

令和元年6月17日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09391

研究課題名(和文) 三次元組織培養系を用いた、肝内胆管がん発生に関わるエピゲノム調節機構の解析

研究課題名(英文) Analysys of epigenetic system related to the development of cholangiocarcinoma using 3D culture system.

研究代表者

松原 三郎 (MATSUBARA, SABURO)

埼玉医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40750550

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：肝内胆管癌は予後不良である。肝内胆管癌の20%に認められるIDH1変異は、細胞内代謝やエピゲノムによる遺伝子発現制御に影響する。本研究は肝内胆管におけるIDH1変異の役割を検討した。IDH変異陽性および陰性の肝内胆管癌細胞株を用いてIDH1変異特異的阻害化合物AGI-5198およびエピゲノム作用薬JQ1に対する感受性を検討した。IDH変異陽性ICC細胞は陰性細胞株と異なりJQ1に対する高い感受性を示した。一方でAGI-5198はいずれの細胞の増殖にも影響を示さなかった。本研究はIDH1変異陽性肝内胆管癌に特異的に有効な薬剤を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝内胆管癌は有効な治療薬が限られ、ゲノム医療への期待は大きい。その20%に認められるIDH1変異は、興味深いことに肝炎ウイルスや寄生虫など肝内胆管癌の発症における他の危険因子の無い症例群に集積する。よってIDH1変異は独自の特性を持つ肝内胆管癌のサブグループを形成する可能性が考えられる。本研究は肝内胆管におけるIDH1変異の意義を解明し、IDH1変異陽性の肝内胆管癌の特性や特異的な治療薬の同定を試みた点で意義がある。

研究成果の概要(英文)：Cholangiocarcinoma is a life-threatening disease of poor prognosis. Mutations in IDH1 are found in almost 20% of intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC). In this study, we report that the anti-growth effect of JQ1 differs among ICC cells and IDH1 mutation sensitizes ICC cells to JQ1. RBE cells harboring IDH1 mutation was more sensitive to JQ1 than HuCCT1 or HuH28 cells with wild-type IDH1. In addition, AGI-5198, a selective inhibitor of mutant IDH1 partially reversed the decrease in viability after JQ1 treatment and also suppressed the JQ1-induced apoptosis in RBE cells. These data suggested that IDH1 mutation contributed to the growth inhibitory effect of JQ1 in RBE cells. Our findings propose a new stratified therapeutic strategy based on IDH1 mutation in ICC.

研究分野：消化器内科学

キーワード：胆管癌

1. 研究開始当初の背景

胆管癌では部位ごとに細胞系譜の違いや分化異常の関与が示唆される

胆管癌の起源細胞は解剖学的な部位によって異なる可能性が示唆されている。とくに総胆管などの大型胆管と異なり、肝内の末梢胆管には胆管細胞と肝細胞の二方向に分化しうる肝前駆細胞が存在すると考えられており、それに由来する胆管癌は多様な組織像を呈しうる。これはいわゆる混合型肝癌とよばれる腫瘍が多彩な組織学的不均一性を呈することと併せて、その特徴的な発癌メカニズムを示唆するのかもしれない。つまり末梢の胆管癌発生においては独特の分化異常プロセスが増殖シグナルの活性化などと共に寄与している可能性がある。

細胞分化制御と Epigenetics による遺伝子発現調節

一般に発生段階における様々な細胞系譜への分化決定が Epigenetic な遺伝子発現機序によって決定されることはよく知られている。Epigenetic な遺伝子発現調節は DNA とヒストンによって形成されるヌクレオソーム、さらにはクロマチンの単位で制御される。そのヒストンの N 末端側は、メチル化、アセチル化、ユビキチン化、リン酸化といった翻訳後修飾を受ける。ヌクレオソームの動的な構造変化はこのヒストン修飾の変化によっても影響を受け、言い換えればヒストン修飾の変化がクロマチン構造を通して遺伝子発現に影響を及ぼす。こうした多様なヒストン修飾制御による遺伝子発現の変化は、分化状態の変化も誘導し、正常のみならずがん細胞においてもその生物学的特性を変化させうる。

