

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月5日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10166

研究課題名(和文)核内受容体をターゲットとしたHDAC阻害剤の併用療法の開発

研究課題名(英文) Nuclear receptors: possible therapeutic targets in combination with HDAC inhibitors for cutaneous T-cell lymphoma

研究代表者

藤井 一恭 (Fujii, Kazuyasu)

鹿児島大学・医歯学域附属病院・講師

研究者番号：70452571

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)：ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害剤は皮膚T細胞リンパ腫などの新規治療薬として注目を浴びているが、単剤での治療効果には限界がある。本研究ではHDAC阻害剤の刺激により一部のチロシンキナーゼ活性が亢進すること、核内受容体やチロシンキナーゼにHDAC阻害剤の併用療法のターゲットとしての可能性があることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

進行期皮膚T細胞リンパ腫の治療はいずれも短期的な効果しか期待できない。ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤は皮膚T細胞リンパ腫などの新規治療薬で、これまでの治療薬と異なるメカニズムで抗腫瘍効果を示すため治療戦略の中心となりうるが、単剤での効果は限られている。本研究で核内受容体作動薬やチロシンキナーゼ阻害剤にHDAC阻害剤の抗腫瘍効果を増強する作用があることが明らかになったことで、将来的な新規治療法の開発につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Current therapeutic options for advanced cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) are inefficient and there are unmet needs for the novel efficient treatment. The histone deacetylase inhibitors (HDACi) are emerging therapeutic agents for CTCL, while their effects as monotherapy for patients with CTCL are limited. In this study, we focused on nuclear receptors as the targets of combination therapy with HDACi, because HDACi change chromatin structure and may modify the function of the nuclear receptor response elements. We performed the exhaustive protein kinase assay using HDACi and the screening assay using some nuclear receptor agonist with HDACi, and found that HDACi affected some nuclear receptor tyrosine kinase activities; a vitamin D receptor agonist and progesterone receptor agonist and antagonist enhanced HDACi-induced anti-proliferative effects. In conclusion, nuclear receptors are possible therapeutic targets of combination therapy with HDACi for CTCL.

研究分野：皮膚リンパ腫、HDAC阻害剤

キーワード：HDAC阻害剤 チロシンキナーゼ 核内受容体 皮膚T細胞リンパ腫

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)は新たな悪性腫瘍治療のターゲットとして注目され、2008年に米国でボリノスタットが皮膚T細胞リンパ腫(CTCL)に対する治療薬として承認されたのを皮切りに、現在までに3剤が承認され、1剤が世界中で治験が進行中である。しかし単剤による治療効果は限界があり、現在開発中の乳癌に対するエンチノスタットの治験では当初から併用療法が選択されている。CTCLに対する治療でも併用療法のターゲットの検索が行われている(Dummer R, et al. Leuk Leukemia.2012)が、これまでに有効な併用療法は確立されていない。

核内受容体(nuclear receptor: NR)はリガンドが結合すると核内へ移行し、NR 応答配列と結合することで遺伝子の転写を調節する受容体である。ヒトでは48種類存在する。リガンドとしてはステロイドホルモン、甲状腺ホルモンなどのほか、脂溶性ビタミンなどが知られている。NR をターゲットとした薬剤も多数開発されており、FDA が認可している医薬品のうち10%強を占めると言われている。HDAC 阻害剤によりクロマチン構造が弛緩することから、NR 作動薬との相乗作用で抗腫瘍効果が増強する受容体、薬剤があるのではないかと考え、文部科学省新学術領域研究『癌研究分野の特性などを踏まえた支援活動』より試薬サンプルの提供を受けてCTCLの代表的な細胞株であるHut78細胞においてNR 作動薬にHDAC 阻害剤の効果の増強作用があるかスクリーニングを行った。

その結果、複数のレチノイン酸受容体作動薬やペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 作動薬などでHDAC 阻害剤の増殖抑制効果を増強した一方で、ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 作動薬やエストロゲン受容体 作動薬では効果は認めなかった。即ち特定の核内受容体作動薬にHDAC 阻害剤の抗腫瘍効果を増強させる可能性があることが明らかになった。

