

令和元年6月16日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K21292

研究課題名(和文) 脱メチル化酵素LSD1をターゲットとした新規分子標的治療薬の開発と応用

研究課題名(英文) Development of the novel cancer agents targeting LSD1 for hepatocellular carcinoma

研究代表者

速水 晋也 (Hayami, Shinya)

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：00468290

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：今回リン酸化と異なる新規pathwayとして、LSD1(Lysine-specific demethylase 1) / KDM1A (Lysine Demethylase 1A) による脱メチル化をターゲットとした、新しい分子標的治療薬の開発を行って臨床応用することを目的とした。303例の肝細胞癌において検討し、生存解析を行ったところ、LSD1の高発現群では、5年全生存・無再発生存において、有意に生存率が不良であり、多変量解析において独立した予後不良因子であった。LSD1阻害剤が理想的な分子標的治療薬となりうる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では肝細胞癌における、脱メチル化酵素LSD1の寄与について検討した。LSD1が高発現している肝細胞癌においては予後不良であることを証明し、独立した危険因子であることを証明し得た。本研究は最終的に303例という大きな症例数を有しており、かつ詳細なデータベースに基づく解析を行った点で、非常に信頼性が高く貴重な検討であると考えられる。今後LSD1が肝細胞癌をターゲットとした新規分子標的治療薬として、臨床応用できるようさらなる検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is development and clinical application of a new molecular target therapeutic drug, targeting demethylation by LSD1 (Lysine-specific demethylase 1) / KDM1A (Lysine Demethylase 1A), as a novel pathway different from the kinase inhibitor. We first performed immunohistochemical analysis using anti-LSD1 antibody. Survival analysis showed that the survival rate in LSD1-high expression group was significantly poor in five-year overall survival and recurrence-free survival. LSD1-high expression was also an independent poor prognostic factor in multivariate analysis. It has been suggested that LSD1 inhibitors may be ideal molecular targeted therapeutic agents.

研究分野：消化器外科

キーワード：分子標的治療薬 肝細胞癌 脱メチル化 LSD1

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

#### 1. 研究開始当初の背景

肝細胞癌は世界で2番目の死因となる悪性新生物であり、特に日本を含めた東アジア地域でその発生が多い。肝細胞癌は根治的切除を施行できても高率に再発を来し、次第に治療に難渋していく症例が多く、予後不良な癌種の一つであるといえる。肝細胞癌に対する分子標的治療薬として、2009年5月には multikinase inhibitor であるソラフェニブが初めて臨床応用され、その後2017年5月にレゴラフェニブ、2018年3月に REFLECT 試験を受けた期待の新薬としてレンパチニブが承認・保険収載された。その後もカボザンチニブやラムシルマブといった複数の新薬の臨床試験が成功し、保険収載を待っている状態であるが、肝細胞癌の発生・再発メカニズムは複雑であり、制御できている状態とは言い難い。肝細胞癌増殖にかかわる経路 (pathway) は複数あると考えられ、これらがそれぞれサロゲートすることが肝細胞癌の治療の困難性の原因の一つであると考えられる。そこで今回全くの新規経路としてタンパクメチル化に焦点を当て、methyltransferase/demethylase inhibitor を機序とした新規分子標的治療薬の開発を目指し、難治癌である肝細胞癌を制することを悲願とし、研究を行うこととした。

#### 2. 研究の目的

本研究では LSD1(Lysine-specific demethylase 1) / KDM1A (Lysine Demethylase 1A) による脱メチル化をターゲットとした、新しい分子標的治療薬の開発を行って臨床応用することを最大の目的とした。そこでまず LSD1 発現様式が肝細胞癌において果たす臨床的意義の解明ならびにその結果に基づいた臨床的意義に基づいた機能解析を行った。

#### 3. 研究の方法

当研究室が有している肝細胞癌サンプル(手術標本)を用い、免疫組織学的検討を行ってタンパクレベルでの LSD1 の発現をチェックした。再発/転移・予後との相関等を中心に統計学的解析を行い、LSD1 高発現が肝細胞癌において果たす臨床的意義を解明した。

