

令和 6 年 9 月 24 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K08604

研究課題名（和文）神経幹細胞未分化性維持因子を標的とした肺小細胞癌治療法の開発

研究課題名（英文）Development of small cell lung cancer therapy targeting neural stem cell undifferentiation maintenance factors

研究代表者

喜多 加納子（KITA, KANAKO）

熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・助教

研究者番号：30457600

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：SMF1は先行研究により神経幹細胞において高い発現を示し、リン酸化が亢進していたが、同様に小細胞癌のヒト臨床病理検体を用いた免疫組織染色においてもSMF1の極めて高い発現とリン酸化の亢進が認められた。特にヒト臨床病理検体の数を増やして組織染色を実施したが、全ての臨床検体でSMF1の発現が認められた。本課題にて、SMF1が癌の悪性度に関わっていることを明らかにし、肺小細胞癌におけるSMF1の発現を抑制することで、腫瘍が縮小することを明らかにした。この発見で、アメリカ、日本、フランス、イギリス、ドイツ、スイスで特許を取得出来た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題にて、SMF1が癌の悪性度に関わっていることを明らかにし、肺小細胞癌におけるSMF1の発現を抑制することで、腫瘍が縮小することを明らかにした。この発見で、アメリカ、日本、フランス、イギリス、ドイツ、スイスで特許を取得出来た。SMF1を抑制することの出来る化合物を開発することで、これを腫瘍に投与すると、腫瘍を抑制することが出来るので、これまでになかった抗癌剤を世に出すことが出来るので、社会的意義も大きい。

研究成果の概要（英文）：Not only previous studies showed that SMF1 was highly expressed and phosphorylated in neural stem cells, but also, immunohistological staining of human clinical pathology specimens of small cell carcinoma showed that highly expression and phosphorylation of SMF1. In particular, tissue staining was performed on an increased number of human clinical pathology specimens, and SMF1 expression was observed in almost all clinical specimens. In this project, we revealed that SMF1 is involved in the malignancy of cancer, and that suppressing the expression of SMF1 in small cell lung cancer caused the tumor to shrink. This discovery allowed us to obtain patents in the United States, Japan, France, England, Germany, and Switzerland.

研究分野：分子生物学

キーワード：抗癌剤 高悪性度癌 中分子IT創薬 モダリティ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

肺癌の中でも悪性度の高い肺小細胞癌は、進行が極めて早く、脳や骨髄、リンパ節などに転移しやすい神経分化を示す癌であり、放射線治療や化学療法が比較的奏功しやすい癌ではあるが、その臨床的な予後は悪いことで知られ、根治が難しく、その悪性度の高さについての生物学的特徴の解明は十分になされてこなかった。また、肺小細胞癌の分子シグナル伝達系については、これまで肺小細胞癌が神経の分化制御機構とかなり同様なシステムを有しており、特に神経分化に働く Notch シグナル経路や bHLH のネットワークが重要であることが知られていたが、そのような中、申請者が、高精度プロテオミクス解析によりスクリーニングした神経幹細胞の未分化性維持を司る新規核内リン酸化因子「SMF1」が肺小細胞癌において高い発現とリン酸化の亢進が認められた。なぜ SMF1 が肺小細胞癌に高発現し、リン酸化が亢進するのか、その機能メカニズムを明らかにするとともに、本課題では、肺小細胞癌の生物学的な特徴に着目し、その性質を生かした抗癌剤を開発することを目的としている。

### 2. 研究の目的

申請者はこれまでマウス胎仔脳発生の研究で神経幹細胞の未分化性維持を司る新規核内リン酸化因子「SMF1」を発見し、この分子が肺小細胞癌を含む癌の悪性度・未熟性を司っていることを見出した。本研究は神経幹細胞未分化性維持因子 SMF1 の発現やリン酸化、及びその周辺分子基盤をコントロールすることにより、肺小細胞癌など悪性度の高い癌に存在する幹細胞性維持機構・神経分化機構を破綻させ、結果として、癌の増殖・転移を抑制する癌治療薬剤ならびに癌治療方法を開発することを目的としている。

### 3. 研究の方法

申請者はこれまでマウス胎仔脳発生の研究で神経幹細胞の未分化性維持を司る新規核内リ

ン酸化因子「SMF1」を発見し、この分子が肺小細胞癌を含む癌の悪性度・未熟性を司っていることを見出した。ついては、SMF1 の発現やリン酸化、及びその周辺分子基盤を破綻させることで癌の増殖・転移を抑制することが出来る可能性があると考えた。

