

令和元年5月29日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10544

研究課題名(和文) 大腸癌におけるstatinの抗腫瘍効果メカニズムの解明と新規治療法の開発

研究課題名(英文) Elucidation of anti-tumor effect mechanism of statin in colorectal cancer and development of new treatment

研究代表者

石川 晋之 (ISHIKAWA, Shinji)

熊本大学・医学部附属病院・非常勤診療医師

研究者番号：80419639

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)：切除不能・再発大腸癌に対する薬物治療は多くの薬剤開発により、治療効果は出ているが、特定の遺伝子変異を有する大腸癌では薬剤の効果が発揮されないことが判明している。我々の行った研究では、高脂血症治療薬であるスタチン類と、ある特定の増殖経路阻害剤とを併用することで、上記遺伝子変異を有する大腸癌を効果的に抑制することが確認できた。それぞれの薬剤単独ではほとんど腫瘍抑制効果は認められないが、併用することで相乗的な抗腫瘍効果が発揮されることから、副作用が少なく、効果が高い新規治療法としての期待が持てる研究成果であることを示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸癌は、肝臓や肺に転移があっても、切除することができれば根治出来る可能性が高い疾患である。よって、切除不能・再発大腸癌の根治は、薬物療法によって切除可能な状態にすることができるかにかかっている。現状の薬物療法の問題点は、副作用、費用、限定的な効果の3点である。我々はこの3点を念頭に研究を進め、相乗効果が得られる薬剤の組み合わせで、遺伝子変異を有する難治性の大腸癌治療法開発の可能性を示した。

研究成果の概要(英文)： The drug treatment for unresectable / recurrent colorectal cancer has shown therapeutic effects due to the development of many drugs, but it has been found that the effects of the drugs cannot be exhibited in colorectal cancer having a specific gene mutation. In our research, we confirmed that the colorectal cancer cells with the above gene mutation is effectively suppressed by using statins, which are anti-hyperlipidemic agents, in combination with a specific growth pathway inhibitor. Although each drug alone shows almost no tumor suppressive effect, the synergistic anti-tumor effect is exhibited by combined use. These results suggest that this combination therapy is a promising research outcome as a novel treatment with few side effects and high efficacy.

研究分野：消化器外科

キーワード：スタチン 大腸癌 MEK/ERK Akt/PKB K-ras BRAF

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

1. 研究開始当初の背景

我々は、simvastatin と HDAC inhibitor の併用で、相乗的な抗腫瘍効果を複数の大腸癌細胞株で認めたことを報告した (Ishikawa S et al. Int J Cancer 2014;135;2528-2536)。この報告では、simvastatin による EZH2 発現抑制の feedback で起こる HDAC5 の発現増加を HDAC inhibitor で抑制することで、simvastatin と HDAC inhibitor 併用による相乗的な抗腫瘍効果のメカニズムをも解明し、さらにはこの現象が臨床検体でも同様であることを証明した。

2. 研究の目的

Simvastatin と HDAC inhibitor 併用療法の開発及び、simvastatin による EZH2 発現抑制のメカニズムを解明することが、さらなる大腸癌薬物療法の発展に寄与することが出来ると考え、研究を継続した。

3. 研究の方法

大腸癌細胞株に simvastatin を投与し、大腸癌増殖に関わる分子の発現の変化を確認しながら EZH2 発現抑制への経路を解明する方法を選択した。また、バイオマーカーと薬剤効果の観点を考慮し、K-ras、BRAF、PIK3CA の変異と薬剤投与による各増殖関連分子の発現、殺細胞効果も検討した。

また、これまでの臨床データを retrospective に解析し、stage II、III の大腸癌において、再発の危険性が高い因子、補助化学療法が有効な因子の同定に関する検討も行った。

4. 研究成果

EZH2 の promoter 領域を検討した報告では、EZH2 の発現は、Elk1 のリン酸化が関連しており、Elk1 のリン酸化は MEK/ERK 経路のリン酸化に負うところが大きいと言われている。Simvastatin を大腸癌細胞株に投与したところ、simvastatin には MEK inhibitor としての機能だけでなく、Akt inhibitor としての機能もあることが判明した (図 1)。

