

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：24303

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22853

研究課題名(和文) 消化器癌における新規癌関連遺伝子PBK/TOPKの癌化機構の解明と臨床応用

研究課題名(英文) The mechanisms of carcinogenesis of the novel cancer-related gene PBK / TOPK in gastrointestinal cancer and its clinical application

研究代表者

大橋 拓馬 (Ohashi, Takuma)

京都府立医科大学・医学部附属病院・専攻医

研究者番号：50888005

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌のPBK/TOPK分子機構の解明について、膵癌検体においてTP53ステータスとPBK/TOPKの関連を解析し同様の機序があるかどうかについてを検証したが、明らかな関連は同定できなかった。また癌抑制型microRNA等の制御分子機構についてPBK/TOPKをターゲットとするmiR-216bが、PBK/TOPKの発現抑制を介して肺癌の増殖抑制を誘導するという報告(Chai Y et al. Exp Ther Med 2018)があり、膵癌検体についてmiR-216bを含めたmicroRNAとPBK/TOPKの関連について検証したが候補となるmicroRNAは同定できなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PBK/TOPKは本邦で阻害剤の開発が進む極めて有望な治療的分子であり、難治癌である膵癌の新規の癌関連遺伝子、治療標的分子となる可能性がある。本研究は、難治癌である膵癌においてPBK/TOPKの診断・治療標的分子としての可能性を世界に先駆けて検証するものである。PBK/TOPKを標的分子とした新たな治療戦略の構築を可能とする、斬新な研究となるものとする。

研究成果の概要(英文)：Regarding the elucidation of the PBK / TOPK molecular mechanism of pancreatic cancer, we analyzed the correlation between TP53 status and PBK / TOPK in pancreatic cancer samples. No significant correlation could be identified. Regarding the regulatory molecular mechanism of tumor suppressor microRNA, we examined the relationship between microRNA including miR-216b and PBK / TOPK in pancreatic cancer samples. No candidate microRNA could be identified.

研究分野：消化器癌

キーワード：膵癌 PBK/TOPK

1. 研究開始当初の背景

胃癌の発癌の分子メカニズムの解明と新規の治療標的分子の同定を目的として MET、ERBB2 遺伝子増幅や p16 のメチル化、TP53、APC 遺伝子及び E カドヘリンの変異や カテニンや K-ras 等の癌関連遺伝子関与、マイクロサテライト安定性に関与する hMLH1 などの分子機構が解明されつつある (Ushijima and Sasako. *Cancer Cell* 2004)。しかし、実地臨床において有用とされる診断バイオマーカーもしくは治療標的分子は未だごく少数である (Bang et al. *Lancet* 2010; Wilke et al. *Lancet Oncol* 2014)。

PBK/TOPK (PDZ binding kinase / T-LAK cell originated protein kinase) は MAPK 経路に関連するセリンスレオニンキナーゼをコードする遺伝子であり、生体内では細胞周期特異的転写因子 E2F および CREB / ATF によって調節されリンパ系細胞活性化や精子形成などに関与している。近年、この PBK/TOPK が様々な癌種で癌遺伝子的に働き、悪性度や不良な予後に関連することが報告されている (Simons-Evelyn M et al. *Blood Cells Mol Dis* 2001, Park JH, Nakamura Y, Katagiri T et al. *Cancer Res* 2006)。大腸癌や肺癌において PBK / TOPK が腫瘍抑制因子 p53 や p38-MAPK 活性などの DNA 損傷誘発性アポトーシス経路を抑制することにより腫瘍細胞死を阻害し (Ayllon and O'Connor *Oncogene* 2007; Nandi et al. *Blood Cells Mol Dis*. 2007; Hu et al. *Leuk Res*. 2010)、PI3K/AKT/mTOR 経路を調整することで癌細胞の遊走能を促進する (Shih et al. *Oncogene* 2012) ことが報告されている。

申請者らは、胃癌、食道癌における PBK/TOPK の新たな分子機構の解明を行ってきた (Ohashi T, Komatsu S *Br J Cancer* 2016)。具体的には、当院の胃癌、食道癌の臨床検体の免疫染色を行い、PBK/TOPK の過剰発現と予後・悪性度との関連について国立がん研究センター中央病院病理・津田 均博士 (現 防衛医科大学校 病態病理学教授) との共同研究を行った。結果、PBK 高発現群は胃癌の 16.7% (24/144) 食道癌の 18.5% に認め、高発現群は極めて予後不良であった。また PBK/TOPK 発現と TP53 の mutation status 別に予後を評価すると予後が明確に層別化されることに着目した。特に、p53 変異なく PBK/TOPK 高発現の症例は極めて予後不良であり、p53 を基質とする場合、PBK/TOPK は極めて悪性度が高くなることが示唆された。実際に、PBK/TOPK p53 正常の場合に癌細胞の増殖、遊走・浸潤の全てに強く関連し、p53 変異の場合は癌細胞の浸潤・遊走のみに関連することを明らかにした。更に p53 変異株で PBK/TOPK を siRNA でノックダウンすることで PTEN の誘導及び AKT のリン酸化が減弱され、胃癌・食道癌において PBK/TOPK 遺伝子発現が 2 つの異なる経路で悪性度に寄与する可能性を示した。U2OS と SaOS2 を用いても同様の機序を明らかにした (Ohashi T, Komatsu S et al. *Br J Cancer* 2016, *Anticancer Res*. 2016)

膀胱癌と PBK/TOPK の発現について、癌遺伝子である c-MYC を安定化し血管新生に関連するマトリックスメタロプロテアーゼである MMPs-2 及び MMPs-9 を誘導することが報告されている (C P. Hinzman et al. *Carcinogenesis* 2018)。しかし TP53 mutation の有無および PTEN と関連する報告はなく、膀胱癌を含めた消化器癌における PBK/TOPK 遺伝子のターゲット分子についてのさらなる解析が必要であると考えられる。