本研究課題 では、この原理を応用して癌治療の分子標的治療薬候補を探索・評価した。

・プロテオミクス解析:ショットガンプロテオミクスにより網羅的に同定された SMF1 結合蛋白質の情報を計算科学により *in silico* 解析し、SMF1 と結合して重要な機能を果たしている可能性の高い分子を絞り込んだ。

・臨床検体を用いた組織染色法:ヒト臨床病理組織検体を用いた肺癌の免疫組織染色を行った結果、SMF1 は腺癌・扁平上皮癌と比べ、小細胞癌において高い発現が認められた。また、SMF1 は先行研究により神経幹細胞において高い発現を示し、リン酸化が亢進していたが、同様に小細胞癌のヒト臨床病理検体を用いた免疫組織染色においても SMF1 の極めて高いリン酸化の亢進が認められた。

特にヒト臨床病理検体の数を増やして組織染色を実施したが、ほぼ全ての臨床組織検体で SMF1 の発現が認められた。

加えて、SMF1 の結合蛋白質について肺小細胞癌の臨床病理検体で組織染色を行った結果、それぞれの分子は肺小細胞癌において発現が認められた。

・抗 SMF1 抗体を用いたウェスタンブロット解析:抗 SMF1 抗体を用いたウェスタンブロット実験結果でも、H69 株、H69AR 株、などをはじめとする肺小細胞癌の複数の培養株において、SMF1 の高い発現 が認められた。

#### 4 . 研究成果

神経幹細胞未分化性維持因子「SMF1」の発現やリン酸化、及びその周辺分子基盤をコントロールすることにより、肺小細胞癌など悪性度の高い癌に存在する幹細胞性維持機構・神経分化機構を破綻させ、結果として、癌の増殖・転移を抑制する癌治療薬剤ならびに癌治療方法を開発することを目的としているが、この破綻 機構のメカニズムの一旦が明らかになりつつあるうえ、本課題の内容で発明があり、日本国、フランス、イギリス、ドイツ、スイスにて特許登録をすることが出来、米国の特許も成立させることが出来た。 ショットガンプロテオミクス解析により同定された SMF1 結合蛋白質の情報を計算科学により *in*

silico 解析し、SMF1 と結合して重要な機能を果たしている可能性 の高い分子を絞り込んだ。さらに、ヒト臨床病理検体を用いた肺癌の組織染色を行った結果、SMF1 は腺癌・扁平上皮癌と比べ、小細胞癌において高い発現が認められた。また、SMF1 は先行研究により神経幹細胞において高い発現を示しリン酸化が亢進していたが、同様に小細胞癌のヒト臨床病理検体を用いた免疫組織染色においても SMF1 の極めて高いリン酸化の亢進 が認められた。特にヒト臨床病理検体の数を増やして組織染色を実施したが、全ての臨床検体で SMF1 の発現が認められた。加えて、SMF1 の結合蛋白質について肺小細胞癌の臨床病理検体で組織染色を行った結果、発現が認められた。ウェスタンブロット実験結果でも、肺小細胞癌の複数の培養株において、SMF1 の高い発現が認められた

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Mizuhashi Satoru, Fukushima Satoshi, Ishibashi Takayuki, Kuriyama Haruka, Kimura Toshihiro, Kanemaru Hisashi, Kajihara Ikko, Makino Katsunari, Miyashita Azusa, Aoi Jun, Kita Kanako, Ihn Hironobu	4. 巻 S0923
2. 論文標題 Nucleosome assembly protein 1-like 4, a new therapeutic target for proliferation and invasion of melanoma cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 1811(21)00013
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2021.02.001	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 Haruka Kuriyama, Satoshi Fukushima, Toshihiro Kimura, Etsuko Okada, Takayuki Ishibashi, Satoru Mizuhashi, Hisashi Kanemaru, Ikko Kajihara, Katsunari Makino, Azusa Miyashita, Jun Aoi, Seiji Okada, Hironobu Ihn, Kanako Kita	4. 巻 S0923
2. 論文標題 Matrin-3 plays an important role in cell cycle and apoptosis for survival in malignant melanoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of dermatological science	6. 最初と最後の頁 30269
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2020.08.013.	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 Ishibashi Takayuki, Kajihara Ikko, Mizuhashi Satoru, Kuriyama Haruka, Kimura Toshihiro, Kanemaru Hisashi, Makino Katsunari, Miyashita Azusa, Aoi Jun, Makino Takamitsu, Fukushima Satoshi, Kita Kanako, Ihn Hironobu	4. 巻 14
2. 論文標題 Methyl-CpG binding domain protein 3: a new diagnostic marker and potential therapeutic target of melanoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BioScience Trends	6. 最初と最後の頁 390 - 395
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5582/bst.2020.01048	査読の有無 無
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0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------