

令和元年6月19日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10167

研究課題名(和文)古典型カポジ肉腫の自然消退のメカニズムの解明と治療応用について

研究課題名(英文) Mechanism of spontaneous regression of classic type Kaposi's sarcoma and its application for cancer therapy

研究代表者

金城 貴夫 (Kinjo, Takao)

琉球大学・医学部・教授

研究者番号：30284962

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)：カポジ肉腫(KS)はhuman herpesvirus-8 (HHV-8)により発生する腫瘍である。KSは臨床的に4つのタイプがあるが、AIDS関連型KSと古典型KSは対照的な特徴を示す。AIDS関連型KSは進行が早く全身に病変が及ぶのに対し、古典型KSの病変は皮膚に局限し、自然消退する事さえある。我々はAIDS関連型KSと古典型KSから検出されたHHV-8のK1遺伝子の違いに着目し、臨床症状との関連を検討した。本研究により、古典型K1遺伝子はAIDS関連型K1遺伝子より形質転換能(腫瘍を発生させる力)が弱く、古典型KSとAIDS関連型KSの臨床症状の違いに関連する事が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでAIDS関連型KSと古典型KSの臨床症状が何故異なるか明らかではなかった。HHV-8のK1遺伝子は腫瘍発生に関わる事が知られていたが、本研究では古典型KS由来K1遺伝子はAIDS関連型KS由来K1遺伝子より形質転換能が弱い事を明らかにした。HHV-8のK1遺伝子の機能が臨床症状に関連する事を初めて報告した。古典型KSの自然消退のメカニズムの解明は、将来的に癌の自然消退を誘導する治療法を開発する上で基盤となると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Kaposi's sarcoma (KS) is caused by human herpesvirus-8 (HHV-8) and subdivided four types based on clinical presentations. Among these subtypes, clinical presentations of classic type KS are milder than those of AIDS-related KS. In particular, the lesions of classic type KS are limited to the skin and sometimes show spontaneous regression. HHV-8 encodes K1 gene which is involved in KS oncogenesis. Because we found amino acid sequence variations of K1 gene between classic type KS and AIDS-related KS, we hypothesized that the transformation activities of K1 gene between classic KS and AIDS-related KS are associated with their clinical presentations. In this research, we revealed that transformation activity of classic type KS is weaker than that of AIDS-related KS suggesting possible association with spontaneous regression seen in classic type KS. The mechanism of spontaneous regression of classic KS may provide new therapeutic strategy against cancer.

研究分野：病理学

キーワード：カポジ肉腫 HHV-8 K1遺伝子 形質転換能 古典型 自然消退

1. 研究開始当初の背景

カポジ肉腫 (KS) は臨床的に AIDS 関連型、臓器移植関連型、アフリカ型、古典型に分類される。AIDS 関連型は皮膚、粘膜や内臓に病変を形成し、病期の進行と共に病変の数と大きさが急速に増加する。一方古典型は主に高齢者の四肢に発生し、病変は皮膚に限局する事が多く進行は緩徐で自然消退する事さえある。現在までのところ古典型カポジ肉腫が自然消退するメカニズムは全く分かっていない。

KS の発生には HHV-8 が関与する。HHV-8 のゲノムは殆どの領域で変異がないが、腫瘍発生に関与する K1 遺伝子には多数の変異があり、HHV-8 のサブタイプ分類に用いられる。私達研究グループは沖縄県の古典型 KS と AIDS 関連型 KS より HHV-8 を検出し、K1 のアミノ酸配列を比較したところ、古典型では全例に AIDS 関連型と異なる変異が見られた (Kamiyama, Kinjo et al. J Clin Pathol 2004) (図 1)。K1 遺伝子の変異が古典型と AIDS 関連型の臨床像の違いに関与している可能性が示唆された。

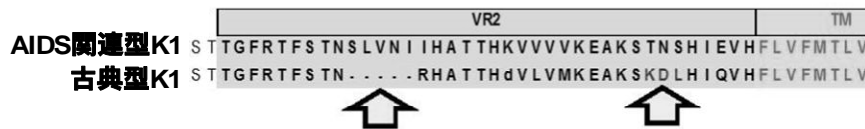


図 1. 古典型 K1 と AIDS 関連型 K1 のアミノ酸配列の比較

そこで古典型 K1 遺伝子と AIDS 関連型の K1 遺伝子の形質転換能 (癌を発生させる能力) を比較し、古典型 KS と AIDS 関連型 KS の臨床像の違いの解明を試みた。

