

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：17401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20997

研究課題名（和文）EGFRの脂質ラフト抑制機構を標的とした新たな頭頸部癌治療戦略の開発

研究課題名（英文）Development of a therapeutic strategy for head and neck cancer targeting lipid raft retention of EGFR

研究代表者

劉 隣 (Liu, Rin)

熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・特定研究員

研究者番号：10963697

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：腫瘍抑制遺伝子であるCYLDの発現が低下した頭頸部扁平上皮癌（HNSCC）は、抗EGFR抗体であるセツキシマブ（CTX）に耐性を示し、その耐性はコレステロール降下薬によって脂質ラフトを除去することで克服することがわかっている。また、CYLDは脂質ラフト上でチューブリンや微小管を制御している。CYLDの発現の有無が脂質ラフト上のチューブリンの動態にどう影響しているのかを解析することで効果予測バイオマーカーの特定やHNSCCにおける新たなEGFR標的治療戦略の創出を目指す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在 HNSCC において認可されている分子標的薬はCTXのみである。しかし、CTX が顕著な効果を示すのは HNSCC 患者の一部に限られることから、効果予測バイオマーカーの特定と CTX 治療の有効性を向上させる取り組みの双方が必要とされる。CYLD 低発現に伴う CTX 耐性に対するコレステロール降下薬のドラッグリポジショニングの可能性を探ることで EGFR 動態制御機構を起点とした HNSCC の病態解明や新たな治療戦略の創出に寄与することができると思われる。

研究成果の概要（英文）：Head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) with reduced expression of the tumor suppressor gene CYLD exhibits resistance to the therapeutic antibody cetuximab (CTX), and this resistance can be overcome by cholesterol-removing agents. CYLD controls tubulin and microtubules on lipid rafts. By analysing how the presence or absence of CYLD expression affects the dynamics of tubulin on lipid rafts, we aim to identify biomarkers that predict efficacy and create new EGFR-targeted therapeutic strategies for HNSCC.

研究分野：口腔がん

キーワード：EGFR CYLD セツキシマブ 脂質ラフト エンドサイトーシス

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

上皮成長因子受容体 (Epidermal growth factor receptor; EGFR) は、頭頸部扁平上皮癌 (Head and neck squamous cell carcinoma: HNSCC) の約 90% で過剰発現しており、病態の進展に大きな役割を果たしている。そのため、EGFR は重要な治療標的であり、抗 EGFR 抗体である分子標的薬セツキシマブ (CTX) は HNSCC 治療に標準的に用いられている。しかし、CTX が顕著な効果を示すのは HNSCC 患者の一部に限られることから、効果予測バイオマーカーの特定と CTX 治療の有効性を向上させる取り組みの双方が必要とされる。申請者は、HNSCC 細胞における CYLD の発現低下が CTX 耐性を誘導することを発見した。細胞表面の主に脂質ラフトに局在する EGFR は、リガンドや抗体が結合すると、クラスリン依存性エンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれた。ところが、主に脂質ラフトに局在を認めた CYLD の発現を抑制すると、EGFR が脂質ラフトに拘束されることでエンドサイトーシスが阻害され、CTX によるアポトーシスが誘導されないことが判った。重要なことに、コレステロール除去によって脂質ラフトを崩壊させると、エンドサイトーシスの回復により CTX 耐性が克服された (図 1)。この知見から、コレステロール降下薬は抗 EGFR 抗体薬との併用に有用であると考えられた。

### 2. 研究の目的

エンドサイトーシスの初期に起こる、脂質ラフトからの EGFR の解放に関する分子機構はほとんど知られていないが、脂質ラフトにおける CYLD の機能解析はその詳細に迫ることを可能にすると考えられる。さらに本研究では、申請者の独自の知見を発展させる形で、CYLD 低発現に伴う CTX 耐性に対するコレステロール降下薬のドラッグリポジショニングの可能性を探る。前述のように、CYLD の発現低下は HNSCC のシスプラチン耐性を引き起こすことがわかっている。しかし、現在の HNSCC の治療戦略では、患者がシスプラチン不応であった場合、CTX を用いた治療が行われることが多い。したがって、実臨床においても、CYLD 低発現 HNSCC が CTX の標的となるケースが多いと考えられる。以上より、本研究は EGFR 動態制御機構を起点とした HNSCC の病態解明や新たな治療戦略の創出に寄与すると考える。