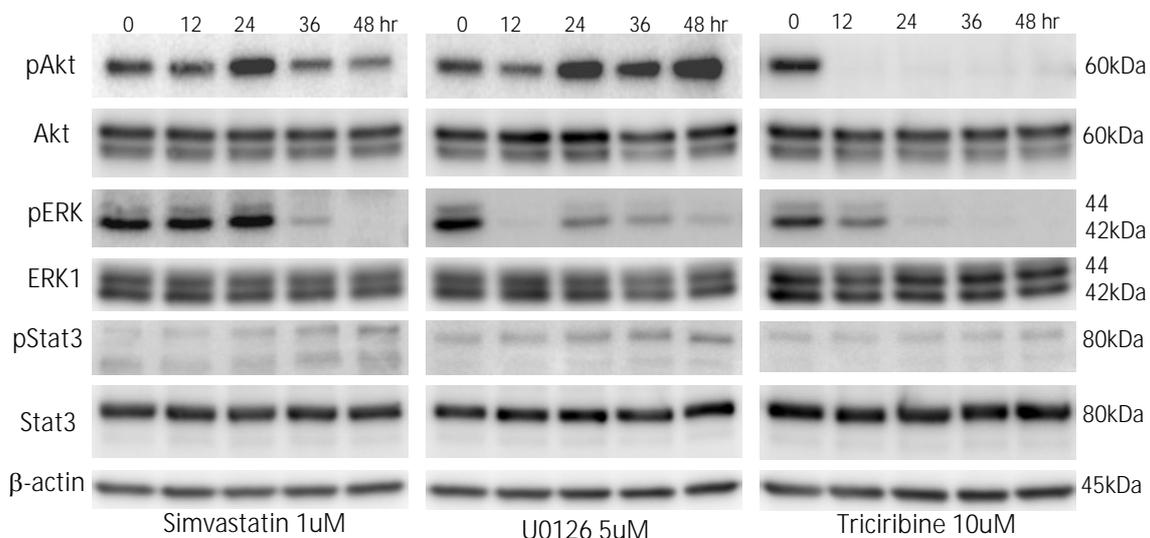
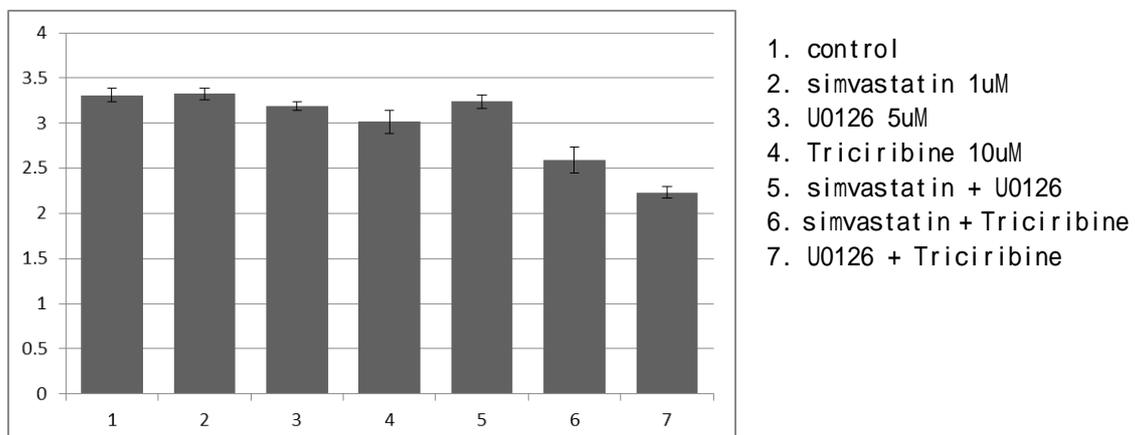


図 1. 大腸癌細胞株に各種薬剤投与後の Western blotting
Simvastatin で pAkt と pERK の両者が抑制される。U0126 で pERK を抑制すると、pAkt が誘導される。Triciribine で pAkt を抑制すると、遅れて pERK も抑制される。



1. control
2. simvastatin 1uM
3. U0126 5uM
4. Triciribine 10uM
5. simvastatin + U0126
6. simvastatin + Triciribine
7. U0126 + Triciribine

図 2. 大腸癌細胞株に各種薬剤投与後の growth assay (投与後 5 日)
 上記 Western blotting と同様の投与。Simvastatin や Triciribine で pAkt, pERK が抑制されても (lane 2, 4) 有意な増殖抑制につながらない。

ただ、この作用は細胞株により差があること、高脂血症治療薬として内服する量相当の simvastatin 単剤での抗腫瘍効果は認められない細胞株があること、大腸癌の主要な増殖経路と言われている、MEK/ERK 経路、Akt/PKB 経路を薬剤で効果的に抑制しても、増殖抑制につながらない細胞株があることが判明した (図 2)。さらにこの現象が、バイオマーカーのステータスにより異なることが判明した。つまり、K-ras、BRAF、PIK3CA の変異の有無で simvastatin のリン酸化抑制機能、抗腫瘍効果に違いがあることが判った。