2. 研究の目的

本研究の目的は古典型 K1 遺伝子と AIDS 関連型 K1 遺伝子の形質転換能の違いを明らかにし、古典型 KS の自然消退のメカニズムを解明する事である。さらに古典型 KS の細胞内シグナル伝達を明らかにし、分子標的療法の基盤を築く事を目的とする。

将来的には本研究により古典型 KS の自然消退のメカニズムを明らかにする事で癌の治療応用への発展性を目指す。

3. 研究の方法

AIDS 関連型 K1 遺伝子と古典型 K1 遺伝子をマウスの初代培養線維芽細胞に導入し、それぞれ AK1、CK1 と命名した。この細胞株を用いて形質転換能 (癌を発生させる能力) を比較した。具体的には、増殖能、アポトーシスへの抵抗性、DNA damage response (DDR) 誘導の有無などを調べ、最終的にはマウスに腫瘍を形成できるか検討した。K1 遺伝子がどのような細胞内シグナル伝達経路を介して形質転換を誘導するかウェスタンブロットティングやルシフェラーゼアッセイを用いて検討した。

4. 研究成果

本研究により得られた主な成果を以下に記す。

(1) 古典型 K1 遺伝子と AIDS 関連型 K1 遺伝子の形質転換能の違い

癌細胞は正常細胞と比べて増殖能が高く、アポトーシス抵抗性があり、DNA damage response の破綻を示す等の特徴があり、形質転換の指標とされる。KS 発生に関わる K1 遺伝子について古典型と AIDS 関連型で比較した。

増殖能

形質転換の指標のひとつとして K1 遺伝子の細胞増殖に対する効果を検討した。古典型 K1 遺伝子と AIDS 関連型 K1 遺伝子で増殖能に対する効果を比較すると、古典型 K1 遺伝子の発現は増殖能を亢進させるものの、古典型 K1 の増殖能は AIDS 関連型と比べると弱い事が明らかとなった(図2)。

アポトーシス抵抗性

正常細胞は強い細胞障害性ストレスを受けるとアポトーシスという細胞死の形態を示す。しかし癌細胞は同様のストレスを受けてもアポトーシスが起こりにくい。そこで K1 遺伝子発現によるアポトーシスへの影響を調べた。古典型 K1 遺伝子と AIDS 関連型 K1 遺伝子でアポトーシス抵抗性を比較すると、古典型 K1 遺伝子の発現はアポトーシス抵抗性を示すが、その効果は AIDS 関連型と比べると弱い事が明らかとなった(図3)。

DNA damage response (DDR)

正常細胞では DNA damage が起こると DNA damage response (DDR)が誘導される。DNA 損傷が小さい場合は DNA を修復し、損傷が大きければアポトーシスを誘導する。癌細胞では DNA damage が起きてても、DDR が破綻している為、アポトーシスが誘導されない。AK1 細胞と CK1 細胞に細胞障害性ストレスを与え、DDR の誘導を比較した。古典型 K1 遺伝子と AIDS 関連型 K1 遺伝子はいずれも K1 を発現していない細胞に比べると DDR の誘導は低い、特に AIDS 関連型 K1 の方が古典型 K1 より DDR の誘導は低く、上記のアポトーシス抵抗性と

