



国立研究開発法人
国立がん研究センター
National Cancer Center Japan



国立大学法人
滋賀医科大学
SHIGA UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCE



地方独立行政法人 神奈川県立病院機構
神奈川県立がんセンター



東北大学
TOHOKU UNIVERSITY



国立研究開発法人 日本医療研究開発機構
Japan Agency for Medical Research and Development

News Release

令和4年3月23日

テロメラーゼ逆転写酵素 (hTERT) が癌細胞の増殖能や悪性度、分化、および予後不良マーカーであることを発見

ポイント

- リン酸化による修飾を受けたテロメラーゼ逆転写酵素 (hTERT)^{注1} を認識する新しいモノクローナル抗体^{注2} を作製し、病理組織検体でリン酸化 hTERT の発現を調べることに成功しました。
- 1,523 症例の多施設大規模検体を用いて、リン酸化 hTERT が癌細胞の増殖能、悪性度、分化に関わること、および肺癌、膵臓癌、肝臓癌の予後不良マーカーであることを世界で初めて明らかにしました。
- 今後、リン酸化 hTERT による癌の新しい診断法の開発が期待されます。

1. 要旨

香川大学医学部腫瘍病理学・松田陽子教授と国立がん研究センター研究所がん幹細胞研究分野・増富健吉分野長らによるこれまでの研究によって、リン酸化 hTERT にはテロメア^{注3}に関わらない新機能を有することが分かっていました (Yasukawa, et al. Nat Comm, 2020)。しかし、これまでは hTERT を病理組織検体で正確に調べる方法がなかったため、様々な癌の症例における臨床的な意義は分かっていませんでした。今回の研究では、hTERT

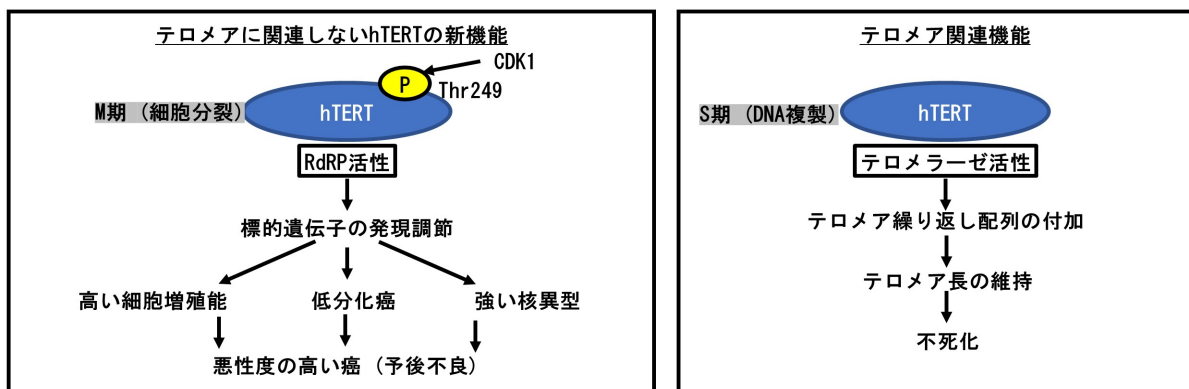


図1. 悪性度の高い癌におけるテロメラーゼの新機能

サイクリン依存性キナーゼ1 (CDK1) によるテロメア逆転写酵素 (hTERT) のリン酸化がRNA依存性RNAポリメラーゼ (RdRP) 活性化を引き起こし、癌の増殖能、分化度、及び核異型に関与する。テロメラーゼの新機能は、テロメアに関連しない機能であり、新しい治療標的として注目されている。

に対して免疫染色法^{注4}に用いることのできる新しい抗体を東北大学大学院医学系研究科・加藤幸成教授の研究グループが作製し、香川大学、国立がん研究センター、金沢大学、神奈川県立がんセンター、滋賀医科大学、東京大学医科学研究所など数多くの研究グループとの共同研究により、病理組織検体中でのリン酸化 hTERT の発現を調べることに成功しました。さらに、多施設の 1,523 症例の病理組織検体を用いて免疫染色を行い、リン酸化 hTERT の発現が多い癌では、細胞の増殖能や悪性度が高く、分化度の低い癌であることを明らかにしました（図 1）。また、肺癌、膵臓癌、肝臓癌では、リン酸化 hTERT の発現が多いと手術後の生存期間が短いことを明らかにしました。このことは、リン酸化 hTERT の免疫染色法は、悪性度の高い癌を調べるための有用な検査法となる可能性を示唆します。今後、リン酸化 hTERT を指標にした癌の新しい診断法の開発が大きく期待されます。本研究は 2022 年 3 月 23 日に英国科学誌「The Journal of Pathology」にオンライン掲載されます。

