

令和 2 年 7 月 4 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10673

研究課題名(和文) ゲノム構造解析による消化器癌の新規癌関連遺伝子の同定と臨床応用

研究課題名(英文) Overexpression of SMYD2 contributes to tumor development and poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma.

研究代表者

渡邊 信之 (Watanabe, Nobuyuki)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・特任助教

研究者番号：70746825

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：SMYD2 (SET and MYND domain-containing protein 2) は、メチルトランスフェラーゼとしてp53の機能を阻害する重要な分子である (Huang J et al. Nature. 2006)。申請者らは、1q増幅領域から新しい癌関連遺伝子としてSMYD2を同定した (Komatsu S et al. Carcinogenesis. 2009, Br J Cancer 2014)。今回、高頻度に1qに増幅領域をもつ肝癌でのSMYD2発現意義を明らかにする。さらにSMYD2特異的阻害剤 (AZ505, AstraZeneca, Lodon, UK) 開発・臨床応用を目指す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、食道癌のゲノム構造解析より1q増幅領域から同定した新規の癌関連遺伝子SMYD2を対象としており、同じ1qに高頻度に増幅領域を持つ肝癌においてSMYD2の診断・治療標的分子としての可能性を世界に先駆けて検証するものである。SMYD2を標的分子とした新たな治療戦略の構築を可能とする、斬新な研究であると考えられる。また、SMYD2特異的阻害剤 (AZ505, AstraZeneca, Lodon, UK) が開発されたのを受け、食道癌、胃癌、肝癌などの消化器癌におけるSMYD2を標的とした新たな治療分子としての開発・臨床応用として極めて意義がある。

研究成果の概要(英文)：Although previous studies have identified various amplifications and their targets in cancers, recent progress in the human and cancer genome project prompted us to identify additional targets. In this study, we tested whether SMYD2, located at previously reported 1q32-q41 amplicon, acts as a cancer-promoting gene in hepatocellular carcinoma (HCC). Overexpression of SMYD2 protein was frequently detected in primary HCCs. Patients with SMYD2-overexpressing tumors tended to have a worse overall survival than those with non-expressing tumors. Knockdown of SMYD2 inhibited invasion, migration and the growth of HCC cells. These findings suggest that SMYD2 might play an important role in tumor development, and highlight its usefulness as a prognosticator and potential therapeutic target in HCC.

研究分野：分子生物学

キーワード：肝癌 分子標的治療 増幅遺伝子 SMYD2 癌遺伝子

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

申請者らは、43種類の食道扁平上皮癌細胞株に対してアジレント244KオリゴアレイCGH解析を行い、既知の増幅領域の再評価により1q増幅領域から新しい癌関連遺伝子SMYD2を同定した(Komatsu S. et al. Carcinogenesis 2009)。また微細なホモ欠失から新しい癌抑制遺伝子候補PCDH17を同定した(Haruki S, Komatsu S et al. Carcinogenesis 2010)。特に、SMYD2遺伝子については、胃癌の細胞増殖・遊走・浸潤に関連し、過剰発現により極めて不良な予後に関連することも明らかにした(Br J Cancer 2014)。

SMYD2(SET and MYND domain-containing protein 2)は、染色体1q41に座位し、433アミノ酸からなる蛋白質をコードする。哺乳類のSMYD2は、ヒストンH3のLysin36をメチル化する作用を持つことが報告され(Brown MA et al. Mol Cancer 2006)、さらにヒストンH3のLysin4、p53のLysin370をメチル化することによってその機能を阻害することから、癌遺伝子として働く可能性も論じられてきた(Huang J et al. Nature. 2006)。また、最近では癌抑制遺伝子RbのLysin860、Lysin810をメチル化して阻害し(Saddic LA et al. J Biol Chem 2010, Cho HS et al. Neoplasia 2012)、PARP1のLysin528をメチル化して活性化して(Piao L et al. Neoplasia 2014)癌遺伝子的に働くことが報告されている。癌腫別では、食道癌(Komatsu S et al. Carcinogenesis 2009)、膀胱癌(Cho HS et al. Neoplasia 2012)、小児急性リンパ芽球性白血病(Sakamoto LH et al. Leuk Res 2014)、胃癌(Komatsu S. Br J Cancer 2014)でSMYD2が癌の悪性度や予後に関連することが明らかとなっており、様々な癌でp53やRbを制御する癌抑制遺伝子としての働きが明らかになりつつある。

今回、高頻度に1qに増幅領域をもつ肝癌でのSMYD2発現意義を明らかにする。さらに、SMYD2特異的阻害剤(AZ505, AstraZeneca, Lodon, UK)が開発されたのを受け、食道癌、胃癌、肝癌などの消化器癌におけるSMYD2を標的とした新たな治療分子としての開発・臨床応用を目指す。

