

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09286

研究課題名(和文) 腫瘍幹細胞マーカーDCLK1を標的とした、悪性胸膜中皮腫に対する新規治療戦略

研究課題名(英文) Novel treatment strategy for malignant pleural mesothelioma targeting the tumor stem cell marker DCLK1

研究代表者

三好 新一郎 (Miyoshi, Shinichiro)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・特命教授

研究者番号：00190827

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)：腫瘍幹細胞マーカーであるDCLK1は2種類のアイソフォームを有するタンパクであり、悪性胸膜中皮腫細胞株におけるDCLK1アイソフォームの発現パターンは細胞株によって異なっている。一方で正常中皮細胞株ではDCLK1の発現を認めなかった。そこで、悪性胸膜中皮腫細胞においてDCLK1を阻害することが及ぼす影響をアイソフォーム選択的に検討した。アイソフォーム選択的にsiRNAをデザインしDCLK1を阻害すると、アイソフォームを選択的に阻害したよりもアイソフォームを同時に阻害することで細胞増殖抑制効果が認められることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

悪性硬膜中皮腫は極めて予後不良な疾患である。既存の治療法は満足できるものではないため、新規治療法の開発が期待されている。腫瘍幹細胞マーカーであるDCLK1は悪性硬膜中皮腫細胞ではアイソフォームの発現パターンは異なるものの発現が認められる一方、正常中皮細胞株ではDCLK1の発現を認めなかったため、腫瘍選択的な治療を確立できる可能性がある。悪性胸膜中皮腫は今後も患者が増えることが予想されているため、新規治療法の開発に繋がる知見は社会的にも意義があると思われる。

研究成果の概要(英文)：Tumor stem cell marker DCLK1 is a protein that has two isoforms. The expression pattern of the isoforms in DCLK1 was different among malignant pleural mesothelioma cell lines. Meanwhile, normal mesothelial cell lines had no expression of DCLK1. Thus, we evaluated the effect of the isoform-specific inhibition of DCLK1 in malignant mesothelioma cell lines. Simultaneous inhibition of the isoforms in DCLK1 showed the antiproliferative effect in malignant pleural mesothelioma compared to the isoform-specific inhibition.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：悪性胸膜中皮腫 DCLK1

1. 研究開始当初の背景

悪性胸膜中皮腫は胸膜の中皮細胞より発生する極めて予後不良な悪性腫瘍であり、診断からの生存期間中央値は12ヶ月程度である。アスベスト曝露と密接な関係があり、曝露から20-40年の潜伏期を経て発症するが、その病態の解明は遅れている。本邦では2006年にアスベストの製造・輸入・譲渡・提供・使用が禁

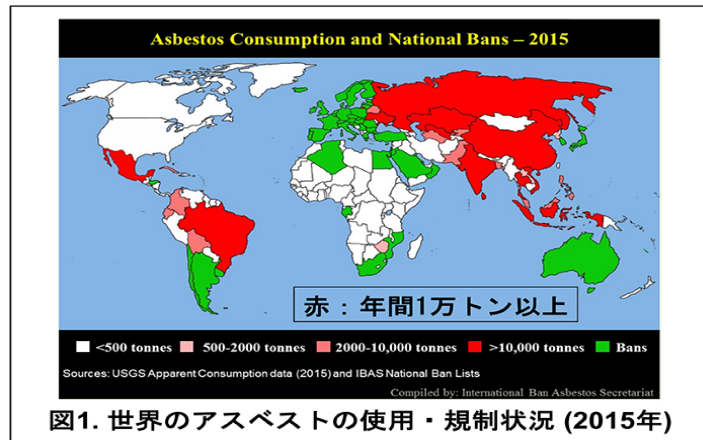


図1. 世界のアスベストの使用・規制状況 (2015年)

止されたが、アジアなどでの規制は未だ不十分であり (図1 International Ban Asbestos Secretariat, http://www.ibasecretariat.org/graphics_page_row2.php?n=4#mit1_start, より引用、2018年11月1日閲覧)、今後も大量の患者が発生すると予想されている。一方で、手術や化学療法などの既存の治療法による治療成績は満足できるものではなく、新規治療法の開発が待たれている。