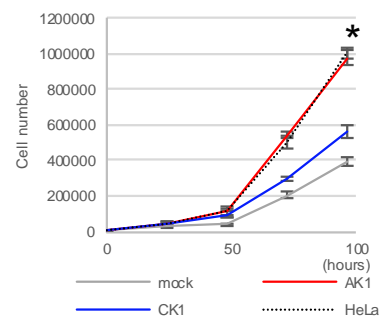


図2.古典型 K1 と AIDS 関連型 K1 の増殖能の比較

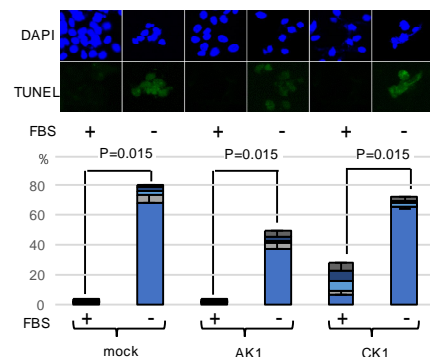


図3.古典型 K1 と AIDS 関連型 K1 のアポトーシス抵抗

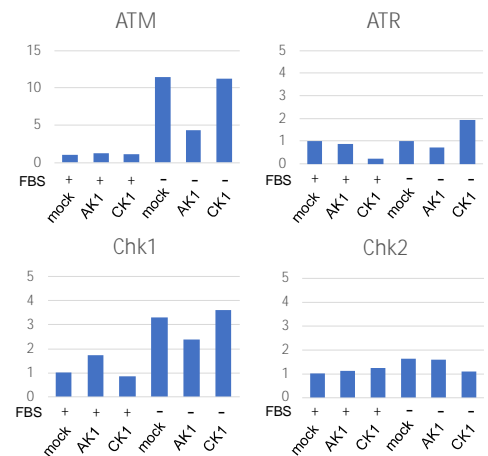


図4.古典型 K1 と AIDS 関連型 K1 の DNA damage response (DDR)

相関していると考えられた (図 4)。

腫瘍形成能

上記の結果より K1 遺伝子の発現は形質転換を誘導していると考えられたが、癌細胞としての性質を有するかは、K1 遺伝子発現細胞をヌードマウスに接種し実際に腫瘍が形成されるか確認する必要がある。そこで AK1 細胞と CK1 細胞をそれぞれヌードマウスに接種し、約 2 か月にわたって観察した。AK1 では接種した全てのマウスに腫瘍形成がみられたが、CK1 では全く腫瘍形成は認められなかった (Table 1)。この結果から古典型 K1 遺伝子は AIDS 関連型 K1 遺伝子より形質転換能が低い事が明らかになった。

Table1. Tumor formation in nude mice injected with MEFs expressing the KSHV K1 gene.

	Tumor formation in nude mice
mock	0/12
AK1	12/12
CK1	0/12

(2) 古典型 K1 遺伝子と AIDS 関連型 K1 遺伝子の細胞内シグナル伝達活性の違い

K1 遺伝子は NF- κ B や Akt を活性化し形質転換を誘導する事が知られている。そこで古典型 K1 遺伝子と AIDS 関連型 K1 遺伝子で細胞内シグナル伝達活性を比較した。古典型 K1 と AIDS 関連型 K1 はいずれも NF- κ B と Akt を活性化させるが、その程度は AIDS 関連型 K1 の方が古典型 K1 より強い事が明らかになった (図 5)。

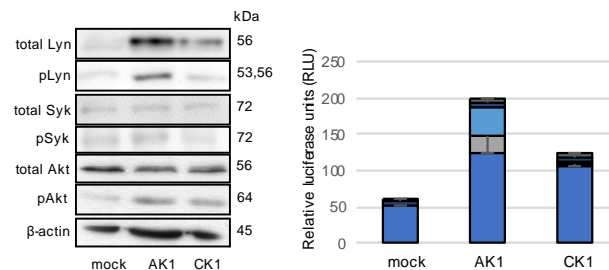


図 5.古典型 K1 と AIDS 関連型 K1 のシグナル伝達活性

得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

本研究により KS 発生に関わる HHV-8 の K1 遺伝子の形質転換能は古典型 KS と AIDS 関連型 KS で異なる事が明らかになった。これまで HHV-8 の K1 遺伝子にはアミノ酸配列が異なる様々なサブタイプがある事が報告されていたが、本研究はアミノ酸配列による機能の違いを初めて報告した。本研究により HHV-8 の病原性に関する新たな知見が得られた事で、今後 HHV-8 の基礎研究の進展に寄与すると考えられる。

臨床的な貢献に関しては、古典型 KS と AIDS 関連型 KS の臨床症状はそれぞれの K1 遺伝子の形質転換能と相関する事を示した。従って本研究は KS の臨床症状の違いに関わるウイルス側因子を明らかにしたといえる。しかし古典型 KS が老人に発生する事や AIDS 関連型 KS が AIDS 患者の日和見感染症として発生する事は、KS 発生に宿主の免疫能も関与する事を示唆している。KS 発生に関わる宿主側の因子についても解明し、腫瘍発生全般を明らかにする必要があるが、本研究はその道筋をつけた。

