

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19732

研究課題名(和文)HDAC阻害剤の併用療法のターゲットとしてのMAPKシグナル経路の可能性

研究課題名(英文)A possibility of MAPK signaling as a target of combination therapy with HDAC inhibitor

研究代表者

指宿 敦子 (IBUSUKI, Atsuko)

鹿児島大学・医歯学域医学系・助教

研究者番号：10596109

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：3種類の細胞株を3種類のHDAC阻害剤で刺激し、MAPKファミリーを初めとするチロシンキナーゼの活性化をPamChipアレイを用いて網羅的に解析したところ、どのHDAC阻害剤の刺激でもHut78のみでMAPK1(ERK2)の活性が亢進していることが明らかになった。さらに、MAPK1の上流にあるMEKに対する阻害剤のHDAC阻害剤の抗増殖効果に与える影響を調べたところ、今回検討した4剤のMEK阻害剤いずれにもHut78に対するHDAC阻害剤の抗増殖効果を増強させる効果があることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：I performed the exhaustive protein tyrosine kinase assay of 3 CTCL cell lines (Hut78, HH and MJ) with 3 HDACi (romidepsin, vorinostat and belinostat) by Pamchip and found that all tested HDACi upregulated phosphorylation activity of MAPK1/ERK2 in Hut78. Furthermore, inhibitors of MEK, an upstream kinase of MAPK1, significantly enhanced the anti-proliferative effect of HDACi in Hut78.

研究分野：皮膚科学

キーワード：皮膚リンパ腫 HDAC阻害剤 MAPK

## 1. 研究開始当初の背景

ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)は新たな悪性腫瘍治療のターゲットとして注目され、vorinostat(SAHA)が皮膚 T 細胞リンパ腫(CTCL)に対する治療薬として承認されたのを皮切りに、多数の薬剤の開発が進行中である。既存の治療の種類を問わず、一定の効果が認められる一方で、単剤による治療効果は限界があり、CTCL 以外に対する治療では承認当初から併用療法が選択されている。CTCL に対する治療でも併用療法のターゲットの検索が行われているが、これまでに確立された併用療法はない。

我々はこれまでにプロテオームの手法を用いてリンパ腫細胞における HDAC 阻害剤の感受性に関わる分子を複数同定したが、最も発現に差を認めた 3 分子(HSPA1A、GRB2、GSTP1)はいずれも MAPK 経路に関わる分子であった。

乳がん細胞では MAPK 経路のうち p38MAPK 経路が SAHA によるアポトーシス誘導に関わっているという報告があるが、CTCL においては romidepsin に対する獲得耐性株において MEK 阻害剤が有効であったという報告があるのみであった。

## 2. 研究の目的

CTCL において MAPK が HDAC 阻害剤の併用療法のターゲットとなりうるか明らかにするために本研究を立案した。

## 3. 研究の方法

(1) Belinostat, Vorinostat, Romidepsin の 3 種の HDAC 阻害剤と HH、Hut78、MJ の CTCL の細胞株 3 株を用いて、細胞を HDAC 阻害剤で刺激することにより Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1) をはじめとするチロシンキナーゼ活性にどのような影響を及ぼすのか Pam Chip Array を用いて解析を行った。

(2) HDAC 阻害剤と MAPK 阻害剤の併用効果に関して、併用による細胞増殖に与える影響を XTT 法を用いて解析した。

## 4. 研究成果

(1) Hut78では全ての薬剤でMAPK1のある特定の箇所のチロシンのリン酸化が亢進していたが、MJでは逆にリン酸化の亢進は全ての箇所で認めなかった。HHに関してはBelinostatとRomidepsinでMAPK1の複数の箇所のチロシンのリン酸化の亢進を認めたが、Vorinostatでは変化は認めなかった。上流のキナーゼであるRAF proto-oncogene serine/ threonine-protein kinase (cRAF)についても検討を行ったが、全てのHDAC阻害剤、細胞株の組み合わせでリン酸化の亢進は認めなかった。

他のMAPK経路についても解析を行ったが、C-Jun N-Terminal Kinase 3は全ての組み合わせで変化を認めず、MAP kinase p38 alphaもBelinostatの刺激でHHにおいて亢進しているのみであった。

アレイで同時に活性を測定した他のキナーゼ活性も含め、今回検討した3種のHDAC阻害剤と3株の細胞株での検討の範囲内では、HDAC阻害剤によるキナーゼ活性の変化は薬剤特異的というよりも、細胞特異的であった。即ち、特定のHDAC阻害剤が特定のキナーゼの活性を制御するのではなく、HDAC阻害剤の種類に関わらず、細胞ごとに特定のキナーゼ活性が亢進する傾向にあった。

(2) HDAC阻害剤の刺激によりMAPK1の活性化が引き起こされたHut78に関してVorinostatとMAPK阻害剤の併用効果を検討したところ、U-0126など4種のMEK阻害剤でVorinostatによる抗増殖効果を亢進させたが、p38 MAPK経路やJNK経路の阻害剤はVorinostatの抗腫瘍効果に影響を与えなかった。

5. 主な発表論文等  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計3件)

