

令和 4 年 5 月 24 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09211

研究課題名(和文) 食道扁平上皮癌幹細胞を標的とした新規エピジェネティック治療戦略の開発

研究課題名(英文) Development of novel therapeutic strategies targeting esophageal tumor-initiating cells

研究代表者

村上 健太郎 (MURAKAMI, KENTARO)

千葉大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：40436382

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：最初にaldehyde dehydrogenase 1(ALDH1)陽性食道扁平上皮癌細胞の幹細胞特性を解析したところ、SOX2およびNanogのupregulationを示し、ALDH1陽性細胞は陰性細胞よりもはるかに強力な幹細胞特性を示した。我々はまた、ALDH1陽性細胞が化学療法および放射線療法に耐性があり、ALDH1の阻害が治療抵抗性の改善につながることを示すことができた。このため断酒薬でALDH阻害作用があるdisulfiramに着目したところ、copper(II) D-gluconateとの複合体はALDH1陽性細胞の放射線抵抗性を改善し、潜在的な治療オプションと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年ドラッグリポジショニングの概念が広がっている。本研究では将来の臨床応用を視野に入れ、断酒薬でALDH阻害作用があるdisulfiramに焦点を当てた。disulfiramは、Antabuseの商品名で販売されており、1951年に米国食品医薬品局によってアルコール使用障害の治療薬として承認された最初の医薬品である。disulfiramは抗がん剤として注目されており、いくつかの臨床試験が実施されているが、食道扁平上皮癌に関してはその有用性は十分に検証されていない。本研究では、disulfiramによるALDH1阻害が放射線抵抗性を改善することが示され、臨床応用への基盤となる結果が得られた。

研究成果の概要(英文)：Methods: First, we validated aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) as a TIC marker and investigated its ability to mediate resistance in human ESCC cell lines. Then, we focused on disulfiram (DSF), an aldehyde dehydrogenase inhibitor, used to treat alcohol use disorder. We investigated the effect of DSF and copper (II) D-gluconate (Cu) on the radiosensitivity of ESCC in xenograft mouse models. Results: ALDH1-positive cells showed an upregulation of SOX2 and Nanog, exhibiting much stronger tumor-initiating properties than ALDH1-negative cells. Furthermore, inhibition of ALDH1 attenuated the tumor-initiating properties of ESCC cell lines. Our results also showed that ALDH1-positive cells were resistant to chemotherapy and radiotherapy, and the inhibition of ALDH1 led to the mitigation of therapeutic resistance. Our in vitro and in vivo studies revealed that the DSF/Cu complex could radiosensitize ALDH1-positive ESCC cells and downregulate the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway.

研究分野：消化器外科

キーワード：食道癌

1. 研究開始当初の背景

食道扁平上皮癌は、予後不良な悪性度が高い癌種の1つであり、依然として5年相対生存率は37.2%と予後不良なままである(地域がん登録によるがん生存率データ)。これは、現在の標準化学療法である5FU-cisplatin療法の奏効率が35.9%と満足できるものではないことに起因しており、この状況を改善する何らかの新規治療戦略が必要とされている。

様々な固形癌に、腫瘍構成細胞を供給し続ける癌幹細胞の存在が認識されつつある。癌幹細胞は様々な抗癌剤や放射線療法に対して耐性であることが示され、癌再発の原因細胞であると報告されており(Greten FR. Nature 2017)、癌治療の重要な標的となる。

近年、癌幹細胞におけるエピジェネティック制御機構が急速に明らかにされつつあり、自己複製・分化制御にはヒストンH3K27のトリメチル化修飾が関与していることが報告された(Kondo et al. J Biochem. 2014)。ポリコーム複合体(PRC)1および2という巨大なタンパク複合体が形成され、PRC2の構成分子でありヒストンメチル化酵素であるEZH2により、ヒストンH3K27がトリメチル化され、遺伝子発現抑制状態が維持される。さらにヒストン脱アセチル化酵素がPRC2の構成分子であるEEDと結合して遺伝子発現抑制に働く。癌幹細胞においては、このような遺伝子発現抑制が癌幹細胞性の維持に重要な機能を有することが示されており、ヒストン脱アセチル化酵素やヒストンメチル化酵素であるEZH2が癌幹細胞治療の有用な標的となりうる可能性がある。これらを標的としたエピジェネティック治療薬は、従来のDNA障害型の抗癌剤と異なる作用機序を有し、癌幹細胞に対する抗腫瘍効果を期待できる。これまで他の固形癌の幹細胞に関する報告は散見されるが(Yu T et al. Oncotarget 2017)、現在までに食道扁平上皮癌幹細胞を標的としてエピジェネティック治療薬の有効性を検証した報告は極めて少ない。

