

令和 4 年 6 月 3 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17647

研究課題名（和文）HOXA5制御を介した脱癌幹細胞化による大腸癌治療抵抗性の克服

研究課題名（英文）Novel strategy for colorectal cancer with therapeutic resistance through the dedifferentiation by HOXA5 regulation

研究代表者

波多 豪（Hata, Tsuyoshi）

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：80749747

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）：大腸癌におけるHOXA5の発現意義を明らかにすべく、当院で手術した大腸癌臨床検体を用いて、免疫組織学的染色を行った。約100例の免疫組織学的染色により、HOXA5は大腸癌患者の予後との相関があることを確認した。また、細胞実験においては、大腸癌細胞株において、DNAメチル化阻害薬やHDAC阻害薬などのエピゲノム調節薬により、大腸癌細胞株におけるHOXA5の発現量が変化することを細胞実験で確認した。今後、エピゲノム調節によるHOXA5の発現量調節により、大腸癌の悪性度低下に繋がられるかについて検証していく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸癌におけるHOXA5の発現意義として、HOXA5が大腸癌における独立した予後予測マーカーとなる可能性を明らかにした。また、HOXA5の発現制御メカニズムとしてエピゲノムが関与していることが示唆された。大腸癌の腫瘍悪生度、癌幹細胞や化学療法治療抵抗性との関連性についてさらに解析を進め、今後HOXA5を標的とした大腸癌治療につながる可能性を模索していく。

研究成果の概要（英文）：In order to clarify the significance of HOXA5 expression in colorectal cancer, immunohistological staining was performed using clinical specimens of colorectal cancer. Immunohistochemical staining of about 100 cases, which were operated and collected at our hospital, confirmed that HOXA5 correlates with the favorable prognosis of colorectal cancer patients. In vitro experiment revealed that the HOXA5 expression in the colorectal cancer cell line was increased with DNA methylation inhibitor or HDAC inhibitor, which is partially clinical available as epigenome regulators. Further studies are needed to show whether the regulation of HOXA5 expression level by epigenome regulation can lead to the reduction of malignancy of colorectal cancer.

研究分野：大腸癌

キーワード：大腸癌 HOXA5 エピゲノム 癌幹細胞 治療抵抗性

1. 研究開始当初の背景

癌幹細胞は腫瘍組織の中で少数のみ存在する自己複製能と多分化能をもつ細胞で、癌の転移・再発、治療抵抗性に関連する。大腸癌における癌幹細胞マーカーとして Lgr5, CD44v9, CD133 が報告されており、癌細胞から癌幹細胞を単離、同定する様々な方法が報告され、癌幹細胞を標的にした治療が大腸癌患者の生存率、治療成績向上に寄与すると期待されている。特に、殺細胞性抗癌薬の耐性機序として、癌幹細胞が原因となっていることが数多く示されており、大腸癌においても、フッ化ピリミジン系殺細胞性抗癌薬の 5FU や白金製剤の Oxaliplatin の薬剤耐性株で、癌幹細胞が増加することが報告されている。

HOX タンパクは胎生期において重要な働きを担っており、成人期においても、組織の恒常性の維持や細胞分化において必須である分子として報告されている。一方、様々な癌種で HOX タンパクの発現異常が認められており、中でも HOXA5 は、乳癌においてアポトーシスを介した腫瘍抑制機能を持つことが知られており [Nature 2000;405:974-978, Mol Cell Biol 2004;24:924-935]、2016 年には、HOXA5 が上皮間葉移行 (EMT) の抑制と CD24 の発現増加により、悪性度と癌幹細胞性を低下させる機能を持つことが示された [Oncogene 2016;35:5539-5551]。現在まで報告されている癌細胞マーカーとして知られる分子の多くは、上述の Lgr5 などを含め、癌幹細胞に発現している "脱分化マーカー" として機能するものが多い。一方、2015 年には癌幹細胞の "分化マーカー" つまり「脱癌幹細胞マーカー」として HOXA5 が報告された [Cancer Cell 2015;28:815-829]。HOXA5 は正常腸管上皮細胞では WNT シグナル経路を抑制して上皮の最終分化を促進するが、大腸癌においては WNT シグナル経路の標的遺伝子である MYC を介して発現抑制されており、HOXA5 は「脱幹細胞マーカー」としてだけではなく、エピゲノムレベルで発現を回復させることで、腫瘍悪性度を低下させる分子として期待されている。

