

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：11401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17393

研究課題名（和文）T細胞リンパ腫におけるHDAC阻害剤耐性機構の解明と耐性克服の治療戦略の確立

研究課題名（英文）Elucidation of HDAC inhibitor resistance mechanism in T-cell lymphoma and establishment of therapeutic strategies to overcome resistance

研究代表者

北館 明宏 (Akihiro, Kitadate)

秋田大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90791559

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）：HDAC阻害剤耐性細胞において、いくつかの遺伝子発現変化を見出しており、特にJAK/STAT経路の活性化や、サイトカイン関連シグナルの異常、抗アポトーシス関連遺伝子の発現変化などが挙げられる。HDAC阻害剤耐性細胞の脆弱性を明らかにするため、薬剤スクリーニングを用いた表現型スクリーニングを行った。その中で、プロテアソーム阻害剤であるボルテゾミブへの顕著な感受性亢進を見出した。これらの知見はHDAC阻害剤に対して耐性を獲得したT細胞リンパ腫治療戦略の確立に重要な示唆をもたらすものと思われる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HDAC阻害剤への耐性機構として、gp130を介したJAK/STAT経路活性化や、ヒストンアセチル化抑制などを見出した。これらの知見から、gp130阻害あるいはJAK/STAT経路の阻害、そして抑制されたヒストンアセチル化を回復させるプロテアソーム阻害など、いくつかの新たな治療標的を見出すことができた。これらの知見は、HDAC阻害剤治療後の再発難治性T細胞リンパ腫に対する新たな治療戦略構築のための重要な根拠となりうると考える。

研究成果の概要（英文）：In HDAC inhibitor-resistant cells, we have found several gene expression changes, especially JAK/STAT pathway activation, abnormal cytokine-related signaling, and changes in the expression of anti-apoptotic genes. Phenotypic screening using drug screening was performed to clarify the vulnerability of HDAC inhibitor-resistant cells. Among them, we found marked hypersensitivity to bortezomib, a proteasome inhibitor. These findings may provide important suggestions for establishing therapeutic strategies for T-cell lymphomas that have acquired resistance to HDAC inhibitors.

研究分野：血液内科

キーワード：T細胞リンパ腫 HDAC阻害剤 JAK/STAT gp130 プロテアソーム阻害

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年がんの病態においてジェネティックな遺伝子異常に加えて、様々なエピジェネティック異常の蓄積が関与していることが明らかになってきた。ヒストン修飾や DNA メチル化などがその代表であり、とりわけ血液腫瘍においてはその臨床応用が他分野に先駆けて進んでいる。実際、DNA メチル化阻害剤は、急性骨髄性白血病や骨髄異形成症候群で臨床応用されており、ヒストン脱アセチル化酵素(Histone Deacetylase、以下 HDAC)阻害薬は皮膚 T 細胞リンパ腫(Cutaneous T Cell Lymphoma、以下 CTCL)においてボリノスタットが、末梢性 T 細胞リンパ腫においてロミデプシン、ツシジノスタットが臨床応用されている。DNA メチル化や HDAC 活性化は悪性リンパ腫のみならず、肺癌・乳癌を始めとした多くの固形腫瘍において認められ、DNA メチル化阻害剤・HDAC 阻害剤の臨床応用が様々ながん種で試みられてきた。しかしながら、固形腫瘍においてはこれらの薬剤を用いた治療は臨床的な有効性を示してはならず、いまだ臨床的な有効性が示されているのは白血病・リンパ腫などの血液腫瘍のみである。したがって、血液腫瘍はエピジェネティック治療の開発における良いモデルであるといえる。

我々のグループではこれまで T 細胞性リンパ腫を中心として エピジェネティックな異常である microRNA や HDAC の発現異常とその病態への関与を報告してきた(Yamanaka Y et al. 2010 *Blood*, Watanabe A et al. 2012 *Leukemia*, Ito M et al. 2014 *Blood*, Kitadate A et al. *Oncogene*, Abe F et al. *Oncotarget* 2016, Kitadate A et al. *Haematologica* 2018, Matsuda Y et al. *Cancer Science* 2022)。その理由として、T 細胞性リンパ腫では B 細胞性リンパ腫と異なり特徴的な染色体異常・遺伝子異常が同定されておらず、エピジェネティックな異常が病態に大きく関与していることが考えられたためである。HDAC 活性化による細胞老化・アポトーシス抑制や、がん抑制的 microRNA の発現抑制などを報告してきたが、重要な点として、HDAC 阻害剤で治療した T 細胞リンパ腫患者の多くがいずれ再発をきたすという点が挙げられる。したがって、HDAC 阻害剤で治療した患者が抵抗性を獲得して再発・再燃した際にどのような治療戦略が有用であるかを示すことが臨床における重要な課題であるといえる。

