

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16357

研究課題名（和文）新規オートファジー関連分子を標的とした大腸癌新規治療法の開発

研究課題名（英文）Development of new treatment for colorectal cancer targeting new autophagy-related molecules

研究代表者

岩本 和哉（Iwamoto, Kazuya）

大阪大学・医学系研究科・招へい教員

研究者番号：80781723

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）：大腸癌の手術検体に対する免疫染色の解析の結果、Syntenin-1が大腸癌の強力な予後不良因子となりうることを発見した。また、大腸癌細胞実験において抗癌剤耐性や癌幹細胞増殖能に関連して悪性度を上昇させていることが分かった。そして、網羅的遺伝子解析を行うことで、炎症に対する免疫機構が関与していることを解明し、その阻害に既存の抗炎症薬であるCOX-2阻害薬(celecoxib)が有用である可能性を細胞実験において見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸癌は依然として予後不良疾患であり、新規治療薬が世界中で期待されている。しかし、新規治療薬の発見、開発には多くの労力を要し、金銭的障壁も存在する。本研究は、既存の抗炎症薬であるcelecoxibが、これまでの抗がん剤などの薬物治療とは異なるメカニズムで抗腫瘍効果を発揮する可能性を見出した。実臨床においてこの有用性が証明されれば、既存の薬物による大腸癌に対する新規治療薬となる。

研究成果の概要（英文）：As a result of immunostaining analysis on surgical specimens of colorectal cancer, it was found that Syntenin-1 can be a strong prognostic factor for colorectal cancer. In addition, it was found in a colorectal cancer cells experiment that malignancy was increased in relation to chemoresistance and cancer stem cell proliferation ability. Then, by total RNA sequence, it was clarified that the immune mechanism against inflammation is involved, and the possibility that the existing anti-inflammatory drug COX-2 inhibitor (celecoxib) may be useful for its inhibition found in vitro.

研究分野：大腸癌

キーワード：大腸癌 オートファジー 慢性炎症

1. 研究開始当初の背景

国立がん研究センターの2016年におけるがん罹患数、死亡数予想では、大腸癌は罹患率では1位、死亡者数では肺癌について2位となっているばかりでなく、高齢化ならびに食生活の欧米化に伴い、ますます増加している。一方で、進行再発大腸癌の治療に関しては、薬物療法や重粒子線などの選択肢が出現してきているものの、根治に至る症例は限られている。以上のことを考えると、現状で可能な集学的治療を積極的に行うにもかかわらず、救命しえない進行再発大腸癌患者がますます増加することが容易に予測されることから、従来の治療法とは異なる新しい観点からの大腸癌治療戦略の構築が必要である。

ほとんどの癌種において、化学療法を施行すると、一定の割合で抗癌剤耐性を獲得し、治療が効かなくなる。この化学療法抵抗性を獲得するのに関与しているされているのが、オートファジーである。オートファジーは生命維持のために正常細胞内でタンパクを分解する機構であり、ストレス環境下などの悪条件でも恒常性を維持するために重要な役割を持っている。しかし先述したように、化学療法によるストレス環境下でオートファジーが誘導され、結果化学療法に対する耐性を獲得することが分かっており、さらにオートファジー阻害剤を抗がん剤と併用することでこれを抑制できる可能性が示唆されている(Saqmaddar J S et al. Mol Cancer Ther(2008))。しかし、現在使用されているオートファジー阻害剤は抗マラリア薬として利用されているクロロキシンやヒドロキシクロロキシンであり、網膜症などの副作用の観点から、癌におけるオートファジーを利用した化学療法抵抗性の獲得の機序を明らかにし、より特異的な新たなオートファジー阻害薬の開発が望まれる。

我々は、syntenin-1 という分子に着目した。これは主に細胞質内に存在するタンパクであり、PDZドメインを2つもつことで種々のレセプターに結合することが分かっている。Syntenin-1は多くの癌において悪性度と関与していることが分かっているが、その機序は不明である。また、この分子がオートファジー関連分子であるULK1と結合することは分かっているが、オートファジーとの関与は示されていない。

2. 研究の目的

オートファジーとは、正常細胞において細胞内タンパクを分解する機構であり、代謝ストレス下などの悪条件において恒常性を維持する重要な役割がある。また、その機構に関与する分子はこれまでに複数同定されている。近年では、オートファジーががん細胞に有利に働くと報告されており、特に抗がん剤の投与によるストレス環境下において、オートファジーの誘導により化学療法耐性を上昇させることが判明した。我々は大腸癌において過去に報告のないオートファジーの誘導に関与する分子を発見し、この分子が予後規定因子ともなることを同定した。本研究では、大腸癌においてのこの新規分子によるオートファジーの誘導と化学療法耐性の獲得機構を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