がん細胞と Epigenetics 異常の一例；肝内胆管癌と IDH 遺伝子変異

一方で近年、次世代シーケンスの手法によって、胆管癌、特に肝内胆管癌 (ICC) において、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ (IDH) 遺伝子が高頻度に変異していることが明らかとなった。IDH は細胞内 (IDH1) あるいはミトコンドリア内 (IDH2) のイソクエン酸を還元し、 α -ケトグルタル酸 (KG) を産生する酵素である。細胞内には様々な KG 依存性脱水素酵素が存在し、その中には DNA やヒストンの脱メチル化に働く酵素 (TET, JMJ family)、低酸素下での血管新生・腫瘍増殖に働く HIF1 の分解に係る酵素 (EGLN) などがある。IDH 遺伝子に変異が起こると、KG から新たに 2-ヒドロキシグルタル酸 (2-HG) が産生され、2-HG により前述の酵素活性が阻害される。その結果、細胞内のエネルギー代謝に影響するだけでなく、エピジェネティックな遺伝子発現制御や血管新生シグナリングにも影響を及ぼす。これはがんとの密接な関連も示唆されることから、2-HG を oncometabolite と称する論文もある (Cancer Cell. 2011 Jan 18;19(1):17-30)。IDH 遺伝子変異の生物学的意義については未だ報告は少ないが、既報において、肝前駆細胞に IDH1 変異 (R132C) を強制発現すると HNF-4 発現が低下し肝臓への分化が抑制されること、さらに KRAS 変異が加わると肝内胆管癌を発生させることが示されている (Nature. 2014;513(7516):110-4)。つまりこの遺伝子変異が胆管癌発生や癌としての性質に関与する可能性は高いが、その詳細な分子機構は未解明である。

2. 研究の目的

ICC は有効な治療薬が限られ、ゲノム医療への期待は大きい。ICC の 20% に認められる IDH1 変異は、興味深いことに肝炎ウイルスや寄生虫など ICC 発症の他の危険因子の無い症例群に集積する。よって IDH1 変異は細胞内代謝のみならずエピゲノムによる遺伝子発現制御に影響し、独自の特性を持つ ICC サブグループを形成すると考えられる。本研究では肝内胆管における IDH 変異の意義を解明し、IDH 変異陽性 ICC の特性や治療標的の同定を試みた。

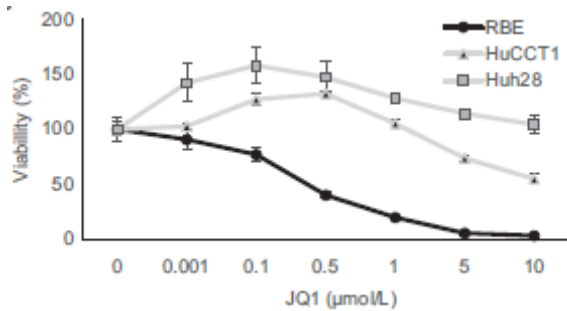
3. 研究の方法

(1) IDH 変異陽性および陰性の ICC 細胞株を用いて IDH1 変異特異的阻害化合物 AGI-5198 およびエピゲノム作用薬 JQ1 に対する感受性を検討した。

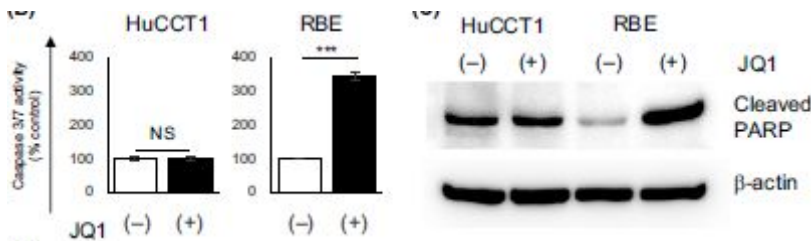
(2) 野生型あるいは変異型 IDH1 を組織特異的に発現誘導が可能な遺伝子改変マウスをそれぞれ作製し、肝臓において発現させることで呈する表現型を解析する。