2. 研究の背景

テロメアの長さは加齢とともに短くなるため、命の回数券と呼ばれています。テロメアの異常は発癌過程において重要な役割を担っています (Matsuda, et al. PLoS ONE, 2015)。テロメラーゼ^{注1}はテロメア長を伸長させる酵素であり、テロメラーゼの主要構成要素であるテロメラーゼ逆転写酵素 (hTERT) の異常は、癌細胞の不死化をもたらします。テロメアやテロメラーゼの異常はほとんどの癌で認められるため、癌の治療標的として有望と考えられています。

本研究班の先行研究によって、リン酸化 hTERT にはテロメア伸長に関わらない機能があることを見出してきました。リン酸化 hTERT は RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ (RdRP)^{注5} 活性を有しており、様々な遺伝子の発現調節を行うことによって癌化に関わることを、培養細胞や動物を用いた実験で明らかにしました (Yasukawa, et al. Nat Comm, 2020)。しかし、これまでは hTERT の RdRP 活性を簡便に調べる方法がなかったため、様々な癌の症例における hTERT の新機能の役割や臨床病理学的な意義は不明でした。そこで本研究では、hTERT の新機能である RdRP 活性を検出するため、リン酸化 hTERT を特異的に認識する免疫染色用の抗体を作成し、多施設の様々な癌の病理組織検体におけるリン酸化 hTERT の発現を調べることを立案しました。

3. 研究結果

1) リン酸化 hTERT に対する新しい抗体を用いた病理組織検体の免疫染色

本研究班は、hTERT の 249 番目のアミノ酸であるスレオニンのリン酸化が、RdRP 活性のスイッチであることを見出してきました (Yasukawa, et al. Nat Comm, 2020)。そこで hTERT の 249 番のスレオニンのリン酸化を特異的に検出できるモノクローナル抗体を作製したところ、通常の病理組織検体であるホルマリン固定パラフィン切片で、免疫染色法にてリン酸化 hTERT の発現を捉えることに成功しました（図 2）。長期保存可能なホル

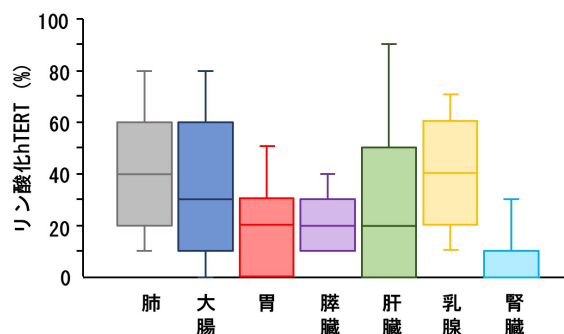
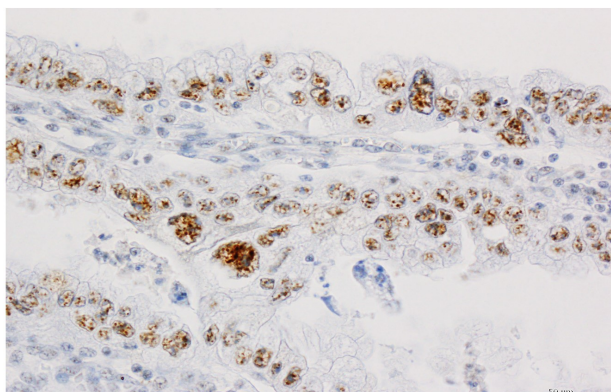