近年、本邦で PBK/TOPK 特異的阻害剤 (OTS964, OTS514; OncoTherapy Science Inc., Japan; Matsuo et al. *Sci Transl Med*. 2014) が開発された。しかし詳細な作用機序などは未

だ明らかになっておらず、動物実験レベルで安全性が検証されつつある段階である。申請者らは、食道癌で 18.5% (Anticancer Res. 2016) 、胃癌で 16.6% (Br J Cancer 2016) の臨床検体で PBK/TOPK 過剰発現を認めることを明らかにしている。OTS964, OTS514 が食道癌、胃癌、膵癌などの消化器癌における PBK/TOPK を標的とした新たな治療分子となる可能性があり、臨床応用を目指して、作用機序、細胞株・動物モデルで抗腫瘍効果、安全性などを検証する。また現在、遺伝子増幅以外の PBK/TOPK 過剰発現の分子機序は明らかにされておらず、申請者らは PBK/TOPK 遺伝子発現に癌抑制遺伝子型 microRNA の発現低下が関与している可能性があると考えている。実際、PBK/TOPK とターゲットとする miR-216b が、PBK/TOPK の発現抑制を介して肺癌の増殖抑制を誘導し (Chai Y et al. Exp Ther Med. 2018) 、大腸癌の抗がん剤感受性を亢進させる報告 (Zou J et al. Biochem Biophys Res Commun. 2017) がある。我々の研究グループは、これまで血中の様々な癌関連 microRNA が、超早期診断、悪性度・予後診断、モニタリング診断、抗がん剤感受性診断のリキッド・バイプシーとして有用であることを明らかにし、分泌型癌抑制 microRNA による抗がん核酸療法の開発を行ってきた (Br J Cancer 2010-2015, Gastroenterology 2012, Sci Rep 2017-2020, Mol Cancer 2019) 。今後 PBK/TOPK 遺伝子を制御する強力な癌抑制型 microRNA 候補群の網羅的探索と PBK/TOPK を標的とした microRNA による抗がん核酸医薬について解析を行う予定である。既に基礎的実験を開始している。

PBK/TOPK は本邦で阻害剤の開発が進む極めて有望な治療的分子であり、難治癌である膵癌の新規の癌関連遺伝子、治療標的分子となる可能性がある。

2 . 研究の目的

膵癌の PBK/TOPK 発現意義を明らかにし詳細な分子機構を明らかにし、更に PBK/TOPK 特異的阻害剤 (OTS964, OTS514; OncoTherapy Science Inc., Japan; Matsuo et al. Sci Transl Med. 2014) が開発されたのを受け、食道癌、胃癌、膵癌などの消化器癌における PBK/TOPK を標的とした新たな治療分子の開発・臨床応用を目指し下記の内容について検討した。

膵癌臨床検体を用いた PBK/TOPK の予後、悪性度の評価

膵癌の PBK/TOPK 分子機構の解明 (TP53 との関連、癌抑制型 microRNA 等の制御分子機構の解明)

PBK/TOPK 特異的阻害剤の有用性の検討

3 . 研究の方法

膵癌における PBK/TOPK 発現と予後及び悪性度の関連を評価するため膵癌臨床検体標本の作製、患者コホートを作成する。膵癌検体について miR-216b を含めた microRNA と PBK/TOPK の関連について検証する。

PBK/TOPK 遺伝子を制御する強力な癌抑制型 microRNA 候補群の網羅的探索と PBK/TOPK を標的とした microRNA による抗がん核酸医薬について解析を行う。マウスの膵癌モデルを作成し PBK/TOPK 特異的阻害剤の投与での腫瘍動態の検証を行う。

4 . 研究成果

膵癌における PBK/TOPK 発現と予後及び悪性度の関連を評価する目的で、膵癌臨床検体標本を用い PBK/TOPK 特異抗体の免疫染色を行う予定であったが、膵癌を含めた膵悪性腫瘍はもとの腫瘍 Volume が少ないことに加えて、日常臨床における膵癌の診断確定のため多種の免疫染色が必要であり、そのため研究のための検体標本作製が困難であった。また COVID19 感染拡大に対する緊急事態宣言、それに準ずる対応のため試薬の入手始めとした研究活動の継続が困難であった。また診療体制の縮小により臨床検体の収集も困難であった。

膵癌の PBK/TOPK 分子機構の解明について、既に我々は胃癌と PBK/TOPK について p53 正常の場合に癌細胞の増殖/遊走/浸潤に関連し、p53 変異の場合は浸潤/遊走のみに関連することを明らかにし PBK/TOPK 遺伝子発現が 2 つの異なる経路で悪性度に寄与する可能性を報告しており(Ohashi T et al. Br J Cancer 2016)、膵癌検体において TP53 ステータスと PBK/TOPK の関連を解析し同様の機序があるかどうかについてを検証したが、明らかな関連は同定できなかった。

また癌抑制型 microRNA 等の制御分子機構について PBK/TOPK をターゲットとする miR-216b が、PBK/TOPK の発現抑制を介して肺癌の増殖抑制を誘導するという報告(Chai Y et al. Exp Ther Med 2018) があり、膵癌検体について miR-216b を含めた microRNA と PBK/TOPK の関連について検証したが候補となる microRNA は同定できなかった。

PBK/TOPK 特異的阻害剤の有用性について、細胞株・動物モデルで抗腫瘍効果、安全性を検証する予定であったが COVID19 感染拡大に対する緊急事態宣言、それに準ずる対応のため研究の進行が困難であった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------