2. 研究の目的

我々の研究の最終的な目的はCTCL及びリンパ球系悪性腫瘍の治療効果の改善を目的としたHDAC 阻害剤の併用療法の開発である。そこで本研究では動物モデルでの検討を行う前段階として、下記の2つを目的として研究を進める。

- (1) HDAC 阻害剤の効果を増強させる核内受容体(NR)作動薬の同定
- (2) 併用による抗腫瘍効果増強のメカニズム解析

3. 研究の方法

- (1) belinostat, romidepsin, vorinostat の3種のHDAC 阻害剤とHH、Hut78、MJの3株の皮膚T細胞リンパ腫の細胞株を用いて、HDAC 阻害剤により活性に変化をきたす核内受容体レセプターがあるか解析を行った。
- (2) HDAC 阻害剤と種々の核内受容体作動薬/阻害剤を併用し、増殖抑制効果について網羅的に解析を行った。
- (3) (2)で明らかな併用効果を認めた薬剤の組み合わせに関してメカニズムの解析を行った。

4 . 研究成果

- (1) チロシンキナーゼの活性の網羅的解析を行い、HDAC 阻害剤の刺激によりプロゲステロン受容体のある特定領域に対するチロシンキナーゼ活性が亢進していることを明らかにした。
- (2) vitamin D receptor 及び progesterone receptor の作動薬と阻害薬に HDAC 阻害剤の抗増殖効果を増強させる作用があること明らかにした
- (3) プロゲステロン阻害剤である mifepristone は単剤では増殖抑制効果は示さないが、低用量の romidepsin と併用することにより増殖抑制効果を有意に亢進させた。そのメカニズムとしてはアポトーシスの増強作用に加えて細胞周期の停止があることを明らかにした。HDAC 阻害剤もしくは mifepristone 単剤では phospho-Histone H3 陽性細胞の割合はコントロールと変化を認めなかったが共刺激することにより陽性細胞の割合が増強していた。さらに cyclin A2 と cyclin B1 に関しても HDAC 阻害剤もしくは mifepristone 単剤では共刺激することにより発現が減少していた。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 18 件)

Baba N, [Fujii K](#), Nomoto Y, Jimura N, Higashi Y, Takami S, Masamoto I, Yonekura K, Mera K, Kanekura T, Sézary syndrome in an anti-human T-cell lymphotropic virus type 1 seropositive carrier, *J Dermatol*, 査読有, 46, 2019, e40-e41.

doi: 10.1111/1346-8138.14522.

Fujisawa Y, Funakoshi T, Nakamura Y, Ishii M, Asai J, Shimauchi T, [Fujii K](#), Fujimoto M, Katoh N, Ihn H, Nation-wide survey of advanced non-melanoma skin cancers treated at dermatology departments in Japan, *J Dermatol Sci*, 査読有, 92, 2018, 230-236.

doi: 10.1016/j.jdermsci.2018.10.004.

Yoshifuku A, [Fujii K](#), Kanekura T, Comparison of oxidative stress on DNA, protein and lipids in patients with actinic keratosis, Bowen's disease and squamous cell carcinoma, *J Dermatol*, 査読有, 45, 2018, 1319-1323. doi: 10.1111/1346-8138.14631.

Yoshifuku A, Okubo A, Jimura N, [Fujii K](#), Higashi Y, Kanekura T, A case of Bullous Pemphigoid Associated with Lichen Sclerosus et Atrophicus, *Indian J Dermatol*, 査読有, 63, 2018, 427-428. doi: 10.4103/ijd.IJD_127_18.

[Fujii K](#), New Therapies and Immunological Findings in Cutaneous T-Cell Lymphoma, *Front Oncol*, 査読有, 8, 2018, 198. doi: 10.3389/fonc.2018.00198.

Okubo A, [Fujii K](#), Arimura A, Katsue H, Higashi Y, Shimomura Y, Kanekura T, Hypohidrotic ectodermal dysplasia with strabismus, *J Dermatol*, 査読有, 45, 2018, e191-e192. doi: 10.1111/1346-8138.14252.

