細胞株を免疫不全マウスの皮下に移植した xenograft 担癌マウスにおいて、DYRK2 強制発現 (adenovirus による遺伝子導入) が、*in vitro* のみならず *in vivo* でも腫瘍細胞の増殖抑制と apoptosis 誘導を介した腫瘍縮小効果を持つことを見出した。

これらの結果は、将来的な新規治療開発に有用となる可能性を示していると考えられる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1 件)

Yokoyama-Mashima S, Yogosawa S, Kanegae Y, Hirooka S, Yoshida S, Horiuchi T, Ohashi T, Yanaga K, Saruta M, Oikawa T, Yoshida K.
Forced expression of DYRK2 exerts anti-tumor effects via apoptotic induction in liver cancer.
Cancer Lett. 451: 100-109, 2019

〔学会発表〕(計 1件)

間嶋志保、及川恒一、與五沢里美、吉田清嗣、猿田雅之
肝癌における DYRK2 の関与 第 25 回肝細胞研究会 2018

〔図書〕(計 0件)

なし

〔産業財産権〕
出願状況(計 0件)

なし

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

なし

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：吉田清嗣

ローマ字氏名：Kiyotsugu Yoshida

所属研究機関名：東京慈恵会医科大学

部局名：生化学講座

職名：教授

研究者番号(8桁):
70345312

(2)研究協力者

研究協力者氏名：間嶋志保

ローマ字氏名：Shiho Mashima

研究協力者氏名：與五沢里美

ローマ字氏名：Satomi Yogosawa

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。