

令和 2 年 6 月 24 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10245

研究課題名(和文) HDAC特異的発現異常による皮膚T細胞腫瘍の発癌機構の解明：個別化医療を目指して

研究課題名(英文) The role of individual HDAC isozymes in refractory cutaneous T-cell lymphomas

研究代表者

樋口 智紀 (HIGUCHI, Tomonori)

高知大学・教育研究部医療学系基礎医学部門・助教

研究者番号：00448771

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：がん治療で用いられる広域的なHDAC阻害薬は重篤な副作用の問題を抱えているため、治療に有用なHDAC選択的な分子基盤の解明が必要となる。本研究では、難治性皮膚T細胞リンパ腫である成人T細胞白血病/リンパ腫(ATL)でHDAC4が高発現し、ATL細胞の増殖に関与することを見出した。また、ATL細胞株にHDAC4選択的阻害薬を処理すると、アポトーシス誘導によって細胞増殖を抑制することも明らかにした。したがって、これらの知見はHDAC4がATLの腫瘍形成において重要な役割をもつことを示し、個別化医療を視野に入れた難治性皮膚T細胞リンパ腫でのHDAC選択的な治療戦略において有用な情報を提供する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで血液腫瘍で明らかにされていなかったHDAC4の役割として、難治性皮膚T細胞腫瘍であるATLの腫瘍形成に関与することを明らかにし、HDAC4選択的な阻害薬の治療上の有効性についてその可能性を示した。したがって、難治性皮膚T細胞腫瘍において、HDAC4選択的な阻害薬は既存の広域的なHDAC阻害薬の重篤な副作用の問題解決の1つである可能性を有し、これらの成果は個別化医療も視野に入れたHDACアイソザイム選択的な難治性がん治療戦略に関する研究に有用な情報を提供するものである。

研究成果の概要(英文)：The current histone deacetylase (HDAC) inhibitors used in the treatment of malignancies are pan-inhibitors with several serious side effects such as thrombocytopenia. Given the relationship between specific HDAC isozymes and different kinds of cancers, we hypothesized isozyme-selective HDAC inhibitors may possess better therapeutic index and fewer adverse effects. In this study, we found that HDAC4 was highly expressed in adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL), a refractory cutaneous T-cell lymphoma, and was involved in the proliferation of ATL cells. Furthermore, HDAC4 inhibitor had an anti-tumor effect in ATL cells by inducing a marked increase in apoptosis. Thus, these findings indicate that HDAC4 plays a key role in ATL oncogenesis, and HDAC4 inhibitors might prove to be useful for HDAC-selective therapeutic strategies for refractory cutaneous T-cell lymphoma.

研究分野：皮膚腫瘍学

キーワード：HDAC4 ATL

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

分子標的薬の登場・発展に伴い、患者個々の薬効の違いなどが明らかになり、がん医療は個別化医療へと進みつつある。個別化医療の実現には、治療効果の予測や適切な薬剤・治療選択、予後予測に用いるバイオマーカーの発見が必要不可欠である。

DNA の遺伝的およびエピジェネティックな変化は悪性腫瘍の発生と進展に関与することが知られている。ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) は染色体を構成するヒストンからアセチル基を除去することにより、転写抑制因子として作用する遺伝子発現の重要な調節因子であり、18 種類のアイソザイムが存在する。また、多くの悪性腫瘍で HDAC の調節不全が起こっていることから発がんとの密接な関係がある。したがって、HDAC は有力ながん治療標的であり、難治性皮膚 T 細胞リンパ腫の治療においても HDAC 阻害薬 Vorinostat が用いられている。しかしながら、このような阻害薬は様々な HDAC アイソザイムに作用するオフターゲット毒性を有するため、血小板減少症などの重篤な副作用を引き起こすことが大きな問題となっている。この問題解決の 1 つとして、アイソザイム選択的な HDAC 阻害薬の有効性を明らかにすることであるが、難治性皮膚 T 細胞リンパ腫における HDAC アイソザイム特異的な発がん機構に関する研究は未だ十分にはなされていない。

