

令和元年5月21日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10393

研究課題名(和文) ポリアミン代謝に着目した子宮頸癌癌幹細胞の放射線抵抗性機序の解明

研究課題名(英文) The relationships between radioresistance and polyamine metabolism in cervical cancer stem cell

研究代表者

磯橋 文明 (Fumiaki, Isohashi)

大阪大学・医学系研究科・特任准教授(常勤)

研究者番号：00448036

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：放射線や抗癌剤に抵抗性をもち、かつ造腫瘍性をもつ、癌細胞のうちの小集団「癌幹細胞」を撲滅する方法は癌治療に有効であると考えられる。子宮頸癌の癌幹細胞が放射線耐性をもつことや、癌幹細胞と非癌幹細胞を比較するとポリアミン代謝に違いがあることがこれまでにわかっている。ID1は癌幹細胞に特異的に発現が高く、細胞株にポリアミンを暴露させることでもID1の発現亢進がみられた。細胞内のポリアミン濃度が高いことで、エピジェネティックにID1の遺伝子発現促進することが明らかとなった。細胞内ポリアミン濃度が高い場合に放射線治療抵抗性である癌幹細胞らしくなることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

放射線や抗癌剤に抵抗性をもち、かつ造腫瘍性をもつ、癌幹細胞を撲滅する方法は癌治療に有効であると考えられるが、癌幹細胞の代謝とエピジェネティクスに関する研究はこれまでになされていなかった。このような背景の中で、我々は癌幹細胞の細胞内のポリアミン濃度が高いことをまず明らかとし、そのポリアミンが癌幹細胞の維持に重要であることを明らかとした。具体的には癌幹細胞のポリアミン濃度が高いことで、ヒストン脱メチル化酵素であるLSD1が阻害され、癌幹細胞関連遺伝子であるID1 遺伝子プロモーター領域でのヒストンH3K4のメチル化を亢進させ、ID1の遺伝子発現促進に寄与していることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：A method of eradicating a small group "cancer stem cells" among cancer cells that are resistant to radiation and anticancer drugs and have tumorigenicity is considered to be effective for cancer treatment. Radiation resistance of cervical cancer stem cells and differences in polyamine metabolism between cancer stem cells and non-cancer stem cells. ID1 was highly expressed specifically in cancer stem cells, and exposure of polyamines to cell lines also resulted in enhanced expression of ID1. It was revealed that the high polyamine concentration in the cells promotes gene expression of ID1 epigenetically. It was suggested that when the intracellular polyamine concentration is high, it becomes like cancer stem cells that are resistant to radiation treatment.

研究分野：放射線治療学

キーワード：癌幹細胞 放射線治療 ポリアミン代謝

## 1. 研究開始当初の背景

現在、我が国において癌は2人に1人が罹患し、3人に1人の死因である。今後の高齢化で、癌を「切らずに治す」放射線治療への要請はますます高まると予想される。子宮頸癌は放射線治療の役割が大きいが、特に進行期においての治療成績は改善の余地が残されている。最近、癌幹細胞とよばれる放射線治療抵抗性、抗癌剤抵抗性の細胞集団の存在を示す報告が数多くなされ、放射線治療後の再発に関わると考えられている(Bao et al. Nature 2006 など)。従って、子宮頸癌の放射線治療成績のさらなる改善には、この癌幹細胞を根絶するようなアプローチが重要であると考えられる。

癌幹細胞を標的とした放射線治療開発をどのように行なうべきかを考えたときに、第一には癌幹細胞の特徴を十分理解する必要がある。また癌幹細胞を放射線単独で撲滅するのではなく、癌幹細胞を標的とした薬剤を見つけ、それを放射線治療と併用する方法は重要であると考えられる。我々のグループでは既に子宮頸癌の癌細胞集団のうち、プロテアソーム活性の低い少数の細胞集団が癌幹細胞の性質を有しており、抗癌剤や放射線治療に抵抗性であったことを報告している(Hayashi et al. Int J Oncol 2014)。我々は既にこの系を用いて、子宮頸癌の癌幹細胞ではポリアミン代謝酵素で重要な ODC のタンパクレベルが高く、癌幹細胞でポリアミン代謝が非癌幹細胞よりも亢進していることを明らかにしている。