Tachibana K, Hamada T, Tsuchiya H, Shibata T, [Fujii K](#), Kobayashi K, Iwatsuki K, Ethosuximide-induced Stevens-Johnson syndrome: Beneficial effect of early

intervention with high-dose corticosteroid therapy, *J Dermatol*, 査読有, 45, 2018, 592-595. doi: 10.1111/1346-8138.14253.

Fujii K, Suzuki N, Jimura N, Idogawa M, Kondo T, Iwatsuki K, Kanekura T, HSP72 functionally inhibits the anti-neoplastic effects of HDAC inhibitors, *J Dermatol Sci*, 査読有, 90, 2018, 82-89. doi: 10.1016/j.jdermsci.2018.01.002.

Arimura A, Fujii K, Ibusuki A, Hatanaka M, Sakanoue M, Higashi Y, Kanekura T, Granulocyte and monocyte adsorption apheresis for palmoplantar pustulosis with extra-palmoplantar lesions and pustulotic arthro-osteitis, *J Dermatol*, 査読有, 45, 2018, e167-e168. doi: 10.1111/1346-8138.14191.

Baba N, Fujii K, Ibusuki A, Higashi Y, Kawai K, Kanekura T, Secondary skin involvement by systemic de novo CD5-positive diffuse large B-cell lymphoma, *J Dermatol*, 査読有, 45, 2018, e15-e16. doi: 10.1111/1346-8138.14082.

Jimura N, Fujii K, Higashi Y, Kanekura T, Alopecia areata complicated with Good's syndrome, *Australas J Dermatol*, 査読有, 59, 2018, e214-e215. doi: 10.1111/ajd.12725.

Okubo A, Fujii K, Kondo T, Semba I, Higashi Y, Kanekura T, Kimura's disease in the oral cavity: A rare manifestation of immunoglobulin G4-related disease, *J Dermatol*, 査読有, 44, 2017, e357-e358. doi: 10.1111/1346-8138.14021.

Higashi Y, Yoshioka T, Kawai K, Fujii K, Yoshimitsu M, Kusuyama J, Shima K, Tanimoto A, Kanekura T, Lymphomatoid granulomatosis initially presenting as ulcerated subcutaneous and muscle lesions without pulmonary involvement, *J Dermatol*, 査読有, 44, 2017, e107-e108. doi: 10.1111/1346-8138.13712.

Kawahira H, Higashi Y, Matsuoka A, Fujii K, Ishii N, Hashimoto T, Kanekura T, Pyodermitis vegetans with antibodies to bullous pemphigoid antigen 180, *J Dermatol*, 査読有, 44, 2017, 1417-1418. doi: 10.1111/1346-8138.13703.

Jimura N, Fujii K, Baba A, Higashi Y, Kanekura T, Spontaneous regression of a primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type, *J Dermatol*, 査読有, 44, 2017, 608-609. doi: 10.1111/1346-8138.13496.

Honda Y, Otsuka A, Ono S, Yamamoto Y, Seidel JA, Morita S, Hirata M, Kataoka TR, Takenouchi T, Fujii K, Kanekura T, Okubo Y, Takahashi K, Yanagi T, Hoshina D, Hata H, Abe R, Fujimura T, Funakoshi T, Yoshino K, Masuzawa M, Amoh Y, Tanaka R, Fujisawa Y, Honda T, Kabashima K, Infiltration of PD-1-positive cells in combination with tumor site PD-L1 expression is a positive prognostic factor in cutaneous angiosarcoma, *Oncoimmunology*, 査読有, 6, 2016, e1253657. doi: 10.1080/2162402X.2016.1253657.

Yoshifuku A, Fujii K, Kawahira H, Katsue H, Baba A, Higashi Y, Aoyama Y, Kanekura T, Long-lasting Localized Pemphigus Vulgaris without Detectable Serum

Autoantibodies Against Desmoglein 3 and Desmoglein 1, Indian J Dermatol, 査読有, 61, 2016, 427-429. doi: 10.4103/0019-5154.185712.

Baba A, Fujii K, Arimura A, Tada K, Higashi Y, Matsushita S, Kanekura T, Psoriasis with verrucous appearance, Int J Dermatol, 査読有, 55, 2016, e419-421.

doi: 10.1111/ijd.13243.

