

令和元年5月8日現在

機関番号：37111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09863

研究課題名(和文)サーチユインを標的とする新規低分子化合物による白血病治療法の開発

研究課題名(英文) Novel small-molecule sirtuin inhibitors induce cell apoptic death in leukemia cells

研究代表者

小迫 知弘 (KOZAKO, Tomohiro)

福岡大学・薬学部・准教授

研究者番号：40398300

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)：サーチユイン(SIRT1～7)はヒストンを介した遺伝子発現に関与する酵素であり、がん化などの生命機能に関与している。従って、その阻害剤は、がんに対するエビジェネティック創薬として期待されている。一方、成人T細胞白血病(ATL)は予後が悪いため、新規治療法の開発が焦眉の急である。本研究では、ATLをはじめとする白血病細胞でのにおいて、新規選択的SIRT2阻害剤であるNCO-90/141は、カスパーゼの活性化を介する経路と、オートファジーを介する経路を同時に誘導して細胞死を起こすことが示唆された。SIRT2は白血病治療の標的になり得ることが示されたことから、今後の研究の発展と臨床応用が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HTLV-1は、慢性持続感染後にATLを発症するため、感染・腫瘍・免疫の観点から興味深いモデルである。SIRT2の造血器悪性腫瘍に対する報告は乏しく、その阻害剤に関する報告は無い。本研究では、新規SIRT2阻害剤がアポトーシス及びオートファジーを介してATL患者細胞の細胞生存率を低下させる事を報告した。サーチユインは長寿遺伝子として注目され、その研究は、がん研究のみならず老化関連疾患など幅広い研究に有益であり、高齢者人口が25%を超える高齢化社会への波及効果も高い。また、サーチユインを標的とした新規白血病治療法の研究は、抗がん剤治療が主流であるなかで独創性の高い研究であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Sirtuin 2 (SIRT2) is a member of the sirtuin family which participates in modulation of cell cycle control, neurodegeneration, and tumorigenesis. SIRT2 expression increases in acute myeloid leukemia blasts. Therefore, selective inhibitors of SIRT2 are candidate therapeutic agents for cancer. Adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL) is a T-cell malignancy that has a poor prognosis and develops after long-term infection with human T-cell leukemia virus (HTLV)-1. Sirtuin 1 inhibition has been shown to induce apoptosis and autophagy in HTLV-1-infected cell lines, whereas the effects of SIRT2 inhibition alone have not been elucidated. Our novel small molecule SIRT2-specific inhibitors NCO-90/141 inhibited cell growth of leukemic cell lines including HTLV-1-transformed T-cells. NCO-90/141 are highly effective against leukemic cells in caspase-dependent or -independent manners via autophagy, and they may have a novel therapeutic potential for treatment of leukemias including ATL.

研究分野：血液腫瘍学

キーワード：ATL HTLV-1 Sirtuin

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

成人 T 細胞白血病 (ATL) は、ヒト T 細胞白血病ウイルス-1 (HTLV-1) の CD4 陽性 T 細胞への感染後、約 3~6% の HTLV-1 のキャリアが 50~60 年の長期潜伏期間を経て発症する悪性腫瘍である。高度の治療抵抗性と日和見感染症の合併により極めて予後不良の疾患である。高カルシウム血症、皮膚病変を特徴とし、急性型、リンパ腫型、くすぶり型、慢性型に分類される。近年、白血病の治療は飛躍的に進歩し、患者の生命予後が大きく改善されてきたが、ATL 患者のほとんどは治療抵抗性を示し、特に急性型のほとんどの患者が発病後 1 年以内に死亡し予後不良である (Tsukasaki et al. *J Clin Oncol* 2007)。有効な治療法がない現状において、ATL 細胞の増殖抑制する新規作用機序の薬剤による ATL 治療法の確立が焦眉の急であると考えられる。

