

令和元年6月10日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16778

研究課題名(和文) 治療抵抗性腎細胞癌の機能性RNAネットワーク解析に基づく治療標的分子の同定

研究課題名(英文) Identifying molecular pathogenesis of advanced renal cell carcinoma based on microRNA expression

研究代表者

岡東 篤 (Okato, Atsushi)

千葉大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：90756719

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：近年、進行性腎癌に対する新規治療薬の開発が進んでいるものの、その効果は限定的であり、治療抵抗性を獲得する分子経路の解明が不可欠であると考えられる。我々は、分子標的治療薬治療後の剖検検体から、「治療抵抗性腎細胞癌マイクロRNA発現プロファイル」を作成し、癌組織で発現が変化しているマイクロRNAを同定した。これらマイクロRNAが制御する分子ネットワークを探索した結果、癌の転移に關与する遺伝子を同定した。これらのマイクロRNAが標的とする遺伝子はTCGA (the cancer genome atlas) のデータベースから腎細胞癌において予後不良因子であることが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年開発された分子標的治療薬は、進行腎細胞癌に対しても一定の治療効果を上げているが、治療経過中に抵抗性を獲得することが多く、その分子経路は十分に解明されていない。我々は分子標的治療薬治療後の剖検検体から、「治療抵抗性腎細胞癌マイクロRNA発現プロファイル」を作成し、癌組織で発現が抑制されているマイクロRNAの探索を行った。これらマイクロRNAが制御する分子ネットワークを探索した結果、癌の転移に關与する遺伝子を同定した。これらの遺伝子を標的とした治療薬の開発することは、新たな治療薬の開発の一助となると思われる。

研究成果の概要(英文)：In recent years, although the development of new therapeutic agents for the advanced renal cell carcinoma have progressed, its effects are limited, and it is considered that elucidation of molecular pathways for acquiring treatment resistance is indispensable.

We generated a "treatment resistant renal cell carcinoma microRNA expression profile" from autopsy specimens after molecular targeted therapeutic agent treatment and identified microRNAs whose expressions are altered in cancerous tissue. As a result of searching for molecular networks controlled by these microRNAs, genes involved in cancer metastasis were identified. Genes targeted by these microRNAs have been confirmed to be a prognostic factor in renal cell carcinoma from the database of TCGA (the cancer genome atlas).

研究分野：マイクロRNA

キーワード：マイクロRNA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

-1、研究の学術的背景(腎細胞癌治療の問題点について)腎に発生する原発性腫瘍の中で、腎細胞癌は約90%を占めている。またすべての癌の約2%を占める。泌尿器科系悪性腫瘍の中では膀胱癌、前立腺癌について多い腫瘍である。進行癌の予後は不良であり、5年生存率は5%-10%である。生存率の低さは、再発や遠隔転移に起因しており、再発・転移の制御が腎細胞癌の治療の重要課題である。

近年、腎細胞癌の治療薬として、癌細胞の増殖シグナルや血管新生シグナルを特異的に遮断する「分子標的治療薬」が登場し、一定の効果を挙げている。しかしながら、「分子標的治療薬」は癌細胞の増殖を抑制する効果はあるものの、癌細胞を殺傷する効果は低い事が知られている。そのため、「分子標的治療薬」の継続的使用により、癌細胞は、サルベージ経路を活性化させ、「分子標的治療薬」に対する抵抗性を獲得する。現在、「分子標的治療薬」治療に抵抗性を獲得した腎細胞癌に対する有効な治療法は無く、その予後は極めて不良である。

-2、研究の学術的背景(マイクロRNAについて)

ヒトゲノム中には蛋白をコードしないRNA分子が多数存在し、実際に転写されている事が判明した。その中で、僅か19塩基~22塩基の1本鎖RNA分子は、マイクロRNAと呼ばれる。

1種類のマイクロRNAは、配列依存的に数百~数千種の機能性RNAの発現を制御している事から、細胞内ではマイクロRNA-機能性RNAの極めて複雑な分子ネットワークが形成されている。ヒトゲノム中の60%のタンパクコード遺伝子は、マイクロRNAによる発現制御を受けている。そのため、マイクロRNAの発現異常が細胞内の機能性RNA分子ネットワークの破綻を引き起こし、ヒト疾患の発症・進展に関わる事が明らかとなってきた。実際、癌を含むヒト疾患において、マイクロRNAの発現異常が相次いで報告されている。腎細胞癌においても、「癌促進型マイクロRNA」または、「癌抑制型マイクロRNA」の探索・解析が世界規模で成されている。申請者は、これまでに泌尿器科癌のマイクロRNA研究に従事し、癌抑制型マイクロRNAの探索と、マイクロRNAのが制御する機能性RNAネットワークの探索を行った実績を有する

-3、研究の学術的背景(治療抵抗性腎細胞癌・機能性RNAネットワーク解析研究)

近年、血管新生受容体や増殖シグナル受容体を標的とした分子標的治療薬が開発され、進行腎細胞癌症例に対して、1st line または 2nd line の治療として一定の治療効果を上げている。しかしながら、腎細胞癌の多くは分子標的治療薬に治療抵抗性を獲得し、再発・転移に至る。治療抵抗性を獲得した腎細胞癌に対する有効な治療法は在しない。新規治療法の開発には、治療抵抗性を獲得した腎細胞癌細胞を対処とした、最新のゲノム解析研究が不可欠であるが、治療抵抗性に至った検体を得る事が困難である事から殆ど行われていない。このような背景の基、申請者は、分子標的治療薬治療後の剖検検体から、「治療抵抗性腎細胞癌マイクロRNA発現プロファイル」を作成し、本申請研究の準備を整えている。左の表は、治療抵抗性腎細胞癌において発現が抑制されるマイクロRNAのリストである。これらマイクロRNAが制御する機能性RNAネットワークの探索から、治療抵抗性腎細胞癌の分子メカニズムを明らかにする事が可能と考えられる。

