

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：32203

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19083

研究課題名(和文) 核内受容体LXRとその代謝関連標的分子に着目した新規難治がん治療法の開発

研究課題名(英文) Developing novel treatment of refractory cancer by targeting Liver X Receptor and its metabolism related gene

研究代表者

柏木 維人(Kashiwagi, Korehito)

獨協医科大学・医学部・助教

研究者番号：50722451

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：正常肺組織、正常膵臓組織、難治性がん組織(小細胞肺癌組織および浸潤性膵管癌組織)におけるLiver X Receptor / (LXR /)の発現を検討し、正常肺及び膵臓組織の各種上皮細胞ではLXR が細胞核に発現していることを明らかにした。さらに、難治性がん組織においてもがん細胞では高率にLXRの発現がみられることを明らかにした。次に、難治性がん細胞株に対するLXR標的薬の効果を検討したが、LXR標的薬の有効性を示すデータは得られなかった。

研究成果の概要(英文)：We investigated of expression of Liver X Receptor (LXR /) in normal and refractory cancer tissues of the human lung and pancreas. The result showed that LXR was expressed in the various epithelial cells of normal lung and pancreas tissues. Similarly, LXR was expressed in the refractory cancer tissues. We next examined the efficacy of LXR targeted drug against refractory cancer cell lines, but its positive results could not be obtained.

研究分野：実験病理学

キーワード：癌代謝 核内受容体 難治性癌

1. 研究開始当初の背景

がん細胞は正常細胞とは異なるがん代謝を行うことが知られている。Liver X 受容体 (LXR) α/β は、コレステロール代謝産物のオキシステロール類をリガンドとし、主にコレステロールを中心とした脂質代謝の制御を行う核内受容体である。我々は近年、ヒト口腔扁平上皮癌組織や細胞株において、LXR α が過剰発現していること、LXR アゴニストがコレステロールの排出に関わる ABCA1 (ATP-binding cassette transporter A1) の発現誘導を介して細胞増殖を著しく抑制することを報告した。

小細胞肺癌や浸潤性膵管癌は死亡率の高い難治性癌として知られ、より効果的な治療法や治療薬の開発が望まれている。そのような中で、浸潤性膵管癌ではコレステロールの取り込みに関わる受容体 LDLR が発現誘導されている等の報告がなされ、小細胞肺癌や浸潤性膵管癌においてもがん代謝を標的とした治療法が有望視されるようになった。このような背景から、我々は『LXR とその代謝関連標的分子に着目し、難治がんに対する新規分子標的薬を開発する』という着想に至り、その基盤となる本研究を行った。

2. 研究の目的

- (1) LXR を治療標的分子とする意義を明確にするため、まずはじめに小細胞肺癌、浸潤性膵管癌および正常肺、膵臓組織における LXR α 及び β の発現状態を明らかにする。
- (2) 小細胞肺癌および浸潤性膵管癌培養細胞株に対する LXR 標的薬の効果、さらにはその作用機序を明らかにする。

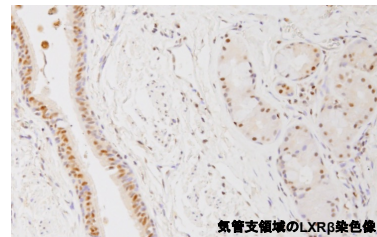
3. 研究の方法

- (1) ヒト小細胞肺癌、浸潤性膵管癌、正常肺および膵臓組織検体に対し、LXR α 及び β 抗体を用いた免疫組織化学染色を行い、各構成細胞における LXR α 及び β の発現状態を観察した。
- (2) ヒト小細胞肺癌および浸潤性膵管癌組織における、腫瘍集塊内の全細胞数と LXR β 陽性細胞数を計測し、LXR β 陽性細胞率を算出した。
- (3) ヒト小細胞肺癌および浸潤性膵管癌細胞株を LXR 標的薬 (LXR インバーサアゴニスト, SR9243) 存在下で培養し、細胞生存率への影響を MTT 法にて検討した。