サーチュインは、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) class III に分類され、ヒトでは 7 種類が存在する (SIRT1 - 7)。サーチュインは、カロリー制限により NAD⁺ 依存的に活性化され、脱アセチル化された領域の遺伝子発現が低下する事から、細胞内代謝のセンサー、がん化に至るまで多くの生命機能に関与している (Bordone et al. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005)。従って、サーチュインの制御に関する研究は、がん治療をはじめとして長寿などの幅広い研究に有益である。申請者は、HTLV-1 非感染者と比較して、予後不良の急性型 ATL 患者において SIRT1 が高発現している事と、SIRT1/2 阻害薬である Sirtinol が、濃度依存的に白血病細胞の増殖を抑制し、アポトーシスを誘導する事を報告した (Kozako et al. *Int J Cancer* 2012)。更に、予後不良の急性型 ATL 患者細胞及び白血病細胞株において、我々が合成した新規 SIRT1/2 阻害剤が、アポトーシスとオートファジーを同時に誘導することにより、既存の SIRT1/2 阻害剤と比較して低濃度で白血病細胞増殖抑制効果を示すことを明らかにした (Kozako et al. *Sci Rep.* 2015)。従って、サーチュインを標的とする薬剤は、癌治療応用に重要な意味を持っている。

2. 研究の目的

本研究では、新たに合成した低分子の SIRT2 阻害剤による白血病細胞増殖抑制効果及び抗腫瘍効果を検証することにより、サーチュインを標的とした新規低分子化合物の ATL 及び白血病治療応用への可能性を検討した。

3. 研究の方法

HTLV-1 感染細胞株である S1T 及び MT2 細胞、HTLV-1 非感染細胞株である Jurkat 及び HL60 細胞を用いて、新規 SIRT2 阻害剤である NCO-90 及び NCO-141 処理後の細胞生存率を Cell Counting Kit-8 により測定した。また、AnnexinV を指標とした Flow Cytometry 法によりアポトーシス細胞を測定した。更に、CytoID を指標とした Flow Cytometry 法によりオートファジー細胞を測定した。

4. 研究成果

白血病細胞株において NCO-90 及び NCO-141 処理により、有意な細胞生存率の低下が認められた。また、Annexin V を指標としたアポトーシス細胞の検出を行ったところ、各白血病細胞株において NCO-90 及び NCO-141 処理によりアポトーシス細胞の割合が増加した。しかし、そのアポトーシス細胞の増加は、カスパーゼ阻害剤 (z-vad-fmk) により抑制されなかったことから、カスパーゼ非依存的な細胞死が関与することが示唆された。

NCO-90 及び NCO-141 処理により、Cyto-ID を指標としたオートファジー細胞が増加した。また、ウエスタンブロット法により、NCO-90 及び NCO-141 処理が LC-3 の量を増加させたことから、NCO-90 及び NCO-141 はアポトーシスと同時にオートファジーを誘導することが示唆された。

以上の結果より、我々が合成した新規 SIRT2 阻害剤は、*in vitro* において白血病細胞を細胞死に導くことが示唆された。従って、今後、*in vivo* における検討を行うことにより、新規 SIRT2 阻害剤が、白血病治療薬の選択肢の一つとなることができるよう、研究開発を継続していきたい。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 6 件)

1. Kozako T, Sato K, Uchida Y, Kato N, Aikawa A, Ogata K, Kamimura H, Uemura H, Yoshimitsu M (他 5 名, 1 番目) The small molecule STF-62247 induces apoptotic and autophagic cell death in leukemic cells. *Oncotarget* 9: 27645-27655, 2018. (査読有) doi: 10.18632/oncotarget.25291.
2. Kozako T, Mellini P, Ohsugi T, Aikawa A, Uchida YI, Honda SI, Suzuki T. Novel small molecule SIRT2 inhibitors induce cell death in leukemic cell lines. *BMC Cancer* 18: 791-800, 2018. (査読有) doi: 10.1186/s12885-018-4710-1.
3. Hachiman M, Yoshimitsu M, Ezinne C, Kuroki A, Kozako T, Arima N. In vitro effects of arsenic

trioxide, interferon α and zidovudine in adult T cell leukemia/lymphoma cells. *Oncol Lett.* 16: 1305-1311, 2018. (査読有) doi: 10.3892/ol.2018.8771.