2. 研究の目的

広域的な HDAC 阻害薬による難治性皮膚 T 細胞リンパ腫の治療は副作用において様々な問題を抱えているため、アイソザイム選択的な HDAC 阻害薬による治療に有用な分子基盤の解明が必要となる。代表者らは HDAC8 の成人 T 細胞白血病 (ATL) 発癌における役割を解明し、治療標的としての有効性を示したが、他の HDAC ファミリーについては不明な点が多い。本研究では、特にクラス II に分類される HDAC の特異的な ATL および CTCL 発がんにおける役割を明らかにし、皮膚 T 細胞腫瘍の個別化医療を視野に入れた HDAC アイソザイム選択的な癌治療戦略に有用な情報を提供する。

3. 研究の方法

(1) ATL および CTCL 細胞株における HDAC の発現解析

ATL および CTCL 細胞株から RNA を調整し、各 HDAC の mRNA 発現を real-time PCR 解析により定量的に調べた。また、各 HDAC のタンパク発現はイムノプロットにより調べた。

(2) ATL および CTCL 患者検体における治療標的の候補となる HDAC の発現解析

ATL および CTCL 患者由来の皮膚組織標本から RNA を調整し、遺伝子発現解析および細胞増殖・生存に関する解析を基に治療標的の候補として選択した HDAC の mRNA 発現を real-time PCR 解析により定量的に調べた。また、皮膚組織標本における HDAC のタンパク発現を免疫組織化学染色法によって調べた。

(3) HDAC が腫瘍細胞の増殖および生存に与える影響の検討

各 HDAC の発現解析を基に、siRNA による発現抑制系を用いて ATL または CTCL 細胞株で特異性の高い HDAC の細胞増殖および生存に与える影響について検討した。細胞増殖の測定はフローサイトメトリーによって行った。

(4) HDAC アイソザイム選択的阻害薬の抗腫瘍効果に関する検討

治療標的の候補として選択した HDAC のアイソザイム選択的阻害薬を用いて細胞株の細胞増殖および生存に与える影響についてフローサイトメトリーによって解析し、HDAC のアイソザイム選択的阻害薬の抗腫瘍効果について検討した。

4. 研究成果

(1) HDAC4 は ATL 細胞株で高発現する

代表者らはまず、ATL および CTCL 細胞株における HDAC ファミリーの発現について検討した。その結果、正常末梢血細胞 (PBMCs) と比較して CTCL 細胞株では Ki-JK でのみ HDAC4 mRNA の高発現が確認されたのに対して、ATL 細胞株ではその多くで HDAC4 mRNA が高発現していた。また、この ATL 細胞株における HDAC4 発現は、タンパクレベルでも確認された。これらの結果より、皮膚 T 細胞リンパ腫の中でも ATL で HDAC4 がその腫瘍形成に関与している可能性が示された。

(2) 患者由来の ATL 細胞で HDAC4 は発現する

ATL 細胞株で HDAC4 が高発現していたことから、ATL 患者由来の腫瘍細胞における HDAC4 の発現について検討した。その結果、非腫瘍性皮膚病変部と比較して ATL 皮膚病変部で *HDAC4* mRNA 量が有意に高値を示し、免疫組織化学染色によってタンパクレベルでも ATL 細胞において強く発現することが確認された。これらの結果より、HDAC4 は ATL 治療戦略上のバイオマーカーとなる可能性が示された。

(3) ATL 細胞において HDAC4 の発現抑制は細胞増殖を低下させる

血液腫瘍における HDAC4 の役割は不明であることから、代表者らは細胞増殖の観点から HDAC4 の機能解析を行った。ATL 細胞株 S04、ST1 および CTCL 細胞株 HUT78 における siRNA による HDAC4 発現抑制実験の結果、S04 および ST1 細胞では HDAC4 発現抑制によって細胞増殖が有意に低下したが、HDAC4 の発現レベルが低い HUT78 細胞には影響がみられなかった。このことから、HDAC4 は ATL の細胞増殖に寄与することが示された。