図2. テロメア逆転写酵素 (hTERT) のアミノ酸249スレオニンのリン酸化抗体による免疫染色像と様々な癌におけるその発現の割合

リン酸化hTERTは癌細胞の核に発現しており（左図）、様々な癌で発現を認める（右図）。

マリン固定パラフィン切片を用いて染色できるため、簡便に様々な症例におけるリン酸化 hTERT の発現を調べることができます。さらに、市販の自動免疫染色装置を用いて染色できるため、同じ条件で繰り返し染色することが可能です。

2) 悪性度の高い癌におけるリン酸化 hTERT の発現亢進

リン酸化 hTERT に対する新しい抗体を用いて、1,523 症例の肺癌、大腸癌、胃癌、膵癌、肝臓癌、乳癌、腎臓癌におけるリン酸化 hTERT の発現を調べました。今回調べた癌症例は、日本で死亡率や罹患率の高い癌を選びました。また、癌の悪性度の指標である細胞増殖能や、分化度、核異型度^{注6}と、リン酸化 hTERT の発現との関係を調べました。その結果、肺癌、大腸癌、胃癌、膵癌、肝臓癌では、リン酸化 hTERT の発現が高いほど細胞増殖能が高いことが分かりました (図 3A)。また、肺癌、膵癌、肝臓癌では低分化癌や (図 3B)、核異型が強い症例で (図 3C) リン酸化 hTERT の発現が高いことが分かりました。

さらに詳細にリン酸化 hTERT の発現と臨床病理学的因子との関連を調べたところ、肺や膵臓の腺扁平上皮癌や、浸潤能が高い肺癌、血清αフェトプロテイン値が高い肝臓癌、トリプルネガティブ乳癌において、リン酸化 hTERT の発現が高いことが明らかになりました。これらの結果より、リン酸化 hTERT は癌の増殖能や分化、細胞形態に関与し、悪性度の高い癌で高発現することが明らかになりました。

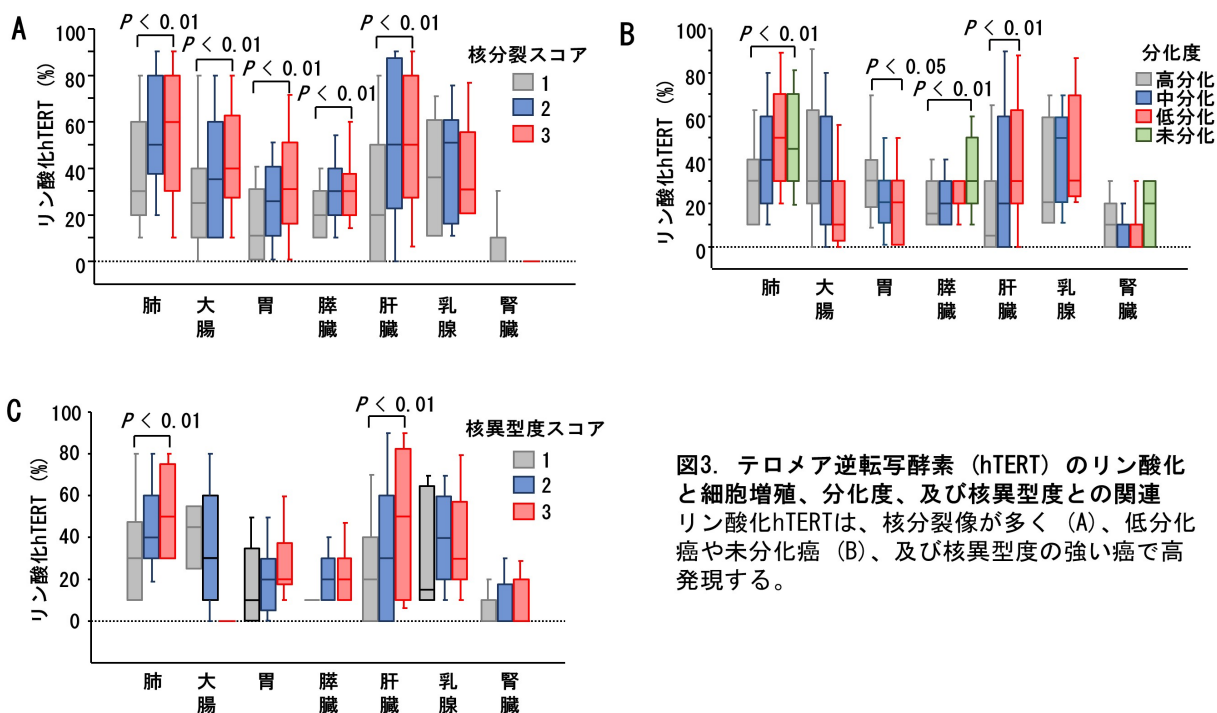


図3. テロメア逆転写酵素 (hTERT) のリン酸化と細胞増殖、分化度、及び核異型度との関連
リン酸化hTERTは、核分裂像が多く (A)、低分化癌や未分化癌 (B)、及び核異型度の強い癌で高発現する。

