

## 食道癌・胃癌に発現するイオンチャネルの分子機能を解明 ～新たな癌標的治療への応用～

### 本研究成果のポイント

- 食道癌・胃癌及びそれらの癌幹細胞における、様々なイオンチャネルの発現機能解析により、新たなアポトーシス・細胞周期の制御メカニズムや、予後因子としての意義を解明。
- 癌幹細胞特異的に発現するイオンチャネルを標的とし、その阻害剤や賦活剤を利用した、新たな癌治療法開発への応用が期待される。

京都府立医科大学大学院医学研究科 消化器外科学 学内講師 塩崎敦、教授 大辻英吾、細胞生理学 名誉教授 丸中良典ら研究グループは、上部消化管癌における、イオンチャネルを介した新たな細胞死・生存制御機構を解明し、本件に関する新知見と既報をまとめた総説論文が、科学雑誌『Frontiers in Cell and Developmental Biology』に2021年3月11日付けで掲載されましたのでお知らせします。

本研究は、食道癌・胃癌及びそれらの癌幹細胞における様々なイオン輸送体の発現に着目したもので、アポトーシス・細胞周期の新たな制御機構や、臨床病理学的因子との相関・予後予測因子としての意義を解明しました。本研究成果をもとに、今後は癌細胞に発現するイオンチャネルを標的とした、新たな癌治療法開発への応用が期待されます。

### 【論文基礎情報】

掲載誌情報	雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology 発表媒体 <input checked="" type="checkbox"/> オンライン速報版 <input type="checkbox"/> ペーパー発行 <input type="checkbox"/> その他 雑誌の発行元国 スイス オンライン閲覧 可 (URL: <a href="https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2021.616933/full">https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2021.616933/full</a> ) 掲載日 2021年3月11日
論文情報	論文タイトル Roles of Ion and Water Channels in the Cell Death and Survival of Upper Gastrointestinal Tract Cancers (上部消化管癌の細胞死・生存における、イオンチャネル及び水チャネルの役割) 代表著者 京都府立医科大学大学院医学研究科 消化器外科学・塩崎敦 共同著者

	京都府立医科大学大学院医学研究科 細胞生理学・丸中良典 京都府立医科大学大学院医学研究科 消化器外科学・大辻英吾
研究情報	<p>研究課題名</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 癌幹細胞に発現する電位依存性カルシウムチャンネルを標的とした胃癌新規治療法の開発（日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究(C)20K09016）</li> <li>● 癌幹細胞に発現する TRPV2 チャンネルを標的とした食道癌新規治療法の開発（日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究(C)17K10602）</li> </ul> <p>代表研究者 京都府立医科大学大学院医学研究科 消化器外科学・塩崎敦</p>

## 【論文概要】

### 1 研究分野の背景や問題点

食道癌・胃癌など上部消化管癌の治療成績は、診断・治療技術の進歩により向上しつつあるものの、進行再発癌の制御は依然として極めて困難であり、有効な治療法の研究開発が急がれます。近年、イオンチャンネルが細胞生命機能維持に重要な役割をもつことが報告され、癌の治療標的としても注目されています。

一方、癌組織は幹細胞能力と癌形成能をあわせ持つ少数の癌幹細胞により形成・維持されることが解明されています。癌幹細胞は通常の抗癌剤に抵抗性を示すため、新たな標的治療の開発が急がれます。しかしながら、癌幹細胞におけるイオンチャンネル発現解析や、その制御を治療に応用する試みは全くなされていませんでした。

### 2 研究内容・成果の要点

我々はこれまで、細胞生理学的なアプローチを消化器癌診断・治療に応用すべく、様々なイオンチャンネルの発現・制御に焦点をあてた研究を進めてきました。本論文では、我々の研究グループでこれまでに得られた新知見を中心に、イオンチャンネルと細胞死に関する既報を総説としてまとめました<sup>1)</sup>。

最近の我々の研究結果から、細胞内 Cl<sup>-</sup>(塩素イオン)が細胞内シグナルを伝播するセカンドメッセンジャーとして重要な働きをしていることが明らかとなりました。これを受け、上部消化管癌における様々な Cl<sup>-</sup>チャンネルの発現機能解析を進めてきました。癌細胞株を用いたマイクロアレイによる網羅的解析で、アポトーシス・細胞周期制御機構を解明するとともに、手術切除標本における発現解析から、臨床病理学的因子との相関・予後予測因子としての意義を解明しました。特に食道扁平上皮癌においては、Chloride intracellular channel 1 (CLIC1)による TLR2/JNK 経路の制御機構<sup>2)</sup>、Anoctamin (ANO) 9 による中心体関連遺伝子の制御機構<sup>3)</sup>、Leucinerich repeat-containing protein 8A (LRRC8A) による Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt 経路の制御機構<sup>4)</sup>、Chloride channel 2 (CLCN2) による IFN シグナル経路の制御機構<sup>5)</sup>、Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)による p38 経路の制御機構<sup>6)</sup>を新たに見出し、何れの Cl<sup>-</sup>チャンネル発現も有効な予後予測因子となることを報告してきました(図 1)。特筆すべき成果としては、CLCN2 の賦活剤であるルビプロストンが、細胞内 Cl<sup>-</sup>や IFN シグナル経路を介して食道扁