(4) HDAC4 選択的阻害薬はアポトーシスを誘導して ATL 細胞株の増殖を抑制する

ATL 治療における HDAC4 選択的阻害薬の有用性を検討するために、HDAC4 阻害薬 LMK-235 で ATL 細胞株を処理し、細胞増殖およびアポトーシス解析を行った。その結果、LMK-235 濃度依存的に ATL 細胞株 ST1 の増殖は有意に低下し、その増殖抑制はアポトーシスの誘導によるものであった。これらのことから、HDAC4 選択的な阻害薬は ATL 細胞のアポトーシスを誘導することで抗腫瘍効果を発揮することが明らかとなった。

(まとめ)

難治性皮膚 T 細胞リンパ腫では、抗 CCR4 抗体治療薬モガムリズマブが使用されているが、エビデンスに基づいた標準治療法の選択肢は不足しており、特に再発または 1 次難治性の ATL 患者の場合、十分な治療奏功の結果は得られていない。したがって、異なる経路を標的とする新しい治療法の開発は、利用可能な治療オプションの数をさらに拡大し、再発性および 1 次難治性 ATL 患者の転帰を改善する可能性がある。本研究において、代表者らは臨床検体も含め HDAC4 が ATL 細胞で高発現することを明らかにし、HDAC4 の発現抑制や阻害薬を用いた実験系により ATL 細胞の増殖や生存に密接に関わることを示した。したがって、HDAC4 を標的とした阻害薬は ATL 細胞に対して抗腫瘍効果を発揮し、既存の広域的な HDAC 阻害薬が有するオフターゲット毒性による副作用のリスクを低減させる新たな治療薬として期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Hashida Y, Higuchi T, Nakajima K, Ujihara T, Murakami I, Fujieda M, Sano S, Daibata M	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Human Polyomavirus 6 With the Asian-Japanese Genotype in Cases of Kimura Disease and Angiolymphoid Hyperplasia With Eosinophilia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jid.2019.12.027.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Higuchi T, Matsuo K, Hashida Y, Kitahata K, Ujihara T, Taniguchi A, Yoshie O, Nakayama T, Daibata M.	4. 巻 453
2. 論文標題 Epstein-Barr virus-positive pyothorax-associated lymphoma expresses CCL17 and CCL22 chemokines that attract CCR4-expressing regulatory T cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Letters	6. 最初と最後の頁 184-192
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.canlet.2019.03.053.	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 -
1. 著者名 Hashida Y, Higuchi T, Tanaka M, Shibata Y, Nakajima K, Sano S, Daibata M.	4. 巻 219(10)
2. 論文標題 Prevalence and Viral Loads of Cutaneous Human Polyomaviruses in the Skin of Patients with Chronic Inflammatory Skin Diseases.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 1564-1573
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/infdis/jiy618.	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 -
1. 著者名 Kikuchi H, Higuchi T, Hashida Y, Taniguchi A, Kamioka M, Taguchi T, Yokoyama A, Murakami I, Fujieda M, Daibata M.	4. 巻 9(71)
2. 論文標題 Generation and characteristics of a novel "double-hit" high grade B-cell lymphoma cell line DH-My6 with MYC/IGH and BCL6/IGH gene arrangements and potential molecular targeted therapies.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 33482-33499
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18632/oncotarget.26060.	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 -

1. 著者名 Murakami I, Wada N, Nakashima J, Iguchi M, Toi M, Hashida Y, Higuchi T, Daibata M, Matsushita M, Iwasaki T, Kuwamoto S, Horie Y, Nagata K, Hayashi K, Oka T, Yoshino T, Imamura T, Morimoto A, Imashuku S, Gogusev J, Jaubert F.	4. 巻 16(1)
2. 論文標題 Merkel cell polyomavirus and Langerhans cell neoplasm.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Communication and Signaling	6. 最初と最後の頁 49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12964-018-0261-y.	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 -