2. 研究の目的

これまでの機能解析結果に基づき、詳細な分子機構の解明と他癌種を含めた予後予測分子、治療感受性予測分子、標的治療分子としての開発・臨床応用を目指す。

3. 研究の方法

今回の申請では、肝癌は高頻度に1q増幅領域を持つ。肝癌の増幅領域に座位するSMYD2遺伝子に対して発現意義を明らかにする。具体的に、肝癌の臨床検体を用いたSMYD2の発現解析、予後、悪性度の評価、肝癌の悪性度に関するSMYD2分子機構の解明(下流分子、標的分子の同定)、SMYD2特異的阻害剤AZ505の分子標的治療薬としての有用性の検討、SMYD2を制御するmicroRNA候補群の探索とSMYD2を標的とした核酸医薬の応用、肝癌血中遊離DNAのSMYD2コピー数定量による血液・体腔液診断、早期診断への応用、SMYD2、p53発現の同時測定による診断マーカーとしての応用、を研究計画として研究を進めた。

4. 研究成果

に関して、肝癌臨床検体を用いた蛋白発現解析による予後、悪性度に対する評価を行った。SMYD2遺伝子に関しては、高発現症例で予後不良の傾向をみとめた。の機能解析として、SMYD2遺伝子は、HepG2株の1q増幅領域に存在することを明らかにした。5種類の肝癌細胞株で、2株(40%)に繊維芽細胞株WI-38より過剰発現を認めた。高発現株HepG2株をSMYD2特異的siRNAによりノックダウンをしたところ72時間でコントロールに比し著しい細胞増殖抑制を認め

た。また、PARPを誘導した。また、FACS解析ではSMYD2ノックダウンにより、G1-Sアレストによる細胞周期停止を認めた。また、遊走、浸潤能の低下を認めた。 の SMYD2 特異的阻害剤 (AZ505, AstraZeneca, Lodon, UK)による細胞実験では、肝癌細胞株の増殖抑制を認めた。繊維芽細胞株などの正常間質細胞の増殖抑制を回避する濃度については、まだ十分に検討の余地があった。 に関しては、網羅的な解析を行っている段階である。 に関しては、血中での遊離DNAの予後・診断のバイオマーカーとしての意義を示すように試みたが、同じ食道癌、胃癌では示せたが、肝癌に関して解析不十分のため現在まで意義を示せていない。 に関しても解析中である。以上、1q増幅領域の遺伝子に関しては今後も解析に内外の学会、英文誌に報告の予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kiuchi J, Komatsu S et al.	4. 巻 8
2. 論文標題 Overexpression of YEATS4 contributes to malignant outcomes in gastric carcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Am J Cancer Res.	6. 最初と最後の頁 2436-2452
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Imamura T, Komatsu S et al.	4. 巻 8
2. 論文標題 Low plasma levels of miR-101 are associated with tumor progression in gastric	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 106538-106550
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18632/oncotarget.20860.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Imamura T, Komatsu S et al.	4. 巻 39
2. 論文標題 Overexpression of ZRF1 is related to tumor malignant potential and a poor outcome of gastric carcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Carcinogenesis	6. 最初と最後の頁 263-271
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/carcin/bgx139.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ohashi T, Komatsu S et al.	4. 巻 116
2. 論文標題 Overexpression of PBK/TOPK relates to tumour malignant potential and poor outcome	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Br J Cancer	6. 最初と最後の頁 218-226
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/bjc.2016.394.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Aratani K, Komatsu S et al.	4. 巻 8
2. 論文標題 Overexpression of CTEN relates to tumor malignant potential and poor outcomes of adenocarcinoma of the esophagogastric junction	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 84112-84122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.21109.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okajima W, Komatsu Set al.	4. 巻 21
2. 論文標題 Liquid biopsy in patients with hepatocellular carcinoma: Circulating tumor cells and cell-free nucleic acids	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 World J Gastroenterol	6. 最初と最後の頁 5650-5668
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3748/wjg.v23.i31.5650	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Imamura T, Komatsu S et al.	4. 巻 7
2. 論文標題 Depleted tumor suppressor miR-107 in plasma relates to tumor progression and is a novel therapeutic target in pancreatic cancer	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 5708
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-06137-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawaguchi T, Komatsu S et al.	4. 巻 39
2. 論文標題 Overexpression of TRIM44 is related to invasive potential and malignant outcomes in esophageal squamous cell carcinoma	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Tumour Biol	6. 最初と最後の頁 10104283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1010428317700409	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 木内 純, 小松 周平
2. 発表標題 胃癌における新規癌関連遺伝子YEATS4の癌化機構の解析
3. 学会等名 日本胃癌学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西別府 敬士, 小松 周平
2. 発表標題 胃癌における新規癌関連遺伝子TRIM37の発現意義の解明
3. 学会等名 日本癌学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小松 周平
2. 発表標題 血中分泌型癌抑制microRNAを用いたliquid biopsyによる新たな診断・核酸治療法の開発
3. 学会等名 日本癌学会総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	大辻 英吾 (Otsuji Eigo) (20244600)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・教授 (24303)	研究の評価および総括

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	小松 周平 (Komatsu Shuhei) (40578978)	京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・特任講師 (24303)	研究計画、実施、解析、評価
研究 協力者	岡島 航 (Okajima Wataru)		
研究 協力者	大橋 拓馬 (Ohashi Takuma)		
研究 協力者	今村 泰輔 (Imamura Taisuke)		
研究 協力者	木内 純 (Kiuchi Jun)		
研究 協力者	西別府 敬士 (Nishibeppu Keiji)		