3) リン酸化 hTERT 高発現は予後不良マーカー

最後に、全生存期間、無再発生存期間とリン酸化 hTERT の発現との関連を調べました。その結果、リン酸化 hTERT 高発現症例において、肺癌、膵臓癌、肝臓癌では全生存期間が短く (図 4A)、膵臓癌、肝臓癌では無再発生存期間が短い (図 4B) ことが分かりました。さらに、多変量解析では、リン酸化 hTERT の高発現と病期は肺癌、膵臓癌、肝臓癌の独立した予後不良因子であることが分かりました。

本研究班の先行研究で、細胞周期関連タンパク質であるサイクリン依存性キナーゼ1 (CDK1) が hTERT の 249 番アミノ酸のスレオニンをリン酸化することで、RdRP 活性を付与し、様々な遺伝子の発現を直接制御することが明らかとなっています (図 1, Yasukawa, et al. Nat Comm, 2020)。今回の研究で、hTERT の RdRP 活性が癌の増殖能や分化度、悪性度に関与しており、予後の悪い癌のマーカーとなることが明らかになりました。

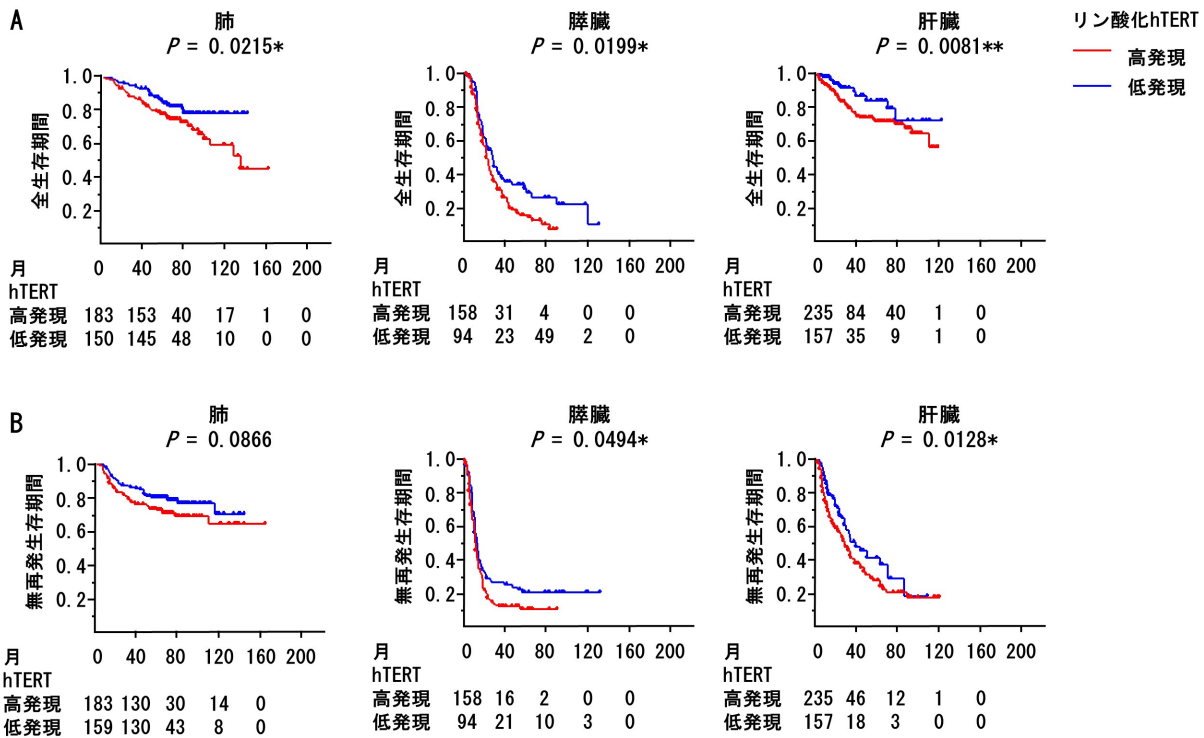


図4. テロメア逆転写酵素 (hTERT) のリン酸化と予後との関連
 リン酸化hTERTの高発現を示す肺癌、膵臓癌、肝臓癌の症例は、全生存期間 (A)、及び、無再発生存期間 (B) が短い。リン酸化hTERTは高悪性度の癌の予後予測マーカーとなる。

4. まとめ

今回、リン酸化 hTERT は予後予測マーカーとして臨床的に有用であることを明らかにしました。用いた病理組織検体や染色方法は一般的に使用されている自動化された方法であり、今後、リン酸化 hTERT を指標にした癌の新しい診断法の開発とその臨床応用が期待されます。

5. 論文名と著者

Phosphorylation of hTERT at threonine 249 is a novel tumor biomarker of aggressive cancer with poor prognosis in multiple organs.

Yoko Matsuda,¹ Taro Yamashita,² Juanjuan Ye,¹ Mami Yasukawa,³ Keiko Yamakawa,¹ Yuri Mukai,¹ Mitsuhiro Machitani,³ Yataro Daigo,^{4,5,6} Yohei Miyagi,⁷ Tomoyuki Yokose,⁸ Takashi Oshima,⁹ Hiroyuki Ito,¹⁰ Soichiro Morinaga,¹¹ Takeshi Kishida,¹² Toshinari