エピジェネティック治療薬は食道扁平上皮癌幹細胞にどのような変化をもたらすのか。本研究によって食道扁平上皮癌幹細胞に対するエピジェネティック治療戦略が開発されれば、頭打ちとなっている食道癌治療に新しい展開をもたらすものと期待される。

2. 研究の目的

本研究では食道扁平上皮癌幹細胞に着目し、エピジェネティクスという新しい側面から治療戦略を開発するための研究基盤を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

これまでに申請者らは、食道扁平上皮癌においてはALDH1が基礎的および臨床的に妥当な癌幹細胞マーカーであることを示す研究結果を得ている。本研究計画では以下の研究項目を予定している。

A: ALDH1陽性細胞の癌幹細胞としての妥当性の確認

B: ALDH1陽性細胞のエピゲノム解析による食道扁平上皮癌幹細胞固有のエピジェネティック機構の解明

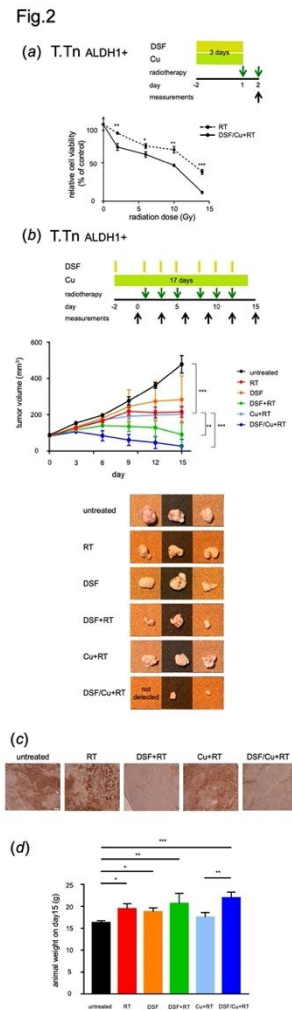
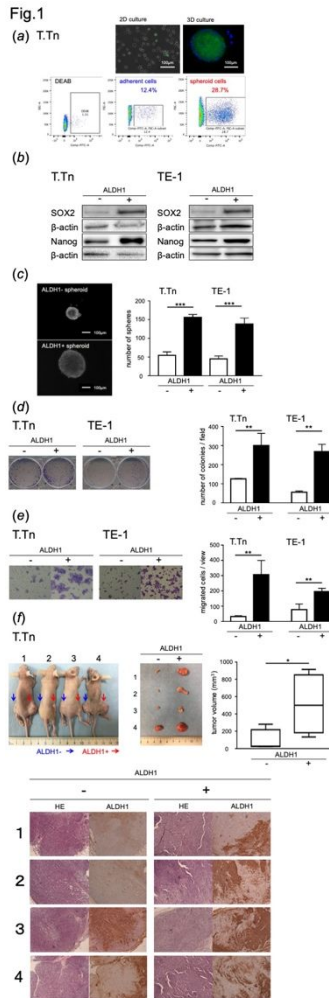
C: ALDH1陽性細胞におけるエピジェネティック治療薬による上記機構の変化の解明

4. 研究成果

まず本研究では、A; aldehyde dehydrogenase 1(ALDH1)陽性食道扁平上皮癌細胞の癌幹細胞としての妥当性を確認した。最初に、flow cytometry, western blotting, functional analysesを用いて幹細胞特性を解析したところ、SOX2およびNanogのupregulationを示し、ALDH1陽性細

胞は陰性細胞よりもはるかに強力な癌幹細胞特性を示した (Figure1)。

さらに、siRNAによるALDH1の阻害は、食道扁平上皮癌細胞株の癌幹細胞特性を弱めた。我々はまた、ALDH1陽性細胞が化学療法および放射線療法に耐性があり、ALDH1の阻害が治療抵抗性の改善につながることを示すことができた。このため断酒薬でALDH阻害作用がある disulfiram に着目したところ、copper (II) D-gluconate との複合体がALDH1陽性細胞の放射線抵抗性を改善することが、in vivo, in vitro モデルで示された (Figure2)。disulfiram を使用した drug repositioning approach は、局所進行食道扁平上皮癌患者の放射線抵抗性を克服するための潜在的な治療オプションと考えられた。



これらの結果からALDH1を阻害することで治療抵抗性の改善が得られると考えられたため、現在、B: ALDH1陽性細胞のエピゲノム解析による食道扁平上皮癌幹細胞固有のエピジェネティック機構を解明する段階に進んでおり、合わせてC: ALDH1陽性細胞におけるエピジェネティック治療薬による上記機構の変化を解明していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 村上健太郎 李騫 坂田治人 加野将之 豊住武司 岡田晃一郎 白石匡 鎌田敏希 龍崎貴寛 松原久裕
2. 発表標題 食道扁平上皮癌におけるtumor-initiating cellを標的とした治療抵抗性克服の試み
3. 学会等名 癌病態治療研究会
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------