平成29年度：

1.大腸癌における根治切除後予後予測因子としての syntenin-1 の性能の評価

パイロットスタディーとして当院において手術を受けた150例の大腸癌患者の臨床検体に対して、syntenin-1の免疫組織染色を行ったところ、予後との強い相関を認めた。大腸癌の根治切除後、ステージ分類であれば補助化学療法を施行せずに、約90%の5年生存率と良好な結果を残している。しかし一方で、脈管侵襲や未分化癌、直腸癌、穿孔例など、同じステージであっても再発高リスク因子を伴っている症例では、再発の可能性が高まるため、補助化学療法の必要性が議論されているが、リスク因子を含めいまだ明確なコンセンサスは示されていない。当科で行った前述の結果から、syntenin-1が大腸癌予後における、新たな予測因子となりうることを示唆された。つまりこれまでのステージの再発高リスク症例とされてきたものに対しても新たな予測因子となる可能性がある。また、化学療法が必要となるステージ・症例でも、我々の仮説に従えば化学療法耐性が上昇しやすいことが予想され、同様に

治療成績を予測することができる可能性がある。

今後はすでに当科で豊富に保有している臨床検体を用いて大規模な検討を行うことで新規の予後予測因子としての性能の評価を行う。

2.大腸癌細胞株での syntenin-1 発現の意義の解明

複数の大腸癌細胞株における syntenin-1 の発現量を評価する。さらに細胞レベルでの発現量の変化による細胞機能評価を行うため、syntenin-1 の knock down 株と over expression 株を作成し、細胞増殖能や遊走能の変化を認めるかを評価し、癌の進展に関わるかどうかを検討する。また、同様に syntenin-1 の発現が変化した細胞株において、大腸癌に対して一般的に使用される抗癌剤である 5-FU・オキサリプラチン・イリノテカンに対しての化学療法抵抗性の変化が認められるかを評価する。

平成 30 年度：

3.大腸癌細胞株での syntenin-1 発現抑制とオートファジー活性の評価

大腸癌細胞株において、syntenin-1 発現のコントロール株・KD 株・OE 株において、ULK1 とリン酸化 ULK1 の評価と syntenin-1 発現量の相関関係の評価を行い、さらにこれらのオートファジー活性の評価を行う。また、オートファジー活性と、先述の化学療法抵抗性の相関関係についても評価を行う。

4.マウスモデルでの syntenin-1 阻害によるオートファジー抑制と抗腫瘍効果の評価

先述した大腸癌細胞株の xenograft モデルにおいて同様にオートファジー活性を評価し、さらに既存のオートファジー阻害薬であるクロロキンやヒドロキシクロロキンを投与しその効果を評価する。さらに、大腸癌モデルのマウスを用いて、抗マウス Syntenin-1 抗体を使用し腫瘍増殖抑制・オートファジー抑制効果について評価する。また、5-FU・オキサリプラチン・イリノテカンに対する抗腫瘍効果を評価する。

5.ヒト組織由来サンプルでの抗 syntenin-1 阻害薬による副作用予測

大腸癌細胞株・マウスモデルを用いて抗 syntenin-1 阻害薬の薬物動態・薬効・副作用予測を行う。その後、ヒト組織由来サンプルを使用し、in vitro での副作用予測を行い、創薬へとつなげる。特に既存のオートファジー阻害薬で報告されている網膜症などの重篤な副作用を評価する(既存薬より有意に頻度が低ければ非常に有意義と考える)。

4 . 研究成果

大腸癌における syntenin-1 の意義は臨床病理学的に明らかとなり、予後不良因子である可能性が高い結果であった。また、in vitro においても、悪性度に関与していることを裏付ける結果を得た(遊走能・化学療法抵抗性・癌幹細胞増殖能)。

ただ、オートファジー関連タンパクとの発現の相関は認められず、オートファジー活性にも関連は認めなかった。

そこで我々は網羅的遺伝子解析を行い、syntenin-1 があるタンパクの発現に関係していることを発見し、それによる悪性度の獲得を得ていることを in vitro で確認した。プロスタグランジン E2 のレセプターである EP2 の発現に関与していた。この効果を、炎症抑制効果のある COX-2 阻害薬(celecoxib)によって減弱できる可能性が示され、今後、抗癌剤治療における併用療法の効果を期待できる可能性が出てきた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kazuya Iwamoto	4. 巻 -
2. 論文標題 Syntenin-1 promotes colorectal cancer stem cell expansion and chemoresistance by regulating prostaglandin E2 receptor	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岩本 和哉
2. 発表標題 Expression and function analysis of syntenin-1 in colorectal cancer
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