ポリアミンは、アミノ酸の1つであるオルニチンから合成されるプトレシン、スペルミン、スペルミジンの3つの代謝物を主に指す。ポリアミンは1678年に発見され古くからその存在が知られていたが、最近その細胞内での機能について理解が進んでいる。例えば、癌細胞の増殖に必須であること(Seiler et al. Cancer Res 1990)、遺伝子発現制御に関わっていること(Gerner et al. Nat Rev Cancer 2004)、フリーラジカルスカベンジャーとしての機能を持つこと(Ha et al. PNAS 1998)、ポリアミン代謝を阻害する薬剤 DFMO が放射線増感作用をもつこと(Courdi et al. Int J Cancer 1986)などの報告がある。また、ポリアミン代謝の門番酵素である ODC 高発現は癌の予後不良因子とする報告も複数ある(乳癌 Manni et al. Clin Cancer Res 1996、神経芽腫 Geerts et al. Int J Cancer. 2010)。

したがって、上記の予備実験と文献的考察により、癌幹細胞の放射線耐性を解明する鍵としてポリアミン代謝が重要な可能性があると考えた。また癌幹細胞を標的とした治療法の開発において、癌幹細胞と非癌幹細胞の代謝の違いに注目した研究は過去にあまり報告がない。

## 2. 研究の目的

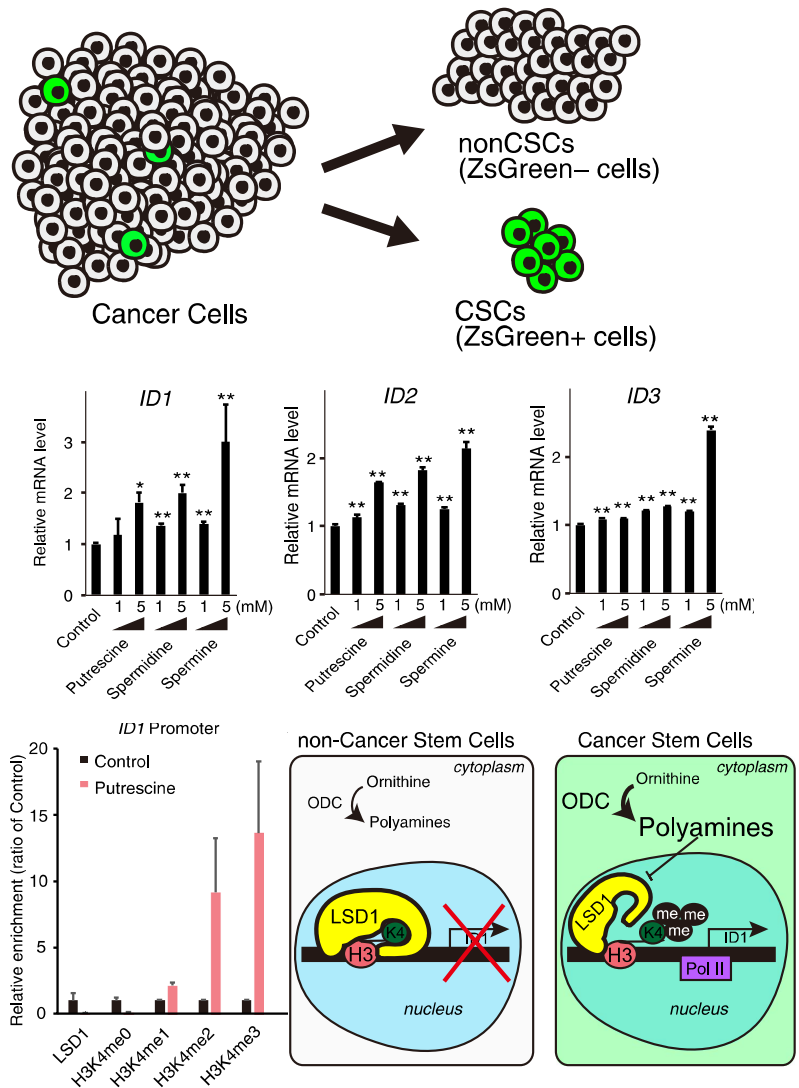
放射線や抗癌剤に抵抗性をもち、かつ造腫瘍性をもつ、癌細胞のうちの小集団「癌幹細胞」を撲滅する方法は癌治療に有効であると考えられる。しかしながら現在のところ癌幹細胞を標的とした有効な治療法は確立されていない。我々の研究グループではこれまでに子宮頸癌の癌幹細胞を同定し、それが放射線耐性をもつことを報告している。さらに我々は癌幹細胞と非癌幹細胞を比較するとポリアミン代謝の違いがあることを今回我々は突き止めている。本研究では、癌幹細胞と非癌幹細胞におけるポリアミン代謝の違いが、どのように癌幹細胞が治療抵抗性を発揮するのかを明らかにし、このポリアミン代謝関連分子を標的とした革新的な放射線増感剤の創薬を目指すことを目的としている。