### 2. 研究の目的

本研究では、HDAC 阻害剤に耐性となった細胞株を作成し、耐性のメカニズムを詳細に検討する。耐性メカニズムを明らかとすることで、HDAC 阻害剤耐性細胞の脆弱性を明らかとし、T 細胞リンパ腫に対する新たな治療戦略を確立することが目的である。

### 3. 研究の方法

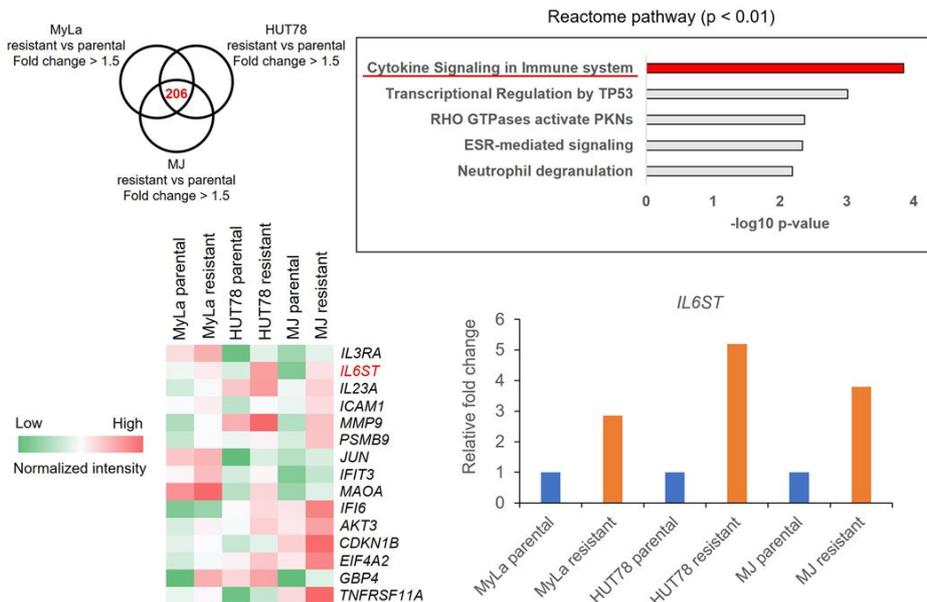
研究では、HDAC 阻害剤に耐性となったリンパ腫細胞においてどのような分子生物学的メカニズムが関与しているかを明らかにし、耐性克服のための新たな治療標的・治療戦略の開発への理論的根拠を構築する。具体的には以下の流れに沿って研究を計画した。

- 1) 皮膚 T 細胞リンパ腫細胞株 (MyLa, Hut78, MJ) を用いて HDAC 阻害剤耐性細胞株を作成する。汎 HDAC 阻害剤であるボリノスタットを低濃度から暴露し、徐々に濃度を上げていくことで、耐性細胞株を作成した。
- 2) 上記にて作成した細胞株と親株を用いて、マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を行い、耐性細胞で生じている遺伝子発現変化を検討した。
- 3) 耐性細胞株に対して、数十種の薬剤を用いた *in vitro* での薬剤スクリーニングを行い、親株に対して耐性株で顕著に感受性の亢進している薬剤を探索した。
- 4) 最終的に同定した耐性機序の原因となる遺伝子を標的とした治療の有用性について CRISPR/cas9 による遺伝子編集実験にて検証を行う。また、マウスモデルを用いて、標的治療の有用性を確認する。

#### 4. 研究成果

ポリノスタットに抵抗性を示す細胞株を作成し、ロミデプシンなどに対する感受性を確認したが、この耐性細胞株はロミデプシンにも抵抗性を示し、HDAC 阻害剤全般に対して耐性を示した。この耐性細胞株を用いて、親株との遺伝子発現変化を網羅的に解析した。結果、サイトカインシグナリングなどのいくつかのパスウェイの異常を同定した (図 1)。

図1



また、JAK/STAT 経路活性化に関与する、gp130 (IL6ST)の発現亢進を見出し、gp130 阻害剤や STAT 阻害剤による治療の可能性を検討し、耐性細胞のこれら薬剤への感受性亢進を見出した。この知見は 2022 年米国血液学会にて報告し (Takahashi Y et al. ASH 2022)、現在論文作成中である。