HOXA5 の制御メカニズムについては、腫瘍抑制遺伝子としてエピゲノム修飾が関連している可能性が示唆されており、2013 年には大腸癌、2016 年には肺癌において HOXA5 の発現がヒストンアセチル化、特に HDAC8 と関連があることが示された [Oncogene 2013;32:559-609, Trends Pharmacol Sci 2015;36:481, Oncotarget 2016;7:50043-56]。これらのことから、従来の殺細胞性抗癌薬に対して耐性を獲得した癌幹細胞に対して HDAC 阻害剤や DNA メチル化阻害薬によるエピゲノム調節を行うことで、HOXA5 制御を介した癌幹細胞から娘細胞への分化促進によって耐性克服が可能となるという仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究では、大腸癌における HOXA5 の発現意義を明らかにするとともに、エピジェネティクス制御を通じて癌幹細胞の治療抵抗性を解除することが可能かについて検討し、大腸癌幹細胞の「脱癌幹細胞化」がエピゲノム調節による HOXA5 の発現調節を介して実現されるかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

まず、臨床検体での解析として、手術切除検体の免疫染色により、HOXA5 の大腸癌患者の予後との関連性を解析した。また、エピゲノム制御因子と HOXA5 の関連性の解析を行い、HOXA5 の制御機構を明らかにすることとした。

4. 研究成果

当院で手術した大腸癌臨床検体薬 100 例を用いて、免疫組織学的染色を行った。正常部では核が染色されるものが多い一方で、癌部では細胞質が染色される、あるいは全く染色されないものが多い傾向にあった (図 1)。つまり、癌部において HOXA5 発現は低下している傾

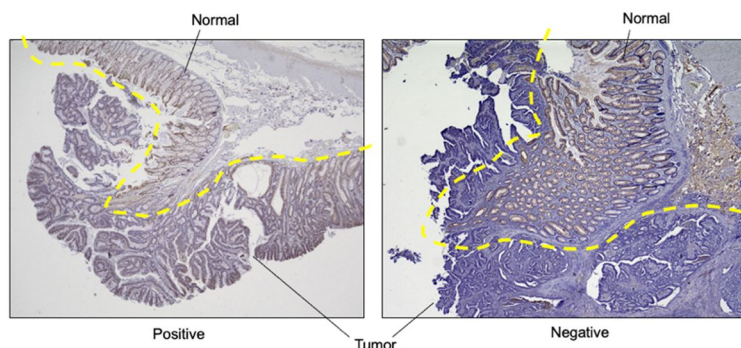


図1 免疫組織学的染色

向にあると考えられ、既存の報告と一致する結果が得られた。

それぞれの患者の検体に付随する臨床情報をもとに生存解析を行ったところ、全生存期間、無病生存期間ともに、HOXA5 低発現群が予後不良であった。単変量、多変量解析によると、無病生存期間において、HOXA5 低発現が病理学的深達度と並んで独立した予後不良因子であった。

また、細胞実験においては、大腸癌細胞株において、DNA メチル化阻害薬や HDAC 阻害薬などのエピゲノム調節薬により、大腸癌細胞株における HOXA5 の発現量が変化することを細胞実験で確認した。今後、エピゲノム調節による HOXA5 の発現量調節により、大腸癌の悪性度低下に繋がられるかについて検証していく。

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 知念良直
2. 発表標題 大腸癌におけるHOXA5の発現意義
3. 学会等名 日本癌学会総会
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
---------------------------	-----------------------	----

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