そこで、TCGA や論文から入手できる大腸癌症例、大腸癌細胞株の情報を収集し、バイオマーカーのステータスに沿って分類し、頻度の高いステータス 4 種を割出し、同じステータスの細胞株 4 種類を入手し、研究を継続した (表 1)。

genes				clinical cases (n=1737)	cell line (n=76)	total (n=1813)
K-ras	BRAF	PIK3CA	PTEN			
WT	WT	WT	WT	994	28	1022
mut	WT	WT	WT	319	21	340
WT	mut	WT	WT	119	5	124
WT	WT	mut	WT	71	0	71
WT	WT	WT	mut	15	0	15
mut	mut	WT	WT	2	0	2
mut	WT	mut	WT	121	13	134
mut	WT	WT	mut	14	1	15
WT	mut	mut	WT	36	6	42
WT	mut	WT	mut	14	2	16
WT	WT	mut	mut	10	0	10
mut	mut	mut	WT	3	0	3
mut	mut	WT	mut	3	0	3
mut	WT	mut	mut	12	0	12
WT	mut	mut	mut	3	0	3
mut	mut	mut	mut	1	0	1

表 1. バイオマーカーに沿った大腸癌症例、細胞株の分類

結果的に、よく言われている、薬剤抵抗性の仕組みは、既存の増殖因子の feedback などによるものというよりは、バイオマーカーのステータスにより、各増殖経路の cross-talk が smooth に運ぶことが主な原因であることが示唆された。また、MEK/ERK 経路と Akt/PKB 経路の両方を抑制することが出来ても、必ずしも細胞増殖が抑えられるわけではないこと、大腸癌増殖の他の経路が定常的な細胞増殖を担っていることも判明した。

臨床データを使用した検討では、stage III 大腸癌の再発を規定する因子を 5 種類抽出することに成功し、再発を予測する新規スコアリングシステムを開発した。また、stage II では、ASCO、NCCN、ESMO、JFMC が定義している high-risk stage II の危険因子から、どの定義を使用すべきか、どういう状況の場合、補助化学療法が有効なのかを抽出することに成功した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Ishikawa Shinji, Sawayama Hiroshi, Matsuo Akinobu, Uchino Ryojin, Honda Shinobu, Hirota Masahiko, Baba Hideo: Construction and validation of a simple scoring system for stage III colorectal cancer recurrence (SiS-SCORE). A case control study. Jpn J Clin Oncol. 2019. 査読有 doi: 10.1093/jjco/hyy192

〔学会発表〕(計 4 件)

石川晋之、澤山 浩、松尾彰宣、内野良仁、本田志延、廣田昌彦、馬場秀夫: Stage 大腸癌

根治術後再発予測簡易スコアリングシステム (Simple Scoring System for Stage Colorectal cancer Recurrence : SiS-SCORE)の構築と評価、第 118 回日本外科学会定期学術集会、2018

石川晋之、松尾彰宣、内野良仁、本田志延、蔵野良一、廣田昌彦、馬場秀夫：大腸癌 high risk Stage を考え直す、第 73 回日本消化器外科学会総会、2018

大内繭子、坂本快郎、徳永竜馬、糸山明莉、江藤二男、黒田大介、玉置裕香、中村健一、小澄敬祐、原田和人、志垣博信、藏重淳二、岩槻政晃、馬場祥史、宮本裕士、吉田直矢、馬場秀夫：大腸癌肝転移におけるオキサリプラチン耐性と EZH2 発現の関連性、第 116 回日本外科学会定期学術集会、2016

Ohuchi M, Sakamoto Y, Tokunaga R, Nakamura K, Kosumi K, Harada K, Shigaki H, Kurashige J, Iwatsuki M, Baba Y, Miyamoto Y, Yoshida N, Baba H: The change of EZH2 expression in development of colorectal cancer from adenoma. AACR Annual Meeting 2016

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：徳永 竜馬
ローマ字氏名：TOKUNAGA Ryuma
所属研究機関名：熊本大学
部局名：医学部附属病院
職名：非常勤診療医師
研究者番号(8桁)：20594881

研究分担者氏名：東 孝暁
ローマ字氏名：HIGASHI Takaaki
所属研究機関名：熊本大学
部局名：医学部附属病院
職名：非常勤診療医師
研究者番号(8桁)：70594878

研究分担者氏名：宮本 裕士
ローマ字氏名：MIYAMOTO Yuuji
所属研究機関名：熊本大学
部局名：医学部附属病院
職名：講師
研究者番号(8桁)：80551259

研究分担者氏名：林 洋光
ローマ字氏名：HAYASHI Hiromitsu
所属研究機関名：熊本大学
部局名：医学部附属病院
職名：助教
研究者番号(8桁)：80625773

(2)研究協力者

研究協力者氏名：なし
ローマ字氏名：

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。