

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：32660

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15223

研究課題名(和文) ドパミンシグナル阻害剤による抗腫瘍効果機序の解明

研究課題名(英文) Analysis of antitumor effect mechanism by dopamine signal inhibitor

研究代表者

岡崎 章悟 (Okazaki, Shogo)

東京理科大学・研究推進機構生命医科学研究所・助教

研究者番号：20784044

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ドパミンシグナル阻害剤による抗腫瘍効果機序の解明を目的として研究を行った。ドパミンシグナル阻害剤は細胞内過酸化水素の蓄積を誘導することにより抗腫瘍効果を示すことが明らかとなった。また、ドパミン受容体のみならず、セロトニン受容体に対しても阻害効果を示しており、それが抗腫瘍効果に寄与する可能性が示された。本研究により腫瘍細胞におけるドパミン・セロトニン受容体の機能の一端が明らかとなり、新規がん治療標的となる可能性を示すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん細胞における治療抵抗性は、臨床上の最も深刻な課題の一つである。本研究では、治療抵抗性癌細胞に対してドパミン受容体に対するアンタゴニストが抗腫瘍効果を示すという結果に基づき、腫瘍細胞におけるドパミン受容体の機能解析及びその抗腫瘍効果機序の解析を行った。その結果、ドパミン受容体アンタゴニストによる抗腫瘍効果機序の一端を明らかとし、また、ある種のセロトニン受容体についても悪性腫瘍の進展に寄与している可能性を見出した。この研究成果により、ドパミンおよびセロトニン受容体を標的とすることで新たな癌治療の開発への発展の可能性を示すことができた。

研究成果の概要(英文)：In this study, I analyzed anti-tumor mechanism of dopamine signal inhibitors. I found that dopamine receptor antagonist induces accumulation of hydrogen peroxide in tumor cells.

This mechanism contributes to anti-tumor effect of dopamine receptor antagonist. Furthermore, I identified that antagonistic effect against serotonin receptors may also contribute to antitumor effect of dopamine receptor antagonist. This study revealed potential of dopamine/serotonin signal as novel tumor therapy target.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：悪性腫瘍 ドパミン セロトニン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍における治療抵抗性の克服は癌治療におけるもっとも重要な課題の一つであるが、近年、その機序に癌幹細胞の寄与が明らかとなっている。癌幹細胞はさまざまな機構により治療抵抗性を獲得していることが示されているが、その機序の一つとして酸化ストレス抵抗性が挙げられる。放射線治療やある種の抗癌剤は活性酸素種の産生を介した細胞障害を誘導することが知られており、癌幹細胞においては酸化ストレス抵抗性の亢進により治療抵抗性を獲得していることが報告されている。これまでの研究において、治療抵抗性癌細胞における酸化ストレス抵抗性を標的とした既承認薬スクリーニングを行ったところ、ドパミンアンタゴニストの一つであるピモジドが顕著な細胞内活性酸素種の蓄積を誘導することおよび In vivo 抗腫瘍効果を示すことが明らかとなった。また、他のドパミンシグナル阻害剤においても同様の作用が確認されたことから、ドパミンシグナルが癌細胞における酸化ストレス制御に寄与していることが示唆された。一方、ドパミンシグナルが酸化ストレスを制御する機序は不明であった。

2. 研究の目的

ピモジドをはじめとするドパミンアンタゴニストが活性酸素種の蓄積を誘導する機序およびその抗腫瘍効果を示す機序を明らかとすることで、腫瘍生物学におけるドパミンシグナルの機能を明らかとし、また、癌治療におけるドパミン受容体アンタゴニストの臨床応用に向けた基盤を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) ドパミンシグナル阻害剤により誘導される活性酸素種の同定

ドパミンシグナル阻害剤により誘導される活性酸素種の種類を同定するため、ピモジドを作用させた腫瘍細胞を各種活性酸素種に特異的なプローブにて染色し、フローサイトメリーにて解析した。

(2) ピモジドの標的受容体の探索

ドパミン受容体アンタゴニストの標的と考えられる受容体について、公共データベースを用いた遺伝子発現解析を行った。また、RNA 干渉法による受容体のノックダウンを行い、その腫瘍細胞の性状を評価することにより標的受容体の探索を行った。