1. 著者名 Hashida Y, Higuchi T, Matsui K, Shibata Y, Nakajima K, Sano S, Daibata M.	4. 巻 217(10)
2. 論文標題 Genetic Variability of the Noncoding Control Region of Cutaneous Merkel Cell Polyomavirus: Identification of Geographically Related Genotypes.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 1601-1611
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/infdis/jiy070.	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 -

1. 著者名 Hashida Y, Higuchi T, Matsuzaki S, Nakajima K, Sano S, Daibata M.	4. 巻 217(3)
2. 論文標題 Prevalence and Genetic Variability of Human Polyomaviruses 6 and 7 in Healthy Skin Among Asymptomatic Individuals.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 483-493
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/infdis/jix516.	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 -

1. 著者名 Higuchi T, Hashida Y, Taniguchi A, Kamioka M, Daibata M.	4. 巻 7(1)
2. 論文標題 Differential gene expression profiling linked to tumor progression of splenic marginal zone lymphoma.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11026
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-11389-5.	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8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 樋口智紀, 橋田裕美子, 氏原隆子, 谷口垂裕子, 中山 隆志, 大畑雅典
2. 発表標題 EBV陽性膿胸関連リンパ腫はCCR4陽性制御性T細胞の誘引に寄与するケモカインCCL17およびCCL22を発現する
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 樋口智紀, 橋田裕美子, 西森大洋, 大畑雅典
2. 発表標題 EBV陽性膿胸関連リンパ腫はケモカインCCL17およびCCL22を発現し, CCR4陽性制御性T細胞を誘引する
3. 学会等名 第67回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 橋田裕美子, 樋口智紀, 西森大洋, 大畑雅典
2. 発表標題 健康者皮膚におけるヒトポリオーマウイルス6およびヒトポリオーマウイルス7の疫学調査
3. 学会等名 第67回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 樋口智紀, 菊地広朗, 橋田裕美子, 田口尚弘, 上岡樹生, 谷口垂裕子, 村上一郎, 大畑雅典
2. 発表標題 Antiproliferative effects of MYC/PLK1 inhibitions in a cell line derived from lymphoma with MYC/BCL6 rearrangements (MYCおよびBCL6遺伝子転座を有する高悪性度B細胞リンパ腫細胞株におけるMYC/PLK1阻害による細胞増殖抑制効果)
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 橋田裕美子, 樋口智紀, 松崎茂展, 大畑雅典
2. 発表標題 Quantification of MCPyV DNA loads in the tumor tissues and nonlesional skins of patients with Merkel cell carcinoma (メルケル細胞がん患者の腫瘍組織と非病変皮膚におけるメルケル細胞ポリオーマウイルスの定量解析)
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 橋田裕美子, 樋口智紀, 松井清彦, 大畑雅典
2. 発表標題 Genetic variability of the noncoding control region of cutaneous Merkel cell polyomavirus (メルケル細胞ポリオーマウイルスの転写複製調節領域における多様性)
3. 学会等名 第66回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 樋口智紀, 橋田裕美子, 上岡樹生, 谷口亜裕子, 大畑雅典
2. 発表標題 PLK1 upregulation promotes cell proliferation and survival in advanced splenic marginal zone lymphoma. (進行性脾辺縁帯リンパ腫でPLK1 は過剰発現し, 細胞の増殖および生存を高める).
3. 学会等名 第76回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 橋田裕美子, 樋口智紀, 松崎茂展, 大畑雅典
2. 発表標題 The relationship between loads of Merkel cell polyomavirus and carcinogenesis. (メルケル細胞ポリオーマウイルス量と発がんとの関連性について).
3. 学会等名 第65回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2017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	橋田 裕美子 (Hashida Yumiko) (00767999)	高知大学・教育研究部医療学系基礎医学部門・助教 (16401)	
研究 分担者	大畑 雅典 (Daibata Masanori) (50263976)	高知大学・教育研究部医療学系基礎医学部門・教授 (16401)	