#### 4. 研究成果

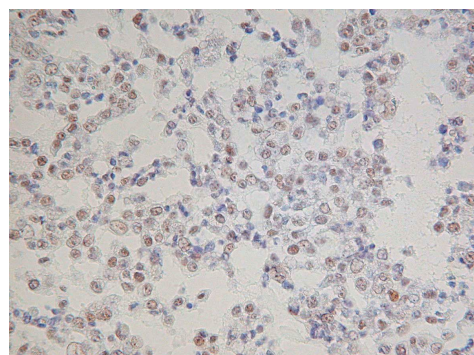
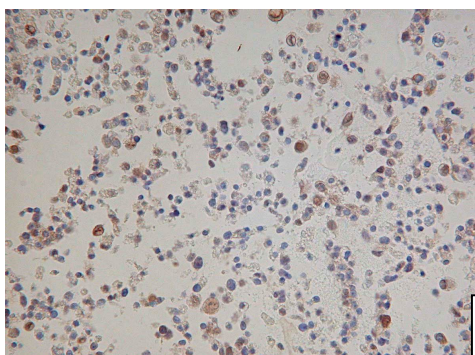
##### < 肝細胞癌における LSD1 発現解析 >

抗 LSD1 抗体を用いて HepG2・Huh7・SNU475 といった肝細胞癌細胞株に対し免疫染色を行ったところ、非常に強い発現が見られた(図 1A-C)。

正常組織における mRNA レベルの発現は非常に低いものであることを、すでに研究代表者が確認し論文として発表している (Hayami S et al. *Int J Cancer*. 128:574-86. 2011)

LSD1 特異的 siRNA を癌細胞株に処理すると、コントロールと比較して統計学的有意に発現低下が見られた。

以上3要件を満たすことより、LSD1 が肝細胞癌をターゲットとした新規分子標的治療薬として、理想的なターゲットである可能性を有していることを確認した。



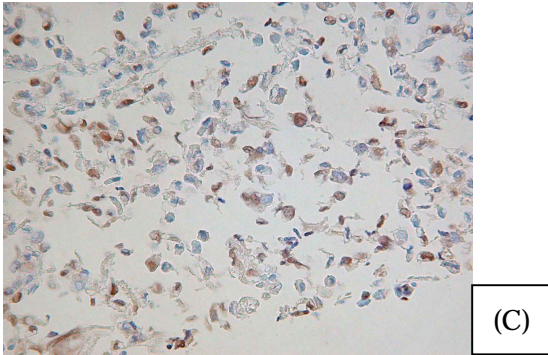


図1 肝細胞癌細胞株を用いた免疫染色 (A) HepG2 (B)Huh7 (C)SNU475

<LSD1 高発現が肝細胞癌において果たす臨床的意義>

当科で手術を行った 303 例を用いて、免疫染色を行った。以前の報告を基に発現のスコアリングを行うと(Pathologie 1987; 8:138-40, BJU international 2011; 109:459-465, Cancer 2011; 117:5121-5132)、LSD1 は局在する核において染色され、LSD1 negative group と LSD1 positive group に分類し、その後の統計解析を行った。

患者因子として性別・年齢・アルコール摂取歴・B 型肝炎/C 型肝炎ウイルス感染歴に関して両群に統計学的有意差を認めなかった。

血液検査では両群に明らかな有意差を認めなかった。

腫瘍因子としては、腫瘍サイズ・腫瘍数・分化度(高/中/低)では両群に差を認めなかったが、LSD1 positive group において T 因子がより進行しており(T3/T4)、門脈浸潤が有意に多いという結果が得られた。

そこで生存解析を行ったところ、5 年全生存・無再発生存において、LSD1 positive group では LSD1 negative group と比較して有意に生存率が不良であり(両者とも  $p < 0.01$ )、多変量解析において LSD1 高発現は 5 年全生存・無再発生存の両者において独立した予後不良因子であった。

これらの結果より、LSD1 は肝細胞癌における予後不良因子であり、LSD1 を阻害することによって理想的な分子標的治療薬となりうる可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

Deregulation of the histone demethylase LSD1 is involved in hepatocellular carcinoma.  
金 翔哲, 金子 修三, 速水 晋也, 山上 裕機, 浜本 隆二 第 77 回日本癌学会総会

〔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：  
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) 研究協力者

研究協力者氏名：  
ローマ字氏名：

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。