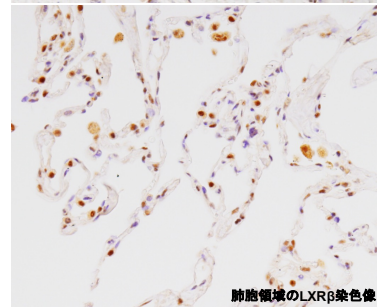
4. 研究成果

- (1) 正常肺組織の免疫組織化学染色の結果、気管支領域では LXR β の発現は線毛上皮

細胞と気管支腺上皮細胞の核に認められ、少なくとも一部の基底細胞において軽度から中等度の陽性像が観察された。また、一部の気管支平滑筋細胞や血管内皮細胞に微弱な LXR β 陽性像が確認された。次に、肺泡領域では、LXR β は肺泡マクロファージと II 型肺泡上皮細胞の核に強く発現しており、少なくとも一部の I 型肺泡上皮細胞にも軽度から中等度の陽性像が確認された。一方、LXR α は気管支領域、肺泡領域どちらにおいてもマクロファージにおいて陽性像がみられるのみで、上皮細胞においては特異的とみられる核への陽性像が観察されなかった。

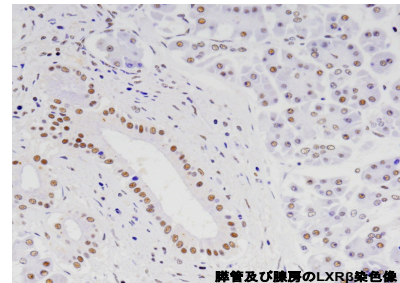


気管支領域のLXRβ染色像

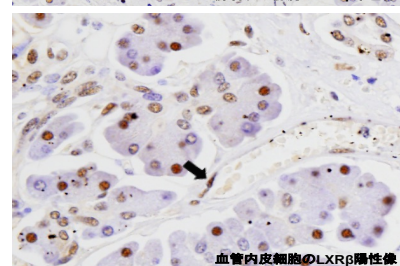


肺泡領域のLXRβ染色像

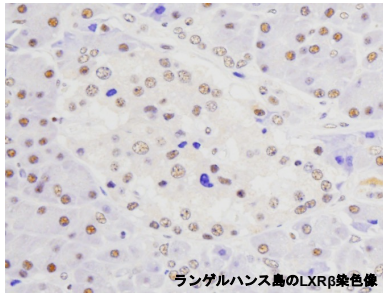
- (2) 正常膵臓組織における免疫組織化学染色の結果、多くの膵管および腺房上皮細胞の核に LXR β の発現が確認された。また、一部の血管内皮細胞や線維芽細胞の核に微弱な LXR β シグナルが観察された。さらにランゲルハンス島の分泌細胞の核には弱い LXR β シグナルが見られた。一方、LXR α の特異的と思われる核陽性像はいずれの上皮細胞においても観察されなかった。



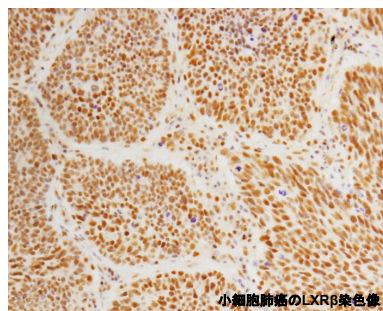
膵管及び膵房のLXRβ染色像



血管内皮細胞のLXRβ陽性像



- (3) 小細胞肺癌組織における免疫組織化学染色の結果、全例において LXRβ の高い陽性率と核への強陽性像を示した。また、LXRβ の陽性率を算出したところ、72.7-95.7% (85.1±7.3%) という値を示した。一方、LXRα は特異的と考えられる核の陽性像は見られなかった。

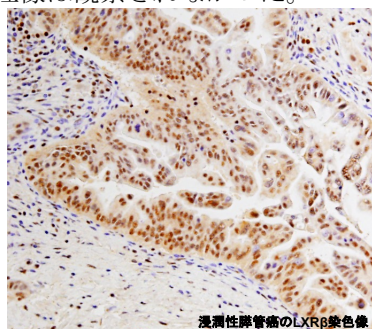


小細胞肺癌検体におけるLXRβ陽性率

Case	LXRβ positive (%)	Age	Sex	Location	TNM stage
1	92.2	62	M	RM	T2aN0M0
2	81.8	67	M	RU	T1bN0M0
3	78.7	72	M	RL	T1aN0M0
4	79.4	66	M	RL	T1bN0M0
5	90.8	78	M	N/A	N/A
6	83.1	69	F	RL	T1bN0M0
7	72.7	68	M	RU	N/A
8	91.8	69	M	LU	T1bN0M0
9	95.7	73	M	RL	T1bN0M0
mean ± SD	85.1 ± 7.3	69.3 ± 4.3			