悪性腫瘍には、正常組織の幹細胞と類似した自己再生能と子孫の腫瘍細胞を供給する能力を有する腫瘍幹細胞が存在すると考えられており、薬剤や放射線に対し治療抵抗性を示すことも知られている。治療に対し抵抗性を持つ腫瘍幹細胞が残存してしまうことが、悪性腫瘍が予後不良であることの要因である可能性が考えられている。Doublecortin-like kinase 1 (DCLK1) は、近年腸管腫瘍における腫瘍幹細胞マーカーであるとの報告がされている (Nakanishi et al. Nat Genet 2013)。この報告ではマウスの腸管腫瘍モデルでの実験により、DCLK1 発現細胞のみを選択的に排除すると、正常組織は障害を受けなかったが、腫瘍組織では DCLK1 は腫瘍幹細胞に発現して

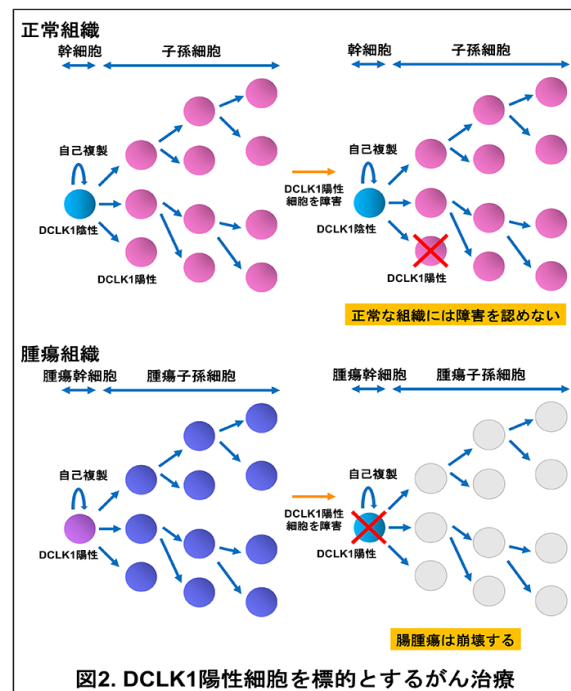
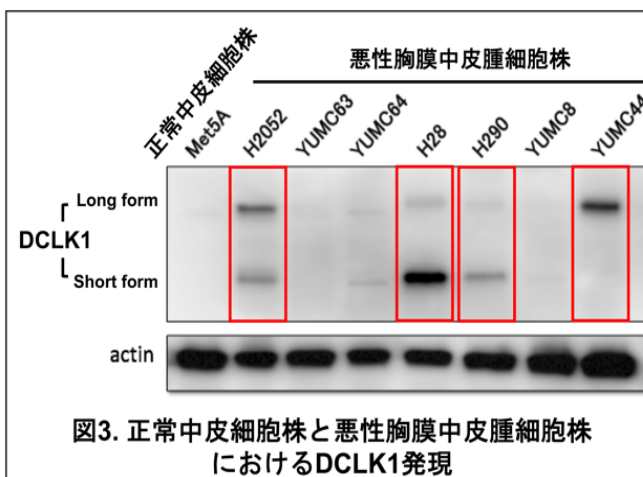