Minamoto,¹³ Shinji Yamada,¹⁴ Junko Takei,¹⁴ Mika K. Kaneko,¹⁴ Motohiro Kojima,¹⁵ Shuichi Kaneko,² Tsutomu Masaki,¹⁶ Masahiro Hirata,¹⁶ Reiji Haba,¹⁷ Keiichi Kontani,¹⁸ Nobuhiro Kanaji,¹⁹ Nobuyuki Miyatake,²⁰ Keiichi Okano,²¹ Yukinari Kato,^{14,22} Kenkichi Masutomi³

The Journal of Pathology (2022年3月23日オンライン掲載)

doi: 10.1002/path.5876.

¹ 香川大学医学部 腫瘍病理学

² 金沢大学 消化器内科学

³ 国立がん研究センター研究所 がん幹細胞研究分野

- 4 滋賀医科大学臨床腫瘍学講座・腫瘍内科・腫瘍センター
- 5 滋賀医科大学先端がん研究センター
- 6 東京大学医科学研究所附属病院 抗体・ワクチンセンター
- 7 神奈川県立がんセンター 臨床研究所
- 8 神奈川県立がんセンター 病理診断科
- 9 神奈川県立がんセンター 消化器外科
- 10 神奈川県立がんセンター 呼吸器外科
- 11 神奈川県立がんセンター 消化器外科
- 12 神奈川県立がんセンター 泌尿器科
- 13 金沢大学がん進展制御研究所 腫瘍制御研究分野
- 14 東北大学大学院医学系研究科 抗体創薬研究分野
- 15 国立がん研究センター 先端医療開発センター 臨床腫瘍病理分野
- 16 香川大学医学部 消化器・神経内科学
- 17 香川大学医学部附属病院 病理診断科
- 18 香川大学医学部 呼吸器・乳腺内分泌外科学
- 19 香川大学医学部 血液・免疫・呼吸器内科学
- 20 香川大学医学部 衛生学
- 21 香川大学医学部 消化器外科学
- 22 東北大学大学院医学系研究科 分子薬理学分野

6. 本研究への支援

- 国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）革新的がん医療実用化研究事業、次世代がん医療創生研究事業、肝炎等克服実用化研究事業（肝炎等克服緊急対策研究事業）、創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム（BINDS）
- 金沢大学がん進展制御研究所共同研究
- 国立がん研究センター研究開発費
- 日本学術振興会科学研究費補助金
- 文部科学省科学研究費新学術領域研究 コホート・生体試料支援プラットフォーム（CoBiA）