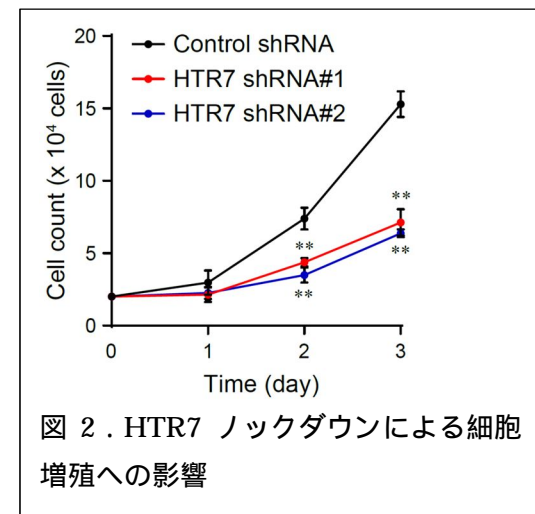
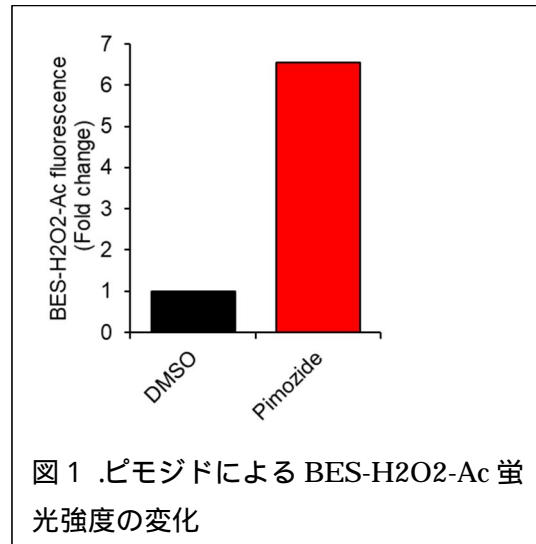
4. 研究成果

(1) ドパミンシグナル阻害剤により誘導される活性酸素種の同定

ピモジドを口腔扁平上皮癌細胞株 OSC19 に添加し、2 時間後の細胞内活性酸素種を、広範な活性酸素種に対して反応性を示す活性酸素プローブ H2DCF-DA、ヒドロキシラジカルなどの高反応性活性酸素種特異的プローブ Aminophenyl Fluorescein (APF)、H2O2 特異的プローブ H2O2-BES-Ac (図 1) を用いて評価した。蛍光強度を Flow cytometry にて評価したところ、H2DCF-DA、BES-H2O2-Ac (図 1) においては顕著な蛍光強度の増加が認められた一方で APF においてはその変化はほとんど認められなかった。さらに、ドパミン合成阻害剤であるベンセラジドによる細胞内過酸化水素レベルの変化を検討したところ、ピモジド同様にその上昇が認められた。これらの結果より、ドパミンシグナル阻害剤により誘導される活性酸素種は過酸化水素であり、その蓄積がピモジドなどのドパミンシグナル阻害剤による抗腫瘍効果に関与することが示唆された。

(2) ドパミン受容体アンタゴニスト標的受容体の探索

ドパミン受容体アンタゴニストはその多くがドパミン受容体のみならず、セロトニン受容体などの他のモノアミン受容体に対しても阻害作用を有することが知られているため、公共データベースである The Cancer Genome Atlas (TCGA) を用いて、口腔扁平上皮癌における各種ドパミン受容体およびセロトニン受容体の発現を解析した。その結果、セロトニン受容体 HTR7 が最も高発現しており、また、予後不良と相関することが示された。さらに、HTR7 は正常組織と比較し、腫瘍組織において高発現することが示された。興味深いことに、HTR7 はピモジドの標的受容体の一つとされ



ていることから、HTR7 がピモジドの抗腫瘍効果における標的受容体の一つである可能性を考え、解析を行った。口腔扁平上皮癌において HTR7 が発現しているか検討を行うため、複数種類の口腔扁平上皮癌細胞株において定量的 PCR による HTR7 発現の検討を行ったところ、すべての細胞株において HTR7 の発現が認められた。次に、比較的高い HTR7 の発現が認められた HSC-2 細胞において Short hairpin RNA による HTR7 のノックダウンを行い、その細胞増殖について検討を行ったところ、In vitro において HTR7 ノックダウンにより明らかな細胞増殖の低下が認められた。以上のことから、HTR7 は口腔扁平上皮癌における細胞増殖の制御に関与していると思われ、ピモジドによる抗腫瘍効果における、標的受容体の一つである可能性が示唆された。次に、ピモジドにより誘導される酸化ストレスが HTR7 を介しているか検討を行うため、HTR7 をノックダウンした HSC-2 細胞における細胞内活性酸素種レベルを検討した。その結果、HTR7 ノックダウンにおいては明らかな細胞内活性酸素種レベルの上昇は認められなかった。このことから、ピモジドによる酸化ストレス誘導機序は HTR7 を介さない作用であると考えられる。以上の結果より、ピモジドは酸化ストレスの誘導と、HTR7 に対する阻害作用という複数の機序により抗腫瘍効果を発揮していると考えられた。