4. 小迫知弘、鈴木孝禎 サーチイン阻害剤による白血病細胞のオートファジー *BIO Clinica* 33: 68-73, 2018
5. Kozako T, Soeda S, Yoshimitsu M (他 8 名, 1 番目) Angiotensin II type 1 receptor blocker telmisartan induces apoptosis and autophagy in adult T-cell leukemia cells. *FEBS openbio* 6: 442-460, 2016. (査読有) doi: 10.1002/2211-5463.12055.
6. Kozako T, Yoshimitsu M (他 5 名, 1 番目) Induction of apoptosis and autophagy by Nampt inhibition in adult T-cell leukemia/lymphoma and leukemic cell lines. *BLOOD* 128:2327, 2016. (査読有)

[学会発表](計 26 件)

1. 相川晃慶、小迫知弘、吉満誠ら AICAR を用いた新規成人 T 細胞白血病治療法の検討 日本薬学会第 139 年会(千葉) 2019.3.22
2. 佐藤啓介、小迫知弘ら Brentuximab vedotin による細胞死に対する可溶性 CD30 と ADAM10/17 の影響 日本薬学会第 139 年会(千葉) 2019.3.22
3. 相川晃慶、小迫知弘、吉満誠ら Dorsomorphin はヒト成人 T 細胞白血病ウイルス 1 型感染細胞株のアポトーシスを誘導する 第 41 回日本分子生物学会年会(神戸) 2018.11.29
4. Tomohiro Kozako, Takeo Ohsugi, Makoto Yoshimitsu et al. Overexpression of NAMPT in adult T-cell leukemia/lymphoma patients and antitumor activity of a NAMPT inhibitor in vivo. ESMO 2018 Congress (Munich, Germany) 2018.10.21
5. 加藤奈歩、小迫知弘、吉満誠ら 成人 T 細胞白血病細胞における NAMPT 阻害剤による細胞死の検討 第 5 回日本 HTLV-1 学会学術集会(東京) 2018.9.1
6. 田中めぐ美、小迫知弘ら Brentuximab vedotin による細胞死に対する可溶性 CD30 の影響 第 5 回日本 HTLV-1 学会学術集会(東京) 2018.9.1
7. 相川晃慶、小迫知弘、吉満誠ら AICAR または Metformin による HTLV-1 感染細胞株の細胞死誘導機序の検討 日本薬学会第 138 年会(金沢) 2018.3.28
8. 相川晃慶、小迫知弘、吉満誠ら 成人 T 細胞白血病ウイルス 1 型感染細胞株における Dorsomorphin 誘導性アポトーシスの作用機序 第 40 回日本分子生物学会年会(神戸) 2017.12.8
9. 本田伸一郎、小迫知弘ら ARP1 と相互作用するタンパク質の解析 第 40 回日本分子生物学会年会(神戸) 2017.12.8
10. 緒方憲太郎、田村和夫、佐藤啓介、佐藤陽菜、内山将伸、清見文明、安高勇氣、小迫知弘ら 高齢者への多剤投与ががん化学療法に影響を及ぼす因子に関する後方視的探索研究 日本がんサポーターブケア学会(埼玉) 2017.10.27
11. 小迫知弘ら STF-62247 によるアポトーシスおよびオートファジーを介する細胞死に関する検討 第 76 回日本癌学会学術総会(横浜) 2017.9.30
12. 佐藤啓介、小迫知弘ら STF-62247 による成人 T 細胞白血病細胞株の細胞死に対する検討 第 4 回日本 HTLV-1 学会学術集会(大阪) 2017.8.19
13. 岡里佐子、小迫知弘、吉満誠ら 新規 SIRT2 阻害剤による成人 T 細胞白血病細胞株の細胞死に対する検討 第 4 回日本 HTLV-1 学会学術集会(大阪) 2017.8.19
14. 讃井美保、小迫知弘ら HTLV-1 感染細胞株における可溶性 CD30 産生に対する ADAM ファミリーの関与 第 4 回日本 HTLV-1 学会学術集会(大阪) 2017.8.19