RM, right middle lobe; RU, right upper lobe; RL, right lower lobe; LU, left upper lobe; N/A, not available

- (4) 浸潤性膵管癌組織における免疫組織化学染色の結果、小細胞肺癌と同様に全例において LXRβ の高い陽性率と核への強陽性像を示した。また、LXRβ の陽性率は 66.8-98.5% (88.6±7.6%) であった。一方、LXRα の特異的と考えられる核の陽性像は観察されなかった。



浸潤性膵管癌検体におけるLXRβ陽性率

Case	LXRβ positive (%)	Age	Sex	Location	TNM stage	Tumor size
1	95.6	49	F	Ph	T2N1M0	TS2
2	95.4	62	F	Ph	T3N1M0	TS2
3	85.2	47	F	Ph	T2N0M0	TS2
4	78.8	64	M	Ph	T3N1M0	N/A
5	94.9	49	F	Ph	T3N1M0	TS3
6	66.8	61	M	Ph	T2N0M0	TS1
7	89.7	76	F	Pb	T2N1M0	TS3
8	84.9	78	F	Ph	N/A	TS2
9	95.6	73	M	Ph	T2N0M0	N/A
10	95.4	68	M	Pb	T2N3M0	TS1
11	87.5	65	M	Ph	T2N0M0	TS2
12	81.6	71	F	Ph	T2N0M0	TS2
13	87.0	56	M	Ph	T3N2M0	TS2
14	91.7	71	M	Ph	T2N0M0	TS2
15	90.0	75	M	Pt	T3N0M0	TS2
16	80.4	74	M	Pb	N/A	TS4
17	98.5	65	F	Pt	T3N0M0	TS2
18	95.1	60	F	Ph	T2N0M0	TS2
19	84.6	73	M	Ph	T3N1M0	TS2
20	94.2	79	M	Ph	T3N2M0	TS3
mean ± SD	88.6 ± 7.6	66.1 ± 10.4				

Pbt, pancreatic body and tail; Ph, pancreatic head; Pb, pancreatic body; Pt, pancreatic tail; N/A, not available

Tumor size : TS1, TS1≤20 mm; TS2, 20 mm<TS2≤40 mm; TS3, 40 mm<TS3≤60 mm; TS4, TS4≥60 mm

- (5) 小細胞肺癌および浸潤性膵管癌における LXRβ の発現が明らかとなったため、次に小細胞肺癌および浸潤性膵管癌細胞株の細胞生存率に対する LXR インバーサゴニスト (SR9243) の影響を検討した。その結果、これまでに他の癌種に対して効果が報告されている濃度においては有意な影響が見られなかった。

- (6) (1)~(4)の結果は、今後の小細胞肺癌や浸潤性膵管癌における LXR を標的とした治療法の開発に役立つ研究成果であると考えられる。(5)では小細胞肺癌および浸潤性膵管癌に対する LXR インバーサゴニスト (SR9243) の有効性が示されなかったことは今後の課題であるが、LXR 標的薬の種類や調整法、使用する細胞株の選択等についての再検討により課題は解決可能と考えている。

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1件)

- ① Kashiwagi K, Yanagida M, Matsui D, Tanaka M, Sugimoto K, Chen H, Ichikawa-Tomikawa N, Marubashi S, Suzuki H, Chiba H. Expression of liver X receptors in normal and refractory carcinoma tissues of the human lung and pancreas. *Histol Histopathol.* 2018 May;33(5):497-505. 査読あり. DOI: 10.14670/HH-11-949.

〔学会発表〕（計 1 件）

- ① 柳田 真衣, 柏木 維人, Honglei Chen, 富川 直樹, 田中 瑞子, 千葉 英樹. 難治性がんにおける Liver X 受容体の発現. 第 105 回 日本病理学会総会. 2016.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柏木 維人 (Kashiwagi Korehito)

獨協医科大学・医学部・助教

研究者番号：50722451