## 3. 研究の方法

癌幹細胞で豊富なポリアミンがどのように癌幹細胞性の維持に関わるかを調べるため、ポリアミンによるエピジェネティックな遺伝子制御に注目した。LSD1 はヒストン脱メチル化酵素(特に H3K4 の脱メチル化により標的遺伝子の転写を抑制する)として知られている(Shi et al. Cell 2004)。ポリアミンのうちスペルミン、スペルミジンの酸化酵素の活性部位と LSD1 ヒストン脱メチル化酵素の酵素活性部位が酷似していることが報告されている(Stavropoulos et al. Nat Struct Mol Biol 2006)。ポリアミンが LSD1 のヒストン脱メチル化を阻害するかを酵素アッセイで確認し、癌幹細胞関連遺伝子のプロモータ領域のヒストンのメチル化の状態をクロマチン免疫沈降法(ChIP-PCR)を用いて確認し、ポリアミンが豊富な状況で癌幹細胞関連遺伝子が活発に転写されるようになるのかを確認した。

#### 4. 研究成果

放射線や抗癌剤に抵抗性をもち、かつ造腫瘍性をもつ、癌細胞のうちの小集団「癌幹細胞」を撲滅する方法は癌治療に有効であると考えられる。しかしながら現在のところ癌幹細胞を標的とした有効な治療法は確立されていない。我々の研究グループではこれまでに子宮頸癌の癌幹細胞を同定し、それが放射線耐性をもつことを報告している。さらに我々は癌幹細胞と非癌幹細胞を比較するとポリアミン代謝に違いがあることを今回我々は突き止めている。癌幹細胞関連遺伝子としてID1について注目した。ID1は癌幹細胞に特異的に発現が高く、細胞株にポリアミンを暴露させることでID1の発現亢進がみられた。ID1の発現が高いと若干の放射線抵抗性を示すことがわかった。ID1について解析を行うと、細胞内のポリアミン濃度が高いことで、ヒストン脱メチル化酵素であるLSD1を阻害し、ID1遺伝子プロモーター領域でのヒストンH3K4のメチル化を亢進させ、ID1の遺伝子発現促進に寄与していることが明らかとなった。本研究機関ではポリアミンの直接的な放射線耐性機序は明らかとならなかったが、細胞内ポリアミン濃度が高い場合に放射線治療抵抗性である癌幹細胞様と間接的になることが示唆された。



以上を論文化して2018年に国際誌に掲載された。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Tamari Keisuke, Konno Masamitsu, Asai Ayumu, Koseki Jun, Hayashi Kazuhiko, Kawamoto Koichi, Murai Noriyuki, Matsufuji Senya, Isohashi Fumiaki, Satoh Taroh, Goto Noriko, Tanaka Shinji, Doki Yuichiro, Mori Masaki, Ogawa Kazuhiko, Ishii Hideshi. Polyamine flux suppresses histone lysine demethylases and enhances ID1 expression in cancer stem cells. Cell Death Discov. 2018 Nov 13;4:104. 査読あり

〔学会発表〕(計 1 件)

Tamari K, Ishii H, Konno M, Nishida N, Koseki J, Kawamoto K, Isohashi F, Doki Y, Mori M, Ogawa K. Polyamines are rich and induces epigenetic change by inhibition of LSD1 in cancer stem-like cells. Poster presentation in AACR Annual Meeting 2017, Apr. 2017, Walter E. Washington Convention Center, Washington, D.C.

〔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 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：瀬尾 雄二

ローマ字氏名：Yuji Seo

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：助教

研究者番号（8桁）：00302000

研究分担者氏名：玉利 慶介

ローマ字氏名：Keisuke Tamari

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：特任助教（常勤）

研究者番号（8桁）：30718995

研究分担者氏名：小川 和彦

ローマ字氏名：Kazuhiko Ogawa

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：教授

研究者番号（8桁）：40253984

### (2)研究協力者

なし

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。