### 3. 研究の方法

CYLD が持つ 3 つの CAP-Gly ドメイン (CG) のうちの 1 つ目 (CG1) がリガンド・抗体結合 EGFR の脂質ラフトからの離脱に必要であることを示した。CG1 はチューブリン・微小管の動態を制御することが知られている。また、意義は不明であるが、チューブリンは脂質ラフトに局在していることが知られている。そこで、まず脂質ラフトにおける CYLD によるチューブリン動態制御に焦点を当てる (図 2)。

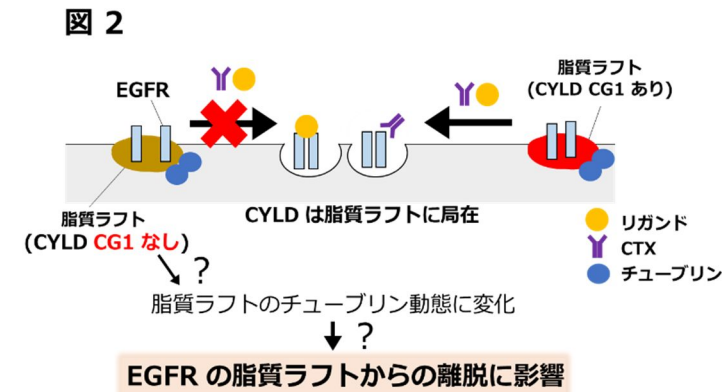
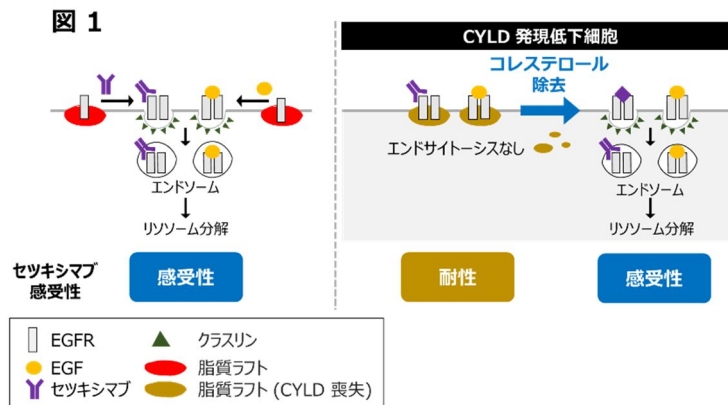
CYLD 発現を抑制した HNSCC 細胞株をマウスに移植し、高脂血症患者に用いられている各種コレステロール降下薬が CTX 感受性に及ぼす影響を検討し、最も有効な薬剤を抽出する。また、HNSCC 患者の生検組織を細切し複数群に分け、コレステロール降下薬の存在・非存在下で EGF や CTX を短時間取り込ませ、CYLD、EGFR、脂質ラフト局在分子、エンドソームマーカーなどで共染色を行い、腫瘍細胞における脂質ラフトや EGFR の量・動態を評価する。つまり、コレステロール降下薬の併用に有効な機能的コンパニオン診断を検討する。EGFR の動態自体に加え、その CYLD 発現レベルとの相関を確認し、CYLD のバイオマーカーとしての有用性

も評価する。

#### 4. 研究成果

まず脂質ラフト成分を抽出するために野生型および各ドメインを欠損した CYLD を HNSCC 細胞株に発現させた細胞株にスクロース密度勾配超遠心分離法を用いてそれぞれの細胞成分の分画を行った。脂質ラフトマーカーである Flotilin 抗体を用いることで脂質ラフトが主に細胞膜に存在していることがわかった。CYLD の欠失や各ドメインの欠損に関わらず同様の結果となった。しかし、この細胞膜成分や脂質ラフト上において、EGFR と CYLD が結合してどうかは依然解析できていないため、引き続き解析を行う必要がある。

マウスの個体数の確保や腫瘍細胞の定着に時間がかかり、腫瘍細胞定着後のマウスの死亡などにより今回は成果を得ることができなかった。引き続き解析を続けていく予定である。また、実際の HNSCC 患者の生検組織を用いた解析も続けていく予定である。



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 Shinriki S, Hirayama M, Nagamachi A, Yokoyama A, Kawamura T, Kanai A, Kawai H, Iwakiri J, Liu R, Maeshiro M, Tungalag S, Tasaki M, Ueda M, Tomizawa K, Kataoka N, Ideue T, Suzuki Y, Asai K, Tani T, Inaba T, Matsui H	4. 巻 36
2. 論文標題 DDX41 coordinates RNA splicing and transcriptional elongation to prevent DNA replication stress in hematopoietic cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Leukemia	6. 最初と最後の頁 2605-2620
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41375-022-01708-9	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
---------	---------