

消化管悪性腫瘍における幹細胞関連転写因子に着目した 新規標的治療の開発

聖マリアンナ医科大学東横病院 消化器病センター

助教 五十嵐 央祥

(共同研究者)

札幌医科大学医学部 消化器内科学講座 教授 仲瀬 裕志

はじめに

近年の分子標的治療研究の発展により、消化管悪性腫瘍に対し複数の分子標的治療薬が臨床応用され、消化管悪性腫瘍の治療成績は飛躍的に向上しつつある。しかしながら薬剤耐性や副作用といった問題は未だ解決されていない。特に現在臨床応用されている分子標的薬は正常細胞にも発現している分子を標的としているため、副作用が大きな問題となっている。また悪性腫瘍において幹細胞性をもつ細胞、いわゆる癌幹細胞は薬剤耐性や転移再発の主要な原因と考えられており、癌幹細胞を標的とした治療法の開発が必要とされている。しかし消化管悪性腫瘍における癌幹細胞を標的とした治療はいまだ確立されていない。

幹細胞関連転写因子であるPR domain containing 14 (PRDM14) は始原生殖細胞や胚性幹細胞において幹細胞性の維持に重要な働きをする⁽¹⁾。正常では胎生初期の限られた時期にのみ発現するとされてきたが、近年、乳癌や肺癌などでPRDM14の異常発現が報告されている⁽²⁾。現在まで癌細胞におけるPRDM14分子の役割は明らかとはなっていないが、乳癌細胞や白血病細胞などにおいて幹細胞性への関与が報告されていることから、治療標的として有望と考えられる⁽³⁾。さらにPRDM14はマウスでは分化した細胞には一切の発現が無く、ヒトの場合も同様の事が想定されることから、治療標的とした際に副作用が少ないと考えられる。以上よりPRDM14に対する標的治療は非常に有用性が高いと想定されるが、PRDM14を標的とした治療は確立されていない。さらに消化管悪性腫瘍においてPRDM14の発現と機能を解析した報告は無い。

今回我々は消化管悪性腫瘍の中でも大腸癌に着目し、臨床検体や動物実験モデルを利用してPRDM14の発現や機能を解析し、大腸癌におけるPRDM14発現の意義について検討した。

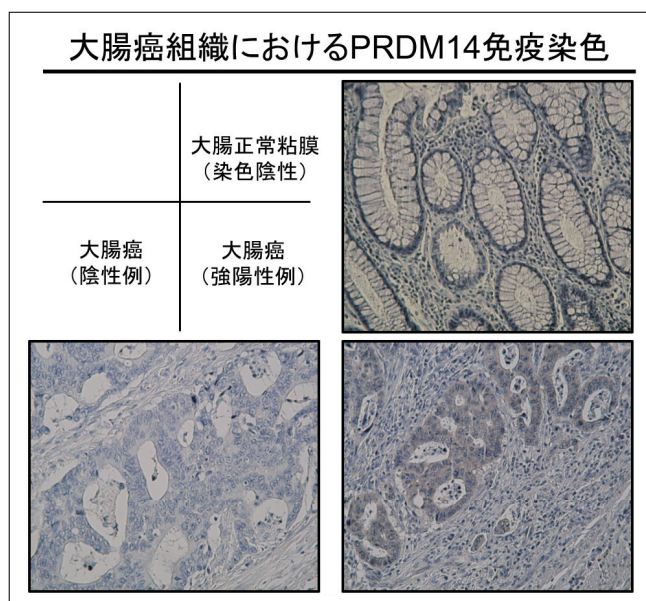
結 果

1. 臨床検体を用いたPRDM14の発現解析

414例の大腸癌手術症例のパラフィン固定標本を用いて、PRDM14の免疫染色を行った。

その結果、一部の症例の大腸癌組織にPRDM14の染色性を認めたが、大腸正常粘膜にはPRDM14の染色性はまったく認められなかった（図1）。PRDM14の染色性をスコア化し、PRDM14高発現群79例（19%）、低発現群84例（20%）、陰性群255例（61%）と分類した。これらの群別と臨床病理学的因子との相関を統計学的に解析したところ、PRDM14高発現はリンパ節転移有りと有意に相関した（ $P = 0.0005$ ）。さらにカプランマイヤー曲線を用いた生存期間解析ではPRDM14高発現群は有意に予後不良であった（ $P = 0.0042$ ）。