7. 用語説明

- 注1 テロメラーゼ/テロメラーゼ逆転写酵素（human telomerase reverse transcriptase, hTERT）：テロメラーゼは、テロメアの特異的反復配列を伸長させる酵素であり、多くの癌で異常をきたし、癌細胞の不死化をもたらしている。hTERTは、テロメラーゼの主要サブユニットの一つで、染色体末端のテロメアにTTAGGGを付加する機能が広く知られている。近年、テロメアに関連しないhTERTの新機能が報告されており、新しい治療標的として注目されている。
- 注2 抗体：抗原と特異的に結合し抗原抗体反応を起こすもので、免疫グロブリンに属する。免疫染色に用いる抗体は、抗原の異なる部位に対する複数の抗体のクローンを含有するポリクローナル抗体と単一のクローンから成るモノクローナル抗体がある。

- 注3 テロメア：真核生物の染色体末端にある構造であり、染色体末端を保護する。哺乳類ではTTAGGGの塩基の繰り返し配列とタンパク質から成る。テロメアの長さは細胞分裂のたびに短くなり、老化および癌化において重要な役割を担う。
- 注4 免疫染色法：抗体を用いて、抗原を検出、可視化する手法のことである。病理検査法の一つとして、通常の病理組織検体であるホルマリン固定パラフィン切片を用いて、一般的に実施されている。
- 注5 RNA依存性RNAポリメラーゼ（RNA-dependent RNA polymerase, RdRP）：RNAを鋳型にRNAを複製する酵素であり、RNAウイルスにおいて必須のタンパク質である。真核生物もRdRP活性を有し、small interfering RNAの増幅によるRNA干渉に関与し、RNA発現を調整する。
- 注6 核異型度：癌細胞の核の大きさや大小不同性の評価方法である。核異型度が高いほど、正常の細胞とのへだたりが大きく、悪性度が高いことを反映する。

<問い合わせ先>

【研究に関すること】

香川大学医学部 腫瘍病理学

松田陽子

TEL：087-891-2109

Email：matsuda.yoko@kagawa-u.ac.jp

金沢大学 消化器内科学

山下太郎

taroy62m@staff.kanazawa-u.ac.jp

国立がん研究センター研究所 がん幹細胞研究分野

増富健吉

kmasutom@ncc.go.jp

滋賀医科大学臨床腫瘍学講座・腫瘍内科・腫瘍センター

滋賀医科大学先端がん研究センター

東京大学医科学研究所附属病院 抗体・ワクチンセンター

醍醐弥太郎

ydaigo@ims.u-tokyo.ac.jp

神奈川県立がんセンター 臨床研究所

宮城洋平

miyagi@gancen.asahi.yokohama.jp

東北大学 大学院医学系研究科 分子薬理学分野

加藤幸成

yukinarikato@med.tohoku.ac.jp

【報道に関すること】

香川大学医学部総務課 広報法規・国際係

TEL : 087-891-2008 FAX : 087-891-2016

Email : kouhou-m@kagawa-u. ac. jp

金沢大学病院部総務課調査・広報係

TEL:076-265-2000 (内線 7423)

Email:hptyousa@adm. kanazawa-u. ac. jp

国立がん研究センター 企画戦略局広報企画室

TEL : 03-3542-2511

Email : ncc-admin@ncc. go. jp

滋賀医科大学 総務企画課広報係

TEL : 077-548-2012

Email:hqkouhou@belle. shiga-med. ac. jp

東京大学医科学研究所 国際学術連携室 (広報)

TEL : 090-9832-9760

Email:koho@ims. u-tokyo. ac. jp

神奈川県立病院機構 がんセンター 総務企画課

TEL : 045-520-2222 (内線 2106)

Email:matsuda. 10055@kanagawa-pho. jp

東北大学大学院医学系研究科・医学部 広報室

TEL: 022-717-8032, FAX: 022-717-8187

Email: press@pr. med. tohoku. ac. jp

【AMED 事業に関すること】

日本医療研究開発機構 (AMED)

疾患基礎研究事業部 疾患基礎研究課 革新的がん医療実用化研究事業

TEL: 03-6870-2286

E-mail: cancer@amed. go. jp