

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09052

研究課題名(和文) 甲状腺未分化癌におけるエピジェネティクスをターゲットとした治療戦略

研究課題名(英文) Therapeutic strategy targeting epigenetics in anaplastic thyroid carcinoma

研究代表者

中山 博貴 (NAKAYAMA, Hirotaka)

横浜市立大学・医学研究科・客員講師

研究者番号：60438158

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)：甲状腺未分化癌は有効な治療が少なく予後不良な疾患である。未分化癌は他の甲状腺癌と比較してEZH2が高発現していることがわかっており、EZH2を標的とした治療の有用性を検討した。4つの未分化癌細胞株に対してEZH2阻害薬を使用した結果、全ての細胞株で抑制効果を認めた。効果が低かった細胞株ではTP53遺伝子変異を認めていた。以上より、EZH2阻害薬は甲状腺未分化癌に対して抑制効果を発揮し、治療戦略としての可能性を秘めているが、TP53変異のある未分化癌ではその効果が減弱する可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

有効な治療法が少なく予後不良な甲状腺未分化癌において新しい治療戦略が求められている。われわれは他の甲状腺癌と比較して未分化癌ではEZH2が高発現となっていることを報告しており、本研究で甲状腺未分化癌細胞株を使用してEZH2阻害薬の細胞抑制効果を確認できたことは、EZH2阻害薬が甲状腺未分化癌の新しい治療戦略になり得る事を示している。

研究成果の概要(英文)：The prognosis of anaplastic thyroid carcinoma(ATC) is poor, and there is currently no established treatment to improve its outcome. We previously reported that EZH2 was highly expressed in ATC, and may be a therapeutic target; however, the effects of EZH2 on ATC growth currently remain unknown. We investigated the effects of an EZH2 inhibitor on four ATC cell lines. The cell-reducing effects of EZH2 inhibitor were detected in all ATC cell lines. The cell lines, which showed weak cell-reducing effects, had TP53 mutations. EZH2 inhibitor exerted suppressive effects on the growth of ATC cell lines and has potential as a therapeutic strategy; however, its effects may be attenuated in ATC with TP53 mutations.

研究分野：腫瘍学

キーワード：甲状腺未分化癌 エピジェネティクス EZH2 DZNep p53遺伝子変異 甲状腺分化マーカー

1. 研究開始当初の背景

(1) 甲状腺癌は内分泌臓器の癌としては最も多く、濾胞細胞から発生する甲状腺癌は病理組織学的に分化癌(乳頭癌、濾胞癌)、低分化癌、未分化癌に分類される。甲状腺分化癌は予後良好な癌として知られている一方で、甲状腺未分化癌は有効な治療が少なく、1年生存率18-20%と非常に予後不良な癌である。近年、分子標的治療薬の登場により治療効果の改善が期待されたが、予後に対する効果は不十分であり、さらなる治療戦略が必須である。

(2) EZH2 は H3K27 をメチル化するヒストン修飾蛋白であり、転写調節に重要なポリコム遺伝子群の一つである。腫瘍抑制因子の転写抑制により癌の発生・増殖を促進すると考えられており、様々な癌で高発現している。我々はこれまでに、甲状腺未分化癌では分化癌と異なり、EZH2 が高発現になっていることを病理解析から明らかにしたが、甲状腺未分化癌における EZH2 の役割についてはまだ不明であった。

2. 研究の目的

甲状腺未分化癌は分化癌が脱分化(未分化転化)することにより発生すると考えられているが、その分子メカニズムは未だ解明されていない。甲状腺未分化癌を理解するためには、ジェネティックな遺伝子変異だけでは不十分であり、エピジェネティックな遺伝子異常の関与が示唆される。本研究では、EZH2 が甲状腺癌細胞の脱分化において重要な役割を担っていることを実験的に証明し、EZH2 の発現や活性制御による甲状腺未分化癌の新たな治療戦略を構築することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 甲状腺未分化癌細胞株として、8305C、KTA1、TTA1、TTA2 を使用し、ウェスタンブロッティングにより EZH2 発現を確認した。

(2) 上記甲状腺未分化癌細胞株に EZH2 阻害剤である DZNep を処理し、細胞抑制効果を評価した。

(3) 未分化癌細胞株に対する DZNep の分化度への影響を検討するため、甲状腺分化マーカーとして報告されている NIS、TSHR、TG、Pax8、DUOX1、DI02 のリアルタイム PCR の系を確立し、DZNep 処理前後の分化マーカーの発現量を検討した。

(4) DZNep の感受性の違いが細胞株の遺伝的背景により生じている可能性を考慮し、上記細胞株からゲノムを抽出、遺伝子パネル解析を行い、遺伝的背景の違いを検討した。

4. 研究成果

(1) ウェスタンブロッティングにより甲状腺未分化癌細胞株全てで EZH2 が発現していることを確認した。

(2) 甲状腺未分化癌細胞株に対する DZNep の効果を図 1 に示す。全細胞株で細胞抑制効果を認めており、阻害効果は KTA1 で最も強く、次いで TTA2 であり、TTA1 および 8305C で効果が乏しかった。