図2. DCLK1陽性細胞を標的とするがん治療

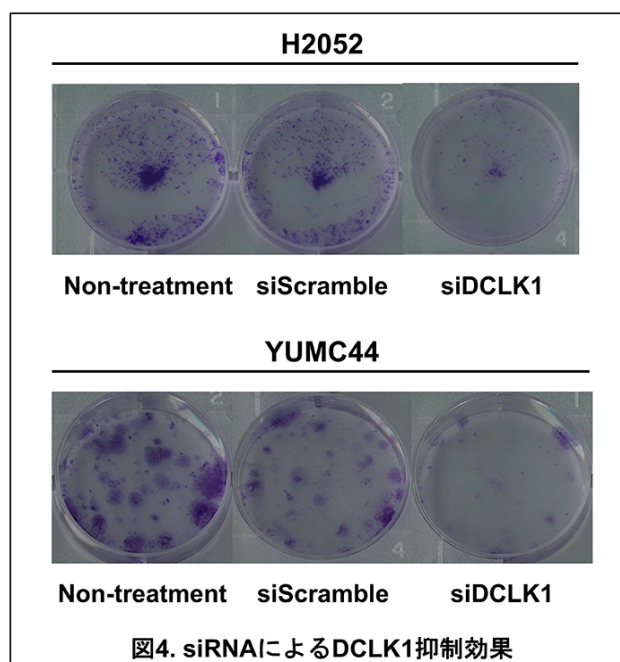
いるため、腫瘍幹細胞が障害を受けることにより腫瘍は経時的に縮小したと報告されており、DCLK1 を発現する腫瘍幹細胞を標的として、正常組織に対し影響を与えない腫瘍選択的な治療を確立できる可能性が示唆されている (図2 <http://first.lifesciencedb.jp/archives/6293>, を改変、2018年11月1日閲覧)。申請者らは正常中皮細胞株と複数の悪性胸膜中皮腫細胞株を用いて DCLK1 のタンパク発現を調べたところ、正常中皮細胞株では発現を認めなかったが、いくつかの悪性胸膜中皮腫細胞株では発現を認めた (図3)。この図に示すように、DCLK1 は2つのア

イソフォーム（short form, long form）を有しており、2つのアイソフォームの発現のパターンは悪性胸膜中皮腫細胞株により異なっていた。この中の一部の悪性胸膜中皮腫細胞株を用いて siRNA により DCLK1 の発現を阻害したところ、腫瘍増殖が抑制された（図4）。



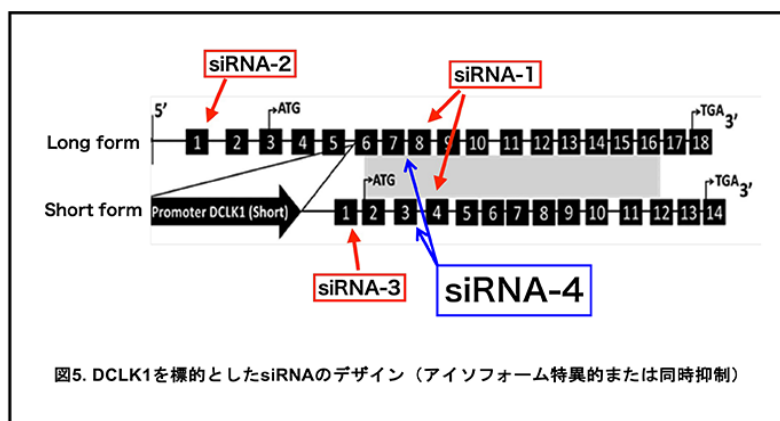
2. 研究の目的

本研究の目的は、DCLK1 の阻害が悪性胸膜中皮腫細胞に抗腫瘍効果を及ぼすことに着目し、DCLK1 を標的とした悪性胸膜中皮腫に対する新規治療法の開発を目指すことであった。DCLK1 の 2 つのアイソフォーム（short form, long form）について、アイソフォーム特異的に抑制することによる選択的なDCLK1 標的治療の可能性を探究すること、また DCLK1 に着目した研究により、悪性胸膜中皮腫の本態解明と革新的薬剤の創造につながる可能性を有する点が、本研究の学術上の独自性と創造性であった。



3. 研究の方法

悪性胸膜中皮腫細胞株における DCLK1 アイソフォームの発現パターンは細胞株によって異なっている（図3）。一方で正常中皮細胞株では DCLK1 の発現を認めなかった（図3）。DCLK1 阻害による腫瘍増殖抑制効果は予備実験により明らかとなった（図