平上皮癌細胞の増殖を抑制すること、抗癌剤（シスプラチン）の効果を増強することを見出しました。ルビプロストンは、オピオイド投与の副作用による慢性便秘治療薬として、癌臨床において広く用いられる薬剤であり、その抗腫瘍効果を解明したことは、全く新たな治療概念を構築する契機になると考えられます。

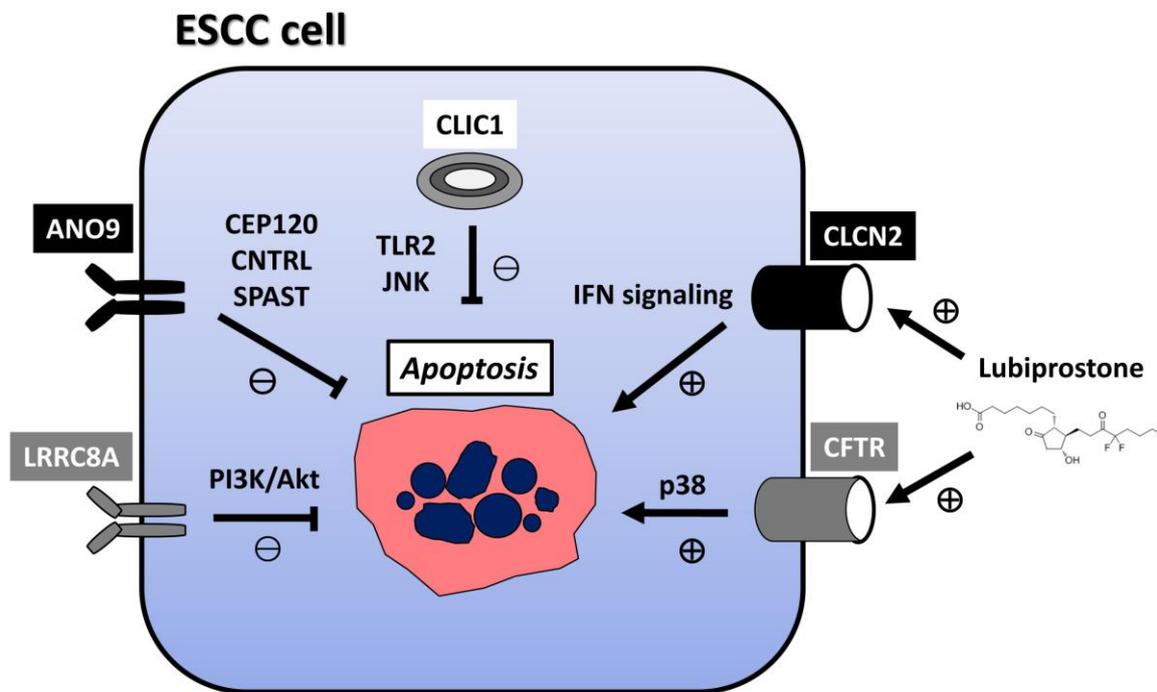


図 1 食道扁平上皮癌(ESCC)細胞における Cl<sup>-</sup>チャネルによるアポトーシス制御機構。CLIC1 は TLR2/JNK 経路を介して、ANO9 は CEP120・CNTRL・SPAST などの中心体関連遺伝子を介して、LRR8A は PI3K/Akt 経路を介してアポトーシスを抑制。CLCN2 は IFN シグナル経路を介して、CFTR は p38 経路を介してアポトーシスを促進。ルビプロストンは CLCN2 や CFTR を賦活化し、ESCC のアポトーシスを促進する。図は研究報告 1)から引用。