1. Higashi Y, Yamakuchi M, Fukushige T, Ibusuki A, Hashiguchi T, Kanekura T, 16) High-fat diet exacerbates imiquimod-induced psoriasis-like dermatitis in mice, *Exp Dermatol*, 査読有, Vol.27, No.2, 2018, 178-184. DOI: 10.1111/exd.13484. Epub 2018 Jan 9.
2. Baba N, Fujii K, Ibusuki A, Higashi Y, Kawai K, Kanekura T, Secondary skin involvement by systemic de novo CD5-positive diffuse large B-cell lymphoma, *J Dermatol*, 査読有, Vol.45, No.1, 2018, e15-e16. DOI: 10.1111/1346-8138.14082.
3. Baba N, Ibusuki A, Higashi Y, Ishii N, Hashimoto T, Yoshimitsu M, Kanekura T, Anti-laminin-332-type mucous membrane pemphigoid in a patient with adult T-cell leukemia/lymphoma and graft-versus-host disease, *J Dermatol*, 査読有, Vol.44, No.11, 2017, e300-e301. DOI: 10.1111/1346-8138.13977. Epub 2017 Aug 3.

〔学会発表〕(計13件)

1. 指宿敦子、西馬場理恵、内田洋平、藤井一恭、東裕子、西川拓朗、河野嘉文、金蔵拓郎、同種臍帯血移植後、皮膚症状が著明に改善した Omenn 症候群の1例、第178回日本皮膚科学会鹿児島地方会、2017年
2. 野元裕輔、山筋好子、川平尚生、指宿敦子、内田洋平、多田浩一、藤井一恭、東裕子、井内寛之、宮下圭一、大堀純一郎、平木翼、西正行、谷本昭英、金蔵拓郎、右前額部原発の malignant spiradenoma の1例、第178回日本皮膚科学会鹿児島地方会、2017年
3. 馬場直子、東裕子、指宿敦子、藤井一恭、石井文人、橋本隆、金蔵拓郎、眼内再発成人 T 細胞白血病/リンパ腫(ATLL)に抗ラミニン 332 型粘膜類天疱瘡を合併した1例、第178回日本皮膚科学会鹿児島地方会、2017年
4. 指宿敦子、山筋好子、川平尚生、内田洋平、多田浩一、藤井一恭、東裕子、井内寛之、宮下圭一、大堀純一郎、平木翼、谷本昭英、金蔵拓郎、右前額部原発の malignant spiradenoma の1例、第33回日本皮膚悪性腫瘍学会、2017年
5. 指宿敦子、西馬場理恵、内田洋平、藤井一恭、東裕子、西川拓朗、河野嘉文、金蔵拓郎、特徴的な皮疹で発症した Omenn 症候群の1例、第116回日本皮膚科学会総会、2017年
6. 馬場直子、東裕子、指宿敦子、藤井一恭、石井文人、橋本隆、金蔵拓郎、網膜に成人 T 細胞白血病/リンパ腫が再発し抗ラミニン 332 型粘膜類天疱瘡を合併した1例、第116回日本皮膚科学会総会、2017年
7. 指宿敦子、馬場直子、東裕子、藤井一恭、金蔵拓郎、全身性エリテマトーデス患者に生じた播種性ノカルジア症の1例、第40回皮膚脈管・膠原病研究会、2017年

8. Yamada K, Wang J, Ibusuki A, Matsushita K, Kanekura T, High glucose activates claudin-1 and filaggrin expression: possible mechanism of the anti-inflammatory effect by repairing the skin barrier, 日本研究皮膚科学会第41回年次学術大会・総会, 2016年

合同皮膚科地方会、2016年

〔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：  
出願年月日：  
国内外の別：

9. 指宿敦子、東 裕子、内田洋平、藤井一恭、間世田佳子、金蔵拓郎、アルコール性肝硬変の患者に生じた壊死性遊走性紅斑の1例、第176回日本皮膚科学会鹿児島地方会、2016年

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

10. 指宿敦子、東 裕子、松岡温子、川平尚生、多田浩一、藤井一恭、金蔵拓郎、抗デスモグレイン1抗体陽性、抗デスモグレイン3抗体陰性で口腔内病変のみが認められた天疱瘡の1例、第68回日本皮膚科学会西部支部学術大会、2016年

〔その他〕  
ホームページ等

11. 指宿敦子、東 裕子、久留敏晴、地村 望、多田浩一、藤井一恭、金蔵拓郎、テオフィリン徐放製剤の後発医薬品による即時型アレルギーの1例、第46回日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会、2016年

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

指宿 敦子 (IBUSUKI, Atsuko)  
鹿児島大学・医歯学域附属病院・助教  
研究者番号：10596109

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

12. 山田きよ子、王 静舒、指宿敦子、松下健二、金蔵拓郎、高濃度グルコース局所塗布によるClaudin-1およびFilaggrinの発現誘導：皮膚バリア修復による炎症改善の可能性、第46回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会、2016年

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

13. 川平尚生、松岡温子、地村 望、多田浩一、指宿敦子、藤井一恭、東 裕子、金蔵拓郎、PSL加療中に皮下気腫、縦隔気腫、気胸をきたした好酸球増多症候群の1例、日本皮膚科学会第13回南九州地区

##### (4) 研究協力者

( )