また、遺伝子発現変化では同定できない脆弱性につき評価する目的で、薬剤スクリーニングを用いた表現型スクリーニングを行った。この結果、プロテアソーム阻害剤であるボルテゾミブが耐性細胞株において顕著に感受性が亢進していることを見出した。現在、ボルテゾミブが感受性亢進する機序につき、耐性機序の原因と考える遺伝子の編集実験などを行い検証中である。これらの知見は、HDAC 阻害剤治療後の再発難治性 T 細胞リンパ腫に対する新たな治療戦略構築のための重要な根拠となりうると考える。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Akihiro Kitadate, Kentaro Narita, Kouta Fukumoto, Toshiki Terao, Takafumi Tsushima, Hiroki Kobayashi, Yoshiaki Abe, Daisuke Miura, Masami Takeuchi, Youichi Machida, Kosei Matsue	4. 巻 9
2. 論文標題 Baseline total lesion glycolysis combined with interim positron emission tomography-computed tomography is a robust predictor of outcome in patients with peripheral T-cell lymphoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 5509-5518
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cam4.3226	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 Sho Ikeda, Fumito Abe, Yuka Matsuda, Akihiro Kitadate, Naoto Takahashi, Hiroyuki Tagawa	4. 巻 111
2. 論文標題 Hypoxia-inducible hexokinase-2 enhances anti-apoptotic function via activating autophagy in multiple myeloma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4088-4101
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.14614	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 Akihiro Kitadate, Toshiki Terao, Kentaro Narita, Sho Ikeda, Yuto Takahashi, Takafumi Tsushima, Daisuke Miura, Masami Takeuchi, Naoto Takahashi, Kosei Matsue	4. 巻 112
2. 論文標題 Multiple myeloma with t(11;14)-associated immature phenotype has lower CD38 expression and higher BCL2 dependence	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 3645-3654
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.15073	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 Yuka Matsuda, Sho Ikeda, Fumito Abe, Yuto Takahashi, Akihiro Kitadate, Naoto Takahashi, Hideki Wakui, Hiroyuki Tagawa	4. 巻 113
2. 論文標題 Downregulation of miR-26 promotes invasion and metastasis via targeting interleukin-22 in cutaneous T-cell lymphoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1208-1219
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.15296	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 Wataru Kuroki, Akihiro Kitadate, Koichi Ishiyama, Yoshihiro Kameoka, Naoto Takahashi	4. 巻 116
2. 論文標題 High baseline total lesion glycolysis predicts early progression of disease within 24 months in patients with high-tumor-burden follicular lymphoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Hematology	6. 最初と最後の頁 712-722
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-022-03418-5	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 -

1. 著者名 Ko Abe, Sho Ikeda, Miho Nara, Akihiro Kitadate, Hiroyuki Tagawa, Naoto Takahashi	4. 巻 12
2. 論文標題 Hypoxia-induced oxidative stress promotes therapy resistance via upregulation of heme oxygenase-1 in multiple myeloma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 9709-9722
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.5679	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4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Yuto Takahashi, Akihiro Kitadate, Sho Ikeda, Sayaka Iwama, Ko Abe, Hiroyuki Tagawa, Hideki Wakui, Naoto Takahashi
2. 発表標題 STAT3 Is a Potential Therapeutic Target for Histone Deacetylase Inhibitor-Resistant Cutaneous T-Cell Lymphoma
3. 学会等名 第64回米国血液学会 (国際学会) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuto Takahashi, Akihiro Kitadate, Sho Ikeda, Sayaka Iwama, Ko Abe, Yuka Matsuda, Hiroyuki Tagawa, Hideki Wakui, Naoto Takahashi
2. 発表標題 GP130/STAT3 AXIS IS A POTENTIAL THERAPEUTIC TARGET FOR HISTONE DEACETYLASE INHIBITORRESISTANT CUTANEOUS T-CELL LYMPHOMA
3. 学会等名 第27回欧州血液学会 (国際学会) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋 裕斗、北舘 明宏、池田 翔、岩間 彩夏、阿部 滉、松田 悠佳、田川 博之、涌井 秀樹、高橋 直人
2. 発表標題 gp130/STAT3経路はヒストン脱アセチル化酵素阻害剤抵抗性の皮膚T細胞リンパ腫における有望な治療標的である
3. 学会等名 第84回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋 裕斗、北舘 明宏、池田 翔、松田 悠佳、田川 博之、高橋 直人
2. 発表標題 gp130/STAT3経路はヒストン脱アセチル化酵素阻害剤抵抗性の皮膚T細胞リンパ腫の潜在的な治療標的である
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------