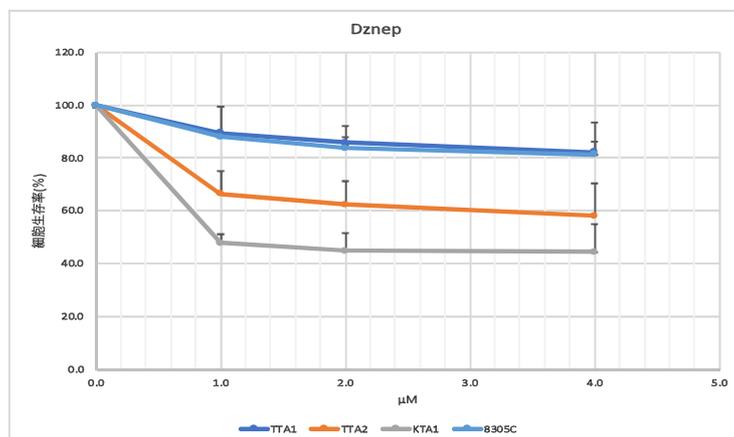


図 1 DZNep 薬剤感受性テスト ; DZNep 処理後 6 日目の細胞生存率。

(3) DZNep 処理前後の未分化癌細胞株の分化マーカーの状況を PCR で評価した。未分化癌細胞株では処理の前後ともに分化マーカーの発現は認めず、EZH2 阻害剤の未分化癌に対する効果として、分化度に影響を与えることの証明はできなかった。

(4) 未分化癌細胞株の遺伝子変異を図 2 に示す。DZNep の効果が高かった KTA1 および TTA2 では TP53 に変異を認めず、効果の低かった TTA1 および 8305C では TP53 変異を認めた。

	Braf	CDH1	CDKN2A	NRas	STK11	TP53
TTA1		●				●
TTA2				●	●	
KTA1	●					
8305C	●		●			●

図 2 遺伝子パネル解析。 遺伝子変異有り。

以上から、EZH2 阻害剤である DZNep により甲状腺未分化癌細胞株に対する細胞抑制効果が証明され、新たな治療戦略となり得るが、TP53 変異を認める場合にはその効果が減弱する可能性が示唆された。

< 引用文献 >

Kondo T, Ezzat S and Asa SL: Pathogenetic mechanisms in thyroid follicular-cell neoplasia. *Nat Rev Cancer* 6(4): 292-306, 2006. PMID, DOI: 10.1038/nrc1836

Sugitani I, Miyauchi A, Sugino K, Okamoto T, Yoshida A and Suzuki S: Prognostic factors and treatment outcomes for anaplastic thyroid carcinoma: Atc research consortium of japan cohort study of 677 patients. *World J Surg* 36(6): 1247-1254, 2012. PMID, DOI: 10.1007/s00268-012-1437-z

Kebebew E, Greenspan FS, Clark OH, Woeber KA and McMillan A: Anaplastic thyroid carcinoma. Treatment outcome and prognostic factors. *Cancer* 103(7): 1330-1335, 2005. PMID, DOI: 10.1002/cncr.20936

Takahashi S, Tahara M, Ito K, Tori M, Kiyota N, Yoshida K, Sakata Y and Yoshida A: Safety and effectiveness of lenvatinib in 594 patients with unresectable thyroid cancer in an all-case post-marketing observational study in japan. *Adv Ther* 37(9): 3850-3862, 2020. PMID: PMC7444395, DOI: 10.1007/s12325-020-01433-8

Jiang T, Wang Y, Zhou F, Gao G, Ren S and Zhou C: Prognostic value of high ezh2 expression in patients with different types of cancer: A systematic review with meta-analysis. *Oncotarget* 7(4): 4584-4597, 2016. PMID: PMC4826228, DOI: 10.18632/oncotarget.6612

Masudo K, Sukanuma N, Nakayama H, Oshima T, Rino Y, Iwasaki H, Matsuzu K, Sugino K, Ito K, Kondo T, Nakamura Y, Yoshihara M, Masuda M and Miyagi Y: Ezh2 overexpression as a useful prognostic marker for aggressive behaviour in thyroid cancer. *In Vivo* 32(1): 25-31, 2018. PMID: PMC5892628, DOI: 10.21873/invivo.11200

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 NAKAYAMA HIROTAKE, SAITO NAO, KASAJIMA RIKI, SUGANUMA NOBUYASU, RINO YASUSHI, MASUDO KATSUHIKO, YAMAZAKI HARUHIKO, TODA SOJI, SEKIHARA KAZUMASA, IWASAKI HIROYUKI, HOSHINO DAISUKE	4. 巻 43
2. 論文標題 Validation of EZH2 Inhibitor Efficiency in Anaplastic Thyroid Carcinoma Cell Lines	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 1073 ~ 1077
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.16252	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中山博貴、星野大輔、菅沼伸康、戸田宗治、益戸功彦、宮城洋平、岩崎博幸、利野靖
2. 発表標題 甲状腺未分化癌細胞株に対するEZH2阻害薬の効果
3. 学会等名 第54回日本内分泌外科学会学術大会
4. 発表年 2021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	宮城 洋平 (MIYAGI YOHEI) (00254194)	地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立がんセンター（臨床研究所）・臨床研究所・所長 (82713)	
研究分担者	星野 大輔 (HOSHINO DAISUKE) (30571434)	地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立がんセンター（臨床研究所）・その他部局等・部長代理 (82713)	

6. 研究組織（つづき）

	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	菅沼 伸康 (SUGANUMA NOBUYASU) (40724927)	横浜市立大学・医学部・講師 (22701)	
研究分担者	吉田 達也 (YOSHIDA TATSUYA) (70748350)	横浜市立大学・医学部・助教 (22701)	

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