一方で、癌幹細胞におけるイオンチャネルの特異的高発現を同定するため、種々の消化器癌細胞株から癌幹細胞を抽出培養後、遺伝子発現の網羅的解析を行いました。食道扁平上皮癌においては、Ca<sup>2+</sup>透過性陽イオンチャネルである TRPV2 の癌幹細胞特異的な高発現に着目し、その阻害剤であるトラニラストが、癌幹細胞においてより強い増殖抑制効果を示すことを見出しました(図 2) 7)。トラニラストは抗アレルギー剤(気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎)として、特に外科分野においてはケロイド・肥厚性瘢痕の予防・治療薬として広く臨床で使用されていますが、その癌幹細胞増殖抑制効果を世界に先駆けて報告した意義は大きいと考えられます。この結果を受け、進行食道癌患者を対象としたトラニラスト併用化学療法 Phase I/II study を特定臨床研究(jRCTs051190076)として開始しています 8)。胃癌においては、電位依存性 Ca<sup>2+</sup>チャネル(CACNA2D1, CACNB4)の癌幹細胞特異的な高発現と、阻害薬であるアムロジピンやベラパミル(高血圧・狭心症治療薬、抗不整脈薬)の癌幹細胞増殖抑制効果を見出しました 9)。

その他、本総説論文では、水チャネルである Aquaporin (AQP) 1、AQP5 や、細胞内 pH 調節因子である Anion exchanger (AE) 1、AE2、Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger (NHE) 1 の食道扁平上

皮膚癌における発現機能解析についても、本研究グループで得られた研究結果をまとめて報告しています。

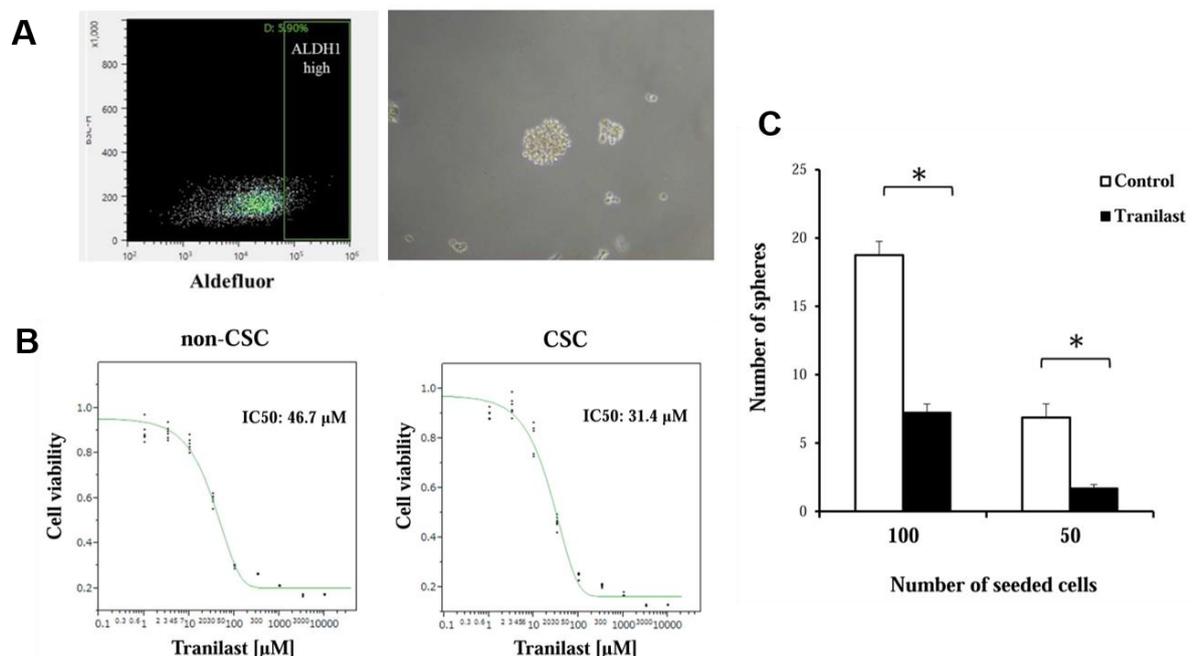


図2 A) 食道扁平上皮癌細胞株(TE8)からの癌幹細胞抽出・培養。(左図) ALDH1 高発現細胞の sorting。(右図) 抽出・培養細胞の Sphere 形成。B) 癌幹細胞における TRPV2 阻害剤；トラニラストの感受性増強。C) 癌幹細胞におけるトラニラストによる sphere 形成能の抑制 (Sphere formation assay)。図は研究報告 7)から引用。

### 3 今後の展開と社会へのアピールポイント

本研究では、食道癌・胃癌細胞やその幹細胞における、様々なイオンチャネルの発現機能解析を通して、アポトーシス・細胞周期の制御メカニズムや、バイオマーカーとしての意義を明らかにしてきました。また、癌特異的に発現するイオンチャネルに対し、阻害剤や賦活剤を用いることで、新たな癌細胞抑制効果を検証してきました。イオンチャネルに対する阻害剤や賦活剤は、既存薬として広く臨床使用されているものが多く、それらを抗癌剤に併用することで制癌作用の増強を試みることは、斬新な消化器癌治療概念の構築にも繋がります。現在、大腸癌、膵癌、肝細胞癌などにおける癌幹細胞特異的なイオン輸送体発現解析も進行しており、イオンチャネル阻害剤や賦活剤を用いた、新たな癌幹細胞標的治療の臨床応用を目指しています。