15. 相川晃慶、小迫知弘、吉満誠ら Dorsomorphin を用いた新規成人 T 細胞白血病治療法の検討 日本薬学会第 137 回 (仙台) 2017.3.26
16. 佐藤啓介、小迫知弘ら STF-62247 による白血病細胞株の細胞死に対する検討 日本薬学会第 137 回 (仙台) 2017.3.26
17. Tomohiro Kozako, Shuhei Soeda, Makoto Yoshimitsu et al. Angiotensin II type 1 receptor blocker induces apoptosis and autophagy in adult T-cell leukemia cells. 18th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses (Tokyo) 2017.3.6
18. Tomohiro Kozako, Makoto Yoshimitsu et al. Induction of apoptosis and autophagy by Nampt inhibition in adult T-cell leukemia/lymphoma and leukemic cell lines. The American Society of Hematology 58th Annual Meeting (SanDiego, CA) 2016.12.3
19. 相川晃慶、小迫知弘、吉満誠ら Dorsomorphin による HTLV-1 感染細胞株のアポトーシス誘導 第 33 回日本薬学会九州支部大会 (鹿児島) 2016.12.3
20. 武本重毅、小迫知弘 Our view of high serum levels of soluble CD30 associated with clinical lesions in adult T-cell leukemia 第 45 回日本免疫学会学術集会 (沖縄) 2016.11.30
21. 小迫知弘 テルミサルタンによる白血病細胞の細胞死に関する検討 第 75 回日本癌学会学術総会 (横浜) 2016.10.6
22. 今石果奈、小迫知弘、吉満誠ら 新規 SIRT2 阻害剤による白血病細胞株の細胞死に対する検討 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会 (鹿児島) 2016.8.27
23. 豊島萌恵、小迫知弘、吉満誠ら ニコチンアミドホスホリボシル基転移酵素を標的とした成人 T 細胞白血病治療の可能性 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会 (鹿児島) 2016.8.27
24. 野田圭吾、小迫知弘ら 成人 T 細胞白血病における可溶性 CD30 産生に対する ADAM ファミリーの関与 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会 (鹿児島) 2016.8.27
25. 福田梓、相川晃慶、小迫知弘、吉満誠ら Compound C を用いた HTLV-1 感染細胞株のアポトーシス誘導機序の検討 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会 (鹿児島) 2016.8.27
26. 武本重毅、小迫知弘ら 可溶性 CD25 ならびに CD30 血清レベル上昇から示唆された成人 T 細胞白血病病態形成に関わる酵素活性 第 56 回日本リンパ網内系学会総会 (熊本) 2016.5.20

〔図書〕(計 1 件)

1. 竹橋 正則、丹羽 和紀、高寺 恒雄、松永 俊之、三浦 雅一、小迫 知弘、木村 聡、佐藤 圭創、橋口 照人、古川 勝敏、佐藤 友紀、町田 麻依子 薬学生のための病態検査学改訂 第 3 版 南江堂 2018 年 11 月 ISBN 978-4-524-40357-8

〔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
<http://www.pha.fukuoka-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 連携研究者

研究協力者氏名：鈴木 孝禎

ローマ字氏名：SUZUKI, Takayoshi

京都府立医科大学・医学部・教授

研究者番号：90372838

(3) 研究協力者

研究協力者氏名：吉満 誠

ローマ字氏名：YOSHIMITSU, Makoto

鹿児島大学・医学部・准教授

研究者番号：70404530

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。