〔学会発表〕(計 16 件)

国際学会

Fujii K, Jimura N, Okubo A, Sakanoue M, Uchida Y, Higashi Y, Kawabata H, Kanekura T, Spontaneous regression of primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type, with multiple lesions. EORTC CLTF Meeting St.Gallen 2018, 2018.

Fujii K, Jimura N, Qiao Z, Oyama R, Kito F, Kondo T, Kanekura T, Src is a possible therapeutic pathway in combination with HDAC inhibitors for CTCL, EORTC CLTF MEETING LONDON 2017, 2017.

Fujii K, Yoshifuku A, Kawahira H, Katsue H, Baba A, Higashi Y, Aoyama Y, Kanekura T, Long lasting localized pemphigus vulgaris without detectable anti-desmoglein antibodies, subsequent to systemic form, 4th Eastern Asia Dermatology Congress, 2016.

Fujii K, Kondo T, Kanekura T, Proteomic analysis identified heat shock protein 72 as a possible target of combination therapy with histone deacetylase inhibitor, 15th Human Proteome Organization World Congress, 2016.

国内学会

藤井一恭、指宿敦子、西川拓朗、河野嘉文、金蔵拓郎、Omenn 症候群の 1 例、第 275 回日本皮膚科学会岡山地方会、2018 年

藤井一恭、内田洋平、有村亜希子、東裕子、有馬直佑、吉満誠、石塚賢治、金蔵拓郎、敗血疹により皮膚病変が誘発された急性型成人 T 細胞白血病/リンパ腫、第 5 回日本 HTLV-1 学会、2018 年

藤井一恭、島内隆寿、浅井純：皮膚がん予後統計委員会、皮膚リンパ腫全国症例数調査の結果（2017 年版）、第 34 回日本皮膚悪性腫瘍学会、2018 年

藤井一恭、地村 望、近藤 格、金蔵拓郎、HDAC 阻害剤の併用療法のターゲットとしての HSP72 の可能性、第 29 回南九州腫瘍研究会、2018 年

藤井一恭、大久保葵、有村亜希子、坂之上正直、内田洋平、東裕子、川畑 久、金蔵拓郎、生検で多くの病変が消退した多発性皮膚原発びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫、第 273 回日本皮膚科学会岡山地方会、2018 年

Jimura N, Fujii K, Kyou S, Oyama R, Kitou F, Kondo T, Kanekura T, Src pathway as a potential therapeutic target in combination with histone deacetylase inhibitors for cutaneous T-cell lymphoma, 42nd JSID, 2017 年.

地村望、藤井一恭、喬志偉、小山理恵子、紀藤房子、近藤 格、金蔵拓郎、皮膚 T 細胞リンパ腫において Src 経路は HDAC 阻害薬との併用ターゲットになる得る、第 68 回日本電気泳動学会総会、2017 年

藤井一恭、皮膚病変を有する ATL の治療、第 33 回日本皮膚悪性腫瘍学会、2017 年

藤井一恭、井戸川雅史、近藤 格、岩月啓氏、金蔵拓郎、Quercetin enhances vorinostat-induced apoptosis in HSP72-overexpressed cell line, Hut78、第 75 回日本癌学会学術総会、2016 年

藤井一恭、地村望、馬場淳徳、東裕子、金蔵拓郎、EBER 陰性 PCDLBCL-LT の自然消退、第 32 回日本臨床皮膚科医会総会、2016 年

藤井一恭、皮膚 T 細胞リンパ腫と HDAC 阻害剤、第 80 回日本皮膚科学会東部支部学術大会、2016 年

藤井一恭、2D-DIGE を用いたヒストン脱アセチリ化酸素阻害剤の併用療法のターゲットの同定、第 67 回日本電気泳動学会総会、2016 年

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：近藤 格

ローマ字氏名：(KONDO, tadashi)

所属研究機関名：国立研究開発法人国立がん研究センター

部局名：研究所

職名：分野長

研究者番号 (8 桁): 30284061

(2)研究協力者

研究協力者なし

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。