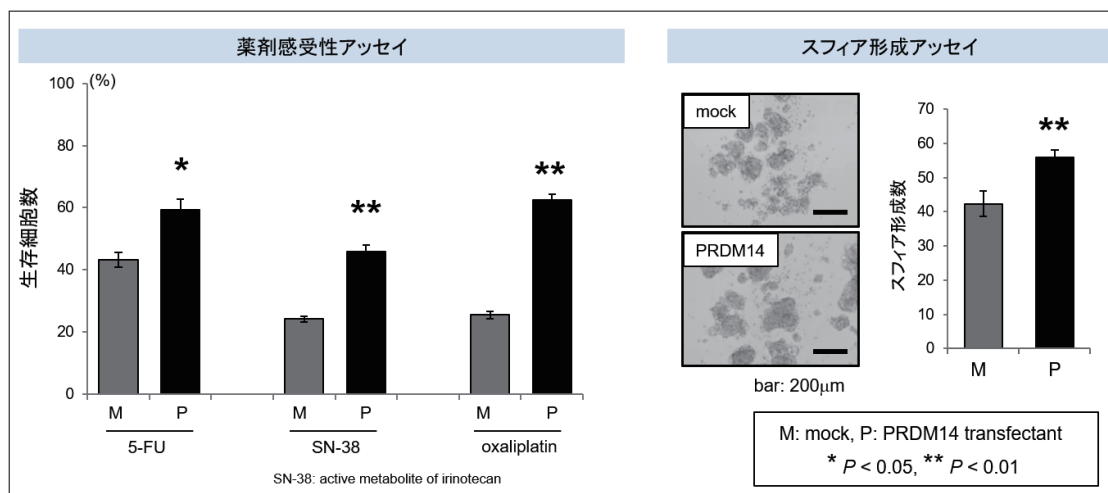
図1



2. 細胞株における下流遺伝子の同定と*in vitro*機能解析

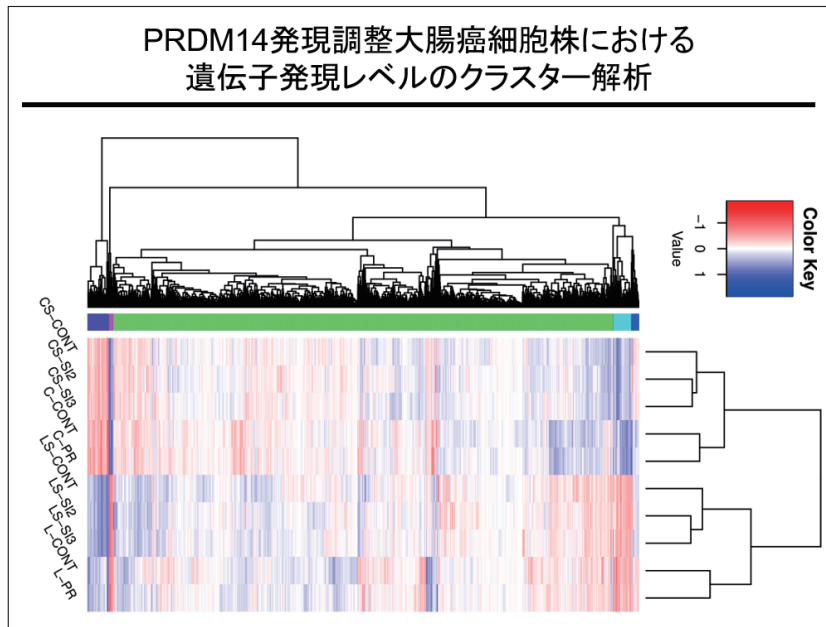
大腸癌細胞株に対してPRDM14を強制発現させた株を作成し、PRDM14の機能解析を行った。その結果、細胞増殖能には変化が認められなかったが、細胞浸潤能や薬剤耐性に加え一部の幹細胞性アッセイにおいて、PRDM14発現株で亢進が認められた（図2）。

図2



さらに同様の大腸癌細胞株に対して次世代シーケンサーを用いたRNAシーケンスを行い、PRDM14発現による遺伝子発現の変化を網羅的に解析した（図3）。その結果、いくつかの遺伝子が大腸癌におけるPRDM14の下流遺伝子の候補として同定された。候補となった遺伝子についてリアルタイムPCRなどによる検証を現在進行中である。