2. 研究の目的

近年開発が相次いでいる分子標的治療薬の登場により、腎細胞癌の切除不能進行症例や、治療後に遠隔転移を認めた症例に対する治療選択肢が増えた。しかしながら、分子標的薬の治療経過中に、腎細胞癌は治療抵抗性を獲得する。治療抵抗性を獲得した腎細胞癌に対する有効な治療法は皆無であり、患者の予後は極めて不良である。本疾患の制御には、治療抵抗性を獲得した腎細胞癌における機能性RNAネットワークを探索し、治療抵抗性に関与する分子経路を遮断する戦略が不可欠である。本研究は、治療抵抗性に至り亡くなった患者の腎細胞癌を用いたゲノムワイドな機能性RNAネットワークの探索を行い、治療抵抗性に関与する分子経路を明らかにする提案である。更に、治療抵抗性腎細胞癌で活性化している分子経路を遮断する戦略を、in vitro/in vivo で検証する事である。

3. 研究の方法

治療抵抗性腎細胞癌臨床検体から得られたマイクロRNA発現プロファイルに基づいて、治療抵抗性腎癌で活性化されている分子経路を明らかにして、その経路を遮断する戦略を見つけ出す研究である。研究は、以下のステップを踏んで行う予定である。

- (1) 「治療抵抗性腎細胞癌マイクロRNA発現プロファイル」に基づき、発現変動を認めたマイクロRNAについて機能解析を施行する。
- (2) 「マイクロRNAが制御する機能性RNAネットワークを探索し、治療抵抗性腎細胞癌で活性化している分子経路を見出す。
- (3) 治療抵抗性腎細胞癌で活性化している分子経路を遮断する戦略を考案し、in vitro/in vivo における検証を行う。

4. 研究成果

分子標的治療薬(スニチニブ)治療後の剖検検体から、「治療抵抗性腎細胞癌マイクロRNA発現プロファイル」を作成し、癌組織で発現が抑制されているマイクロRNA(癌抑制型マイクロRNA)および癌組織で発現が亢進しているマイクロRNA(癌促進型マイクロRNA)の探索を行った。発現が抑制されているマイクロRNAから、miR-149-5p、miR-149-3p、miR-10a-5p、miR-451aに着

目し、これらマイクロ RNA の機能解析を施行した。その結果、これらのマイクロ RNA を腎細胞癌に核酸導入する事により、癌細胞の遊走能、浸潤能を顕著に抑制した。更に、これらマイクロ RNA が制御する分子ネットワークを探索した結果、癌の転移に関与する遺伝子を同定した。これらのマイクロ RNA が標的とする遺伝子は TCGA (the cancer genome atlas) のデータベースから腎細胞癌において予後不良因子であることが確認された。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 19 件) すべて査読有

1. Dual Strands of Pre-miR-149 Inhibit Cancer Cell Migration and Invasion through Targeting FOXM1 in Renal Cell Carcinoma.
Okato A, Arai T, Yamada Y, Sugawara S, Koshizuka K, Fujimura L, Kurozumi A, Kato M, Kojima S, Naya Y, Ichikawa T, Seki N.
Int J Mol Sci. 2017 Sep 13;18(9). pii: E1969. doi: 10.3390/ijms18091969.
2. Regulation of NCAPG by miR-99a-3p (passenger strand) inhibits cancer cell aggressiveness and is involved in CRPC.
Arai T, Okato A, Yamada Y, Sugawara S, Kurozumi A, Kojima S, Yamazaki K, Naya Y, Ichikawa T, Seki N.
Cancer Med. 2018 May;7(5):1988-2002. doi: 10.1002/cam4.1455. Epub 2018 Apr 2.
3. Regulation of spindle and kinetochore-associated protein 1 by antitumor miR-10a-5p in renal cell carcinoma.
Arai T, Okato A, Kojima S, Idichi T, Koshizuka K, Kurozumi A, Kato M, Yamazaki K, Ishida Y, Naya Y, Ichikawa T, Seki N.
Cancer Sci. 2017 Oct;108(10):2088-2101. doi: 10.1111/cas.13331. Epub 2017 Aug 19.
4. Molecular pathogenesis of renal cell carcinoma: Impact of the anti-tumor miR-29 family on gene regulation.
Yamada Y, Sugawara S, Arai T, Kojima S, Kato M, Okato A, Yamazaki K, Naya Y, Ichikawa T, Seki N.
Int J Urol. 2018 Nov;25(11):953-965. doi: 10.1111/iju.13783. Epub 2018 Aug 28.
5. Regulation of antitumor miR-144-5p targets oncogenes: Direct regulation of syndecan-3 and its clinical significance.
Yamada Y, Arai T, Kojima S, Sugawara S, Kato M, Okato A, Yamazaki K, Naya Y, Ichikawa T, Seki N.
Cancer Sci. 2018 Sep;109(9):2919-2936. doi: 10.1111/cas.13722. Epub 2018 Jul 28.
6. Anti-tumor roles of both strands of the miR-455 duplex: their targets SKA1 and SKA3 are involved in the pathogenesis of renal cell carcinoma.
Yamada Y, Arai T, Kojima S, Sugawara S, Kato M, Okato A, Yamazaki K, Naya Y, Ichikawa T, Seki N.
Oncotarget. 2018 Jun 1;9(42):26