#### 研究報告

- 1) Shiozaki A, Marunaka Y, Otsuji E. Roles of Ion and Water Channels in the Cell Death and Survival of Upper Gastrointestinal Tract Cancers. *Front Cell Dev Biol.* 2021 Mar 11;9:616933. doi: 10.3389/fcell.2021.616933.
- 2) Kobayashi T, Shiozaki A, Nako Y, Ichikawa D, Kosuga T, Shoda K, Arita T, Konishi H, Komatsu S, Kubota T, Fujiwara H, Okamoto K, Kishimoto M, Konishi E, Marunaka Y,

- Otsuji E. Chloride intracellular channel 1 as a switch among tumor behaviors in human esophageal squamous cell carcinoma. *Oncotarget*. 2018;9:23237-23252. doi: 10.18632/oncotarget.25296.
- 3) Katsurahara K, Shiozaki A, Kosuga T, Kudou M, Shoda K, Arita T, Konishi H, Komatsu S, Kubota T, Fujiwara H, Okamoto K, Kishimoto M, Konishi E, Marunaka Y, Otsuji E. ANO9 Regulated Cell Cycle in Human Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2020;27:3218-3230. doi: 10.1245/s10434-020-08368-y.
  - 4) Konishi T, Shiozaki A, Kosuga T, Kudou M, Shoda K, Arita T, Konishi H, Komatsu S, Kubota T, Fujiwara H, Okamoto K, Kishimoto M, Konishi E, Marunaka Y, Otsuji E. LRRC8A Expression Influences Growth of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Am J Pathol*. 2019;189:1973-1985. doi: 10.1016/j.ajpath.2019.06.006.
  - 5) Mitsuda M, Shiozaki A, Kudou M, Shimizu H, Arita T, Kosuga T, Konishi H, Komatsu S, Kubota T, Fujiwara H, Okamoto K, Kishimoto M, Konishi E, Otsuji E. Functional Analysis and Clinical Significance of Chloride Channel 2 Expression in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2021 Feb 9. doi: 10.1245/s10434-021-09659-8. Online ahead of print.
  - 6) Matsumoto Y, Shiozaki A, Kosuga T, Kudou M, Shimizu H, Arita T, Konishi H, Komatsu S, Kubota T, Fujiwara H, Okamoto K, Kishimoto M, Konishi E, Otsuji E. *Ann Surg Oncol*. Expression and Role of CFTR in Human Esophageal Squamous Cell Carcinoma. 2021 Mar 12. doi: 10.1245/s10434-021-09752-y. Online ahead of print.
  - 7) Shiozaki A, Kudou M, Ichikawa D, Fujiwara H, Shimizu H, Ishimoto T, Arita T, Kosuga T, Konishi H, Komatsu S, Okamoto K, Marunaka Y, Otsuji E. Esophageal cancer stem cells are suppressed by tranilast, a TRPV2 channel inhibitor. *J Gastroenterol*. 2018;53:197-207. doi: 10.1007/s00535-017-1338-x.
  - 8) Shiozaki A, Kudou M, Fujiwara H, Konishi H, Shimizu H, Arita T, Kosuga T, Yamamoto Y, Morimura R, Ikoma H, Kuriu Y, Kubota T, Okamoto K, Otsuji E. Clinical safety and efficacy of neoadjuvant combination chemotherapy of tranilast in advanced esophageal squamous cell carcinoma: Phase I/II study (TNAC). *Medicine (Baltimore)*. 2020;99:e23633. doi: 10.1097/MD.00000000000023633.
  - 9) Shiozaki A, Katsurahara K, Kudou M, Shimizu H, Kosuga T, Ito H, Arita T, Konishi H, Komatsu S, Kubota T, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Amlodipine and Verapamil, Voltage-Gated Ca<sup>2+</sup> Channel Inhibitors, Suppressed the Growth of Gastric Cancer Stem Cells. *Ann Surg Oncol*. 2021 Feb 10. doi: 10.1245/s10434-021-09645-0. Online ahead of print.

<p>&lt;研究に関すること&gt;          消化器外科学 学内講師 塩崎敦          電 話 : 075-251-5527          E-mail : shiozaki@koto.kpu-m.ac.jp</p>	<p>&lt;広報に関すること&gt;          企画広報課 土屋          電 話 : 075-251-5804          E-mail : kouhou@koto.kpu-m.ac.jp</p>
--	---