4. 研究成果

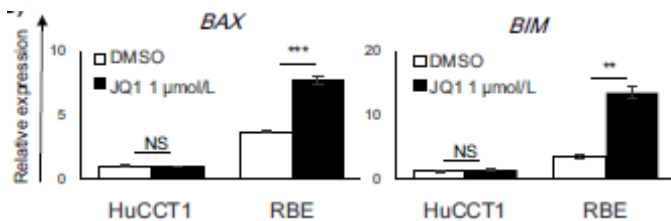
(1) IDH 変異陽性 ICC 細胞 RBE は陰性細胞株 HuCCT1, Huh2 と異なり JQ1 の増殖抑制効果に高い感受性を示した。



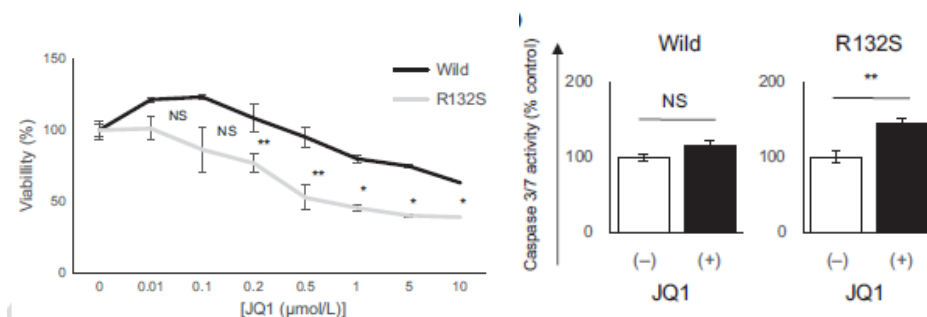
さらに IDH 変異陽性 ICC 細胞 RBE は JQ1 処理によりアポトーシスを誘導した。



その背景にはアポトーシスに関わる分子である BAX, BIM の発現上昇を伴っていた。



さらに IDH 野生型 HuCCT 細胞に変異型 IDH1 を強制発現させたところ、JQ1 の感受性が上昇した。



一方で IDH 変異特異的阻害化合物 AGI-5198 はいずれの細胞の増殖にも影響を示さなかった。

(2) 肝臓特異的な野生型あるいは変異型 IDH1 発現マウスを樹立することに成功した。

変異型 IDH1 の活性化については肝臓における変異 IDH1 代謝産物 2-HG を検出することで確認しえた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Saito K, Isayama H, Nakai Y, Takahara N, Ishigaki K, Takeda T, Hakuta R, Saito T, Uchino R, Kishikawa T, Hamada T, Mizuno S, Sasaki T, Kogure H, Matsubara S, Yamamoto N, Ijichi H, Tateishi K, Tada M, Koike K. A phase II trial of gemcitabine, S-1 and LV combination (GSL) therapy in patients with advanced pancreatic cancer. Invest New Drugs. 査読有; 37(2):338-344, 2019. doi: 10.1007/s10637-018-0691-9. Epub 2018 Nov 9. PubMed PMID: 30411217.

Fujiwara H, Tateishi K, Kato H, Nakatsuka T, Yamamoto K, Tanaka Y, Ijichi H, Takahara N, Mizuno S, Kogure H, Matsubara S, Nakai Y, Koike K. Isocitrate dehydrogenase 1 mutation sensitizes intrahepatic cholangiocarcinoma to the BET inhibitor JQ1. Cancer Sci. 査読有; 109(11):3602-3610, 2018. doi: 10.1111/cas.13784. Epub 2018 Sep 17. PubMed PMID: 30156013; PubMed Central PMCID: PMC6215870.

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年 :

国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：立石 敬介

ローマ字氏名：(TATEISHI, keisuke)

所属研究機関名：東京大学医学部附属病院

部局名：消化器内科

職名：講師

研究者番号(8桁): 20396948

研究分担者氏名：伊佐山 浩通

ローマ字氏名：(ISAYAMA, hiroyuki)

所属研究機関名：順天堂大学

部局名：消化器内科

職名：教授

研究者番号(8桁): 70376458

(2)研究協力者

研究協力者氏名：藤原 弘明

ローマ字氏名：(FUJIWARA, hiroaki)

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、研究者個人に帰属されます。