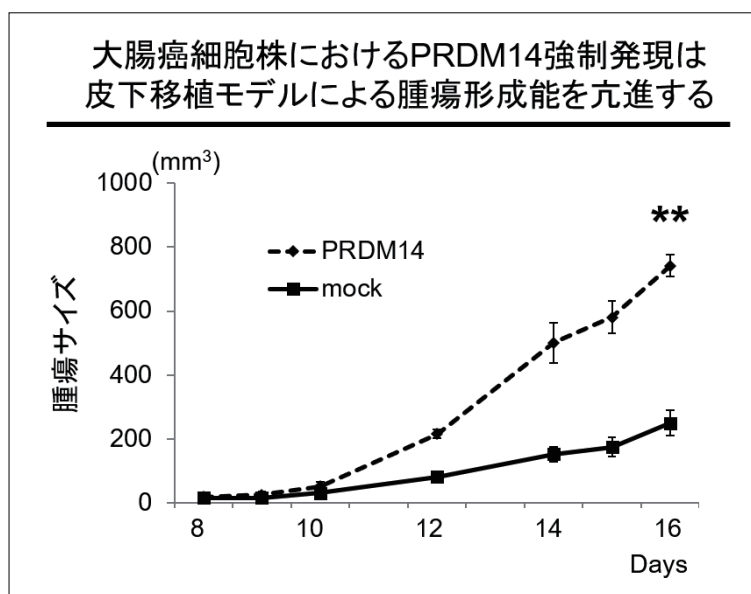
図3



3. ノードマウスを用いた*in vivo* 機能解析

大腸癌細胞株（野生株）とPRDM14強制発現株をノードマウスに皮下移植することで異種移植モデルを作成し、PRDM14が腫瘍形成能に与える影響を評価した。その結果、PRDM14発現株は野生株と比較して有意に腫瘍形成能が亢進した（図4）。

図4



考 察

約400例の大腸癌標本を用いてPRDM14発現を解析した結果、一部の大腸癌にPRDM14が発現していることが明らかとなった。また大腸癌組織におけるPRDM14の高発現は腫瘍の進展や不良な予後と有意に相関した。さらに機能解析の結果から、他の悪性腫瘍において過去に報告されているのと同様に、大腸癌においてPRDM14は幹細胞性や薬剤耐性などに関与することが示唆された。特に薬剤耐性において顕著な変化を認めたことから、バイオマーカーや治療標的としての臨床応用が期待される。本研究の成果は国際医学雑誌に投稿中である⁽⁴⁾。

今後はPRDM14の大腸癌における機能を明らかにするために、さらなる症例集積と下流遺伝子の同定を進めるとともに、血液中のPRDM14発現解析を用いたリキッドバイオプシーなど様々なフォーマットでの臨床応用の可能性を探っていく。

要 約

1. 大腸癌のパラフィン固定標本に対しPRDM14免疫染色を行い、一部の大腸癌にPRDM14発現を認めることを明らかにした。さらにPRDM14高発現はリンパ節転移や予後不良と有意に相関した。
2. 大腸癌細胞株に対してPRDM14を強制発現させることで、細胞浸潤能、薬剤耐性、幹細胞性の亢進が認められた。さらに次世代シーケンサーを用いた網羅的解析により、大腸癌細胞におけるPRDM14の下流遺伝子の候補が同定された。
3. 大腸癌細胞株に対してPRDM14を強制発現させることで、ヌードマウスを用いた皮下移植モデルにおいて腫瘍形成能の亢進が認められた。

文 献

1. Nakaki F, Saitou M. PRDM14: a unique regulator for pluripotency and epigenetic reprogramming. Trends Biochem Sci. 39:289-98, 2014
2. Nishikawa N, Toyota M, Suzuki H, et al. Gene amplification and overexpression of PRDM14 in breast cancers. Cancer Res. 67:9649-57, 2007
3. Taniguchi H, Hoshino D, Moriya C, et al. Silencing PRDM14 expression by an innovative RNAi therapy inhibits stemness, tumorigenicity, and metastasis of breast cancer. Oncotarget. 8:46856-74, 2017
4. **Igarashi H**, Taniguchi H, Nakase H, et al. PRDM14 promotes malignant phenotype and correlates with poor prognosis in colorectal cancer. Clin Transl Oncol. in revision for acceptance.