ピモジドが抗腫瘍効果を示す詳細な機序についてはまだ不明な点が多く残されているものの、本研究において口腔扁平上皮癌において HTR7 が高発現しており、また、機能的に細胞増殖を制御していることが示唆され、ピモジドが HTR7 を標的とした新規治療へ応用できる可能性が示された。

HTR7 は正常組織で発現が低く、腫瘍組織に高発現していること、また、予後不良と相関するなどとからも有望な治療標的であると考えられるが、腫瘍の進展におけるその機能的役割など、不明な点が多く残されており、今後もその機能に着目し、解析を進める予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Okazaki Shogo, Shintani Subaru, Hirata Yuki, Suina Kentaro, Semba Takashi, Yamasaki Juntaro, Umene Kiyoko, Ishikawa Miyuki, Saya Hideyuki, Nagano Osamu	4. 巻 9
2. 論文標題 Synthetic lethality of the ALDH3A1 inhibitor dyclonine and xCT inhibitors in glutathione deficiency-resistant cancer cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 33832-33843
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.26112	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ogihara Koichiro, Kikuchi Eiji, Okazaki Shogo, Hagiwara Masayuki, Takeda Toshikazu, Matsumoto Kazuhiro, Kosaka Takeo, Mikami Shuji, Saya Hideyuki, Oya Mototsugu	4. 巻 110
2. 論文標題 Sulfasalazine could modulate the CD 44v9 xCT system and enhance cisplatin induced cytotoxic effects in metastatic bladder cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1431 ~ 1441
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13960	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Suina Kentaro, Tsuchihashi Kenji, Yamasaki Juntaro, Kamenori Shohei, Shintani Subaru, Hirata Yuki, Okazaki Shogo, Sampetean Oltea, Baba Eishi, Akashi Koichi, Mitsuishi Yoichiro, Takahashi Fumiyuki, Takahashi Kazuhisa, Saya Hideyuki, Nagano Osamu	4. 巻 109
2. 論文標題 Epidermal growth factor receptor promotes glioma progression by regulating xCT and GluN2B-containing N-methyl-d-aspartate-sensitive glutamate receptor signaling	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 3874 ~ 3882
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13826	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ueda Shiho, Hayashi Hidemi, Miyamoto Takako, Abe Shinya, Hirai Kana, Matsukura Kanji, Yagi Hideki, Hara Yuta, Yoshida Kinji, Okazaki Shogo, Tamura Masakazu, Abe Yuki, Agatsuma Toshinori, Niwa Shin ichiro, Masuko Kazue, Masuko Takashi	4. 巻 110
2. 論文標題 Anti tumor effects of mAb against l type amino acid transporter 1 (LAT1) bound to human and monkey LAT1 with dual avidity modes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 674 ~ 685
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13908	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Shogo Okazaki, Subaru Shintani, Yuki Hirata, Hideyuki Saya, Osamu Nagano
2. 発表標題 Combinatorial inhibition of xCT and ALDH3A1 induces synthetic lethality in xCT inhibitor-resistant cancer cells
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Jun Saitoh, Nobuyuki Onishi, Eiji Sugihara, Shogo Okazaki, Hiroyuki Nobusue, Takashi Kasama, Hideyuki Saya
2. 発表標題 Benzaldehyde inhibits the multiple signals and E2F transcription in cancer cells by suppression of overexpressed 14-3-3
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sugihara Eiji, Norisato Hashimoto, Satoru Osuka, Sayaka Ueno, Takatsune Shimizu, Shogo Okazaki, Taka-aki Sato, Shinichiro Okamoto, Hideyuki Saya
2. 発表標題 BRD4 regulates the expression of Livin and thereby confers resistance to Fas-mediated immune cytotoxicity in aggressive B-cell lymphoma.
3. 学会等名 AACR Annual Meeting 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shohei Kamenori, Kentaro Suina, Juntaro Yamasaki, Subaru Shintani, Yuji Otsuki, Yuki Hirata, Shogo Okazaki, Kenji Tsuchihashi, Oltea Sampetean, Yoichiro Mitsuishi, Fumiyuki Takahashi, Kazuhisa Takahashi, Hideyuki Saya, Osamu Nagano
2. 発表標題 SLC7A11 expression confers cancer stem-like properties in small cell lung cancer cells.
3. 学会等名 AACR Annual Meeting 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuki Hirata, Osamu Nagano, Yoshiyuki Saito, Juntaro Yamasaki, Subaru Shintani, Kentaro Suina, Shogo Okazaki, Hirofumi Kawakubo, Hideyuki Saya, Yuko Kitagawa
2. 発表標題 A novel gastric cancer mouse model by using organoid technique and genetic manipulation
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----