4）が、アイソフォーム選択的に阻害した場合の効果は不明であった。そこで、short form, long

form を選択的に阻害するように siRNA をデザインし抗腫瘍効果を検討した。また、アイソフォームを同時に阻害した場合の抗腫瘍効果も検討した (図 5)。

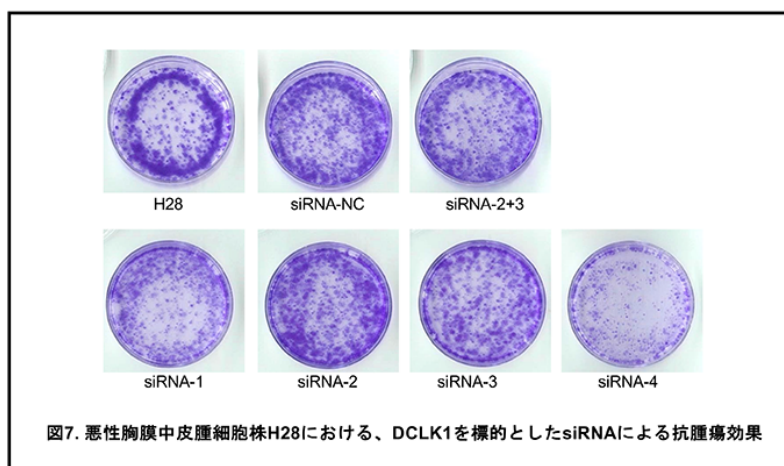
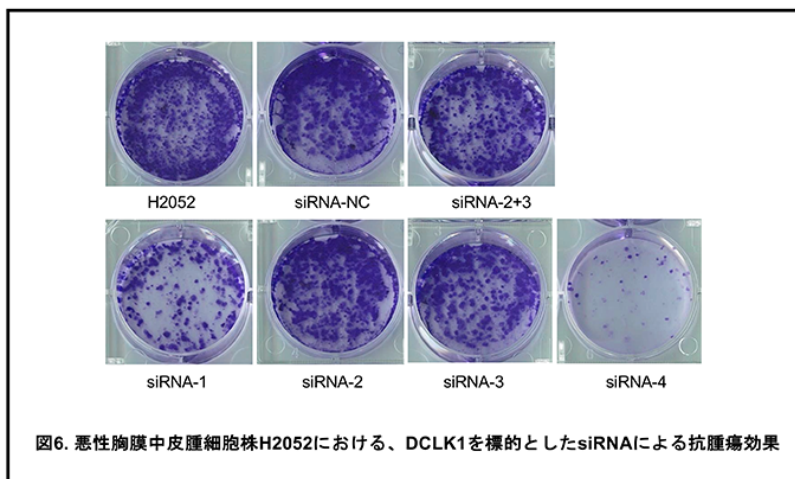
4. 研究成果

アイソフォーム選択的に siRNA をデザインし DCLK1 を阻害すると、アイソフォームを選択的に阻害したよりもアイソフォームを同時に阻害することで細胞増殖抑制効果が認められることを複数の悪性胸膜中皮腫細胞株で明らかにした (図 6、7)。

この成果を 2019 年開催の米国癌学会で報告した (演題名 : Doublecortin-like kinase 1 (DCLK1) correlates with the cell proliferation in malignant pleural mesothelioma)。

<引用文献>

Nakanishi et al. Nat Genet 2013



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 1件）

1. 発表者名 Akihiro Miura, Hiromasa Yamamoto, Hiroyuki Tao, Ken Suzawa, Shunsaku Miyauchi, Kota Araki, Yuta Takahashi, Eisuke Kurihara, Yusuke Ogoshi, Kazuhiko Shien, Junichi Soh, Kazunori Okabe, Shuta Tomida, Masakiyo Sakaguchi, Shinichi Toyooka
2. 発表標題 Doublecortin-like Kinase 1 (DCLK1) correlates with the cell proliferation in malignant pleural mesothelioma
3. 学会等名 AACR Annual Meeting 2019 (国際学会)
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
研究分担者	豊岡 伸一 (Toyooka Shinichi) (30397880)	岡山大学・医歯薬学域・教授 (15301)	
研究分担者	宗 淳一 (Soh Junichi) (90559890)	近畿大学・医学部・准教授 (34419)	
研究分担者	山本 寛斉 (Yamamoto Hiromasa) (40467733)	岡山大学・大学病院・講師 (15301)	
研究分担者	諏澤 憲 (Suzawa Ken) (90839713)	岡山大学・大学病院・助教 (15301)	

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	阪口 政清 (Sakaguchi Masakiyo) (70379840)	岡山大学・医歯薬学域・教授 (15301)	
研究分担者	富田 秀太 (Tomida Shuta) (10372111)	岡山大学・大学病院・准教授 (15301)	

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