今後の展望

古典型 KS の自然消退のメカニズム解明を目的に本研究を行い、古典型と AIDS 関連型 K1 遺伝子で形質転換能が異なる事を見出した。本研究から古典型 KS の自然消退に関わるウイルス側因子が明らかにされた。しかし腫瘍の自然消退を説明するのにウイルス遺伝子の機能の違いで全て説明出来るわけではない。いったん発生した腫瘍が消えてしまう現象は、宿主の免疫による腫瘍細胞の排除を想定させる。つまり古典型 K1 は AIDS 関連型 K1 より腫瘍免疫のターゲットとなり易い事が考えられ、この仮説の下に新たな研究に着手したところである。腫瘍の自然消退のメカニズムの解明は副作用の少ない新たな抗腫瘍療法の開発に繋がるものと期待される。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 17 件)

Tamanaha-Nakasone A, Uehara K, Tanabe Y, Ishikawa H, Yamakawa N, Toyoda Z, Kurima K, Kina S, Tsuneki M, Okubo Y, Yamaguchi S, Utsumi D, Takahashi K, Arakawa H, Arasaki A, Kinjo T. K1 gene transformation activities in AIDS-related and classic type Kaposi's sarcoma: Correlation with clinical presentation. Scientific Reports (査読有) vol. 9, No. 1, 2019, 6416.

doi: 10.1038/s41598-019-42763-0.

Uehara K, Ikehara F, Shibuya R, Nakazato I, Oshiro M, Kiyuna M, Tanabe Y, Toyoda Z, Kurima K, Kina S, Hisaoka M, Kinjo T. Molecular signature of tumors with monoallelic 13q14 deletion: a case series of spindle cell lipoma and genetically-related tumors demonstrating a link between FOXO1 status and p38 MAPK pathway. Pathology and Oncology Research (査読有) vol. 24, No. 4, 2018, 861-869.

doi: 10.1007/s12253-017-0303-6.

Uehara K, Iwashita H, Tanabe Y, Kurima K, Oshiro M, Kina S, Ota A, Iwashita A, Kinjo T. Esophageal xanthoma: presence of M2 macrophages suggests association with late inflammatory and reparative processes. Open Medicine (Wars) (査読有) vol. 12, 2017, 335-339.

doi: 10.1515/med-2017-0048.

Tsuneki M, Kinjo T, Mori T, Yoshida A, Kuyama K, Ohira A, Miyagi T, Takahashi K, Kawai A, Chuman H, Yamazaki N, Masuzawa M, Arakawa H. Survivin: A novel marker and potential therapeutic target for human angiosarcoma. Cancer Science (査読有) vol. 108, No. 11, 2017, 2295-2305.

doi: 10.1111/cas.13379.

Uehara K, Ikehara F, Tanabe Y, Nakazato I, Oshiro M, Inamine M, Kinjo T. CD10 expression in the neuroendocrine carcinoma component of endometrial mixed carcinoma: association with long survival. Diagnostic Pathology (査読有) vol. 11, 2016, 16. doi: 10.1186/s13000-016-0468-4.

〔学会発表〕(計 12 件)

金城貴夫、喜名振一郎、荒川博文. HHV-8 の K1 遺伝子の形質転換能の違いは古典型カポジ肉腫と AIDS 関連型カポジ肉腫の臨床像の違いに関与する. 第 78 回日本癌学会学術総会 2019 年

上原佳里奈、喜名振一郎、新崎章、金城貴夫. AIDS 関連型カポジ肉腫と古典型カポジ肉腫由来 KSHV K1 遺伝子の形質転換能と臨床像の関連. 第 108 回日本病理学会総会 2019 年

金城貴夫. ヒトヘルペスウイルス-8 の K1 遺伝子の機能は古典型カポジ肉腫と AIDS 関連型カポジ肉腫の臨床像の違いに関与する. 第 76 回日本癌学会学術総会 2017 年

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：高橋 健造

ローマ字氏名：(TAKAHASHI Kenzo)

所属研究機関名：琉球大学

部局名：大学院医学研究科

職名：教授

研究者番号 (8 桁)：80291425

研究分担者氏名：常木 雅之

ローマ字氏名：(TSUNEKI Masayuki)

所属研究機関名：新潟大学

部局名：大学院医歯学総合研究科

職名：医員

研究者番号 (8 桁)：40714944

(2)研究協力者

研究協力者氏名：田邊 恭佳

ローマ字氏名：(TANABE Yasuka)

所属研究機関名：琉球大学

部局名：医学部

職名：技術専門職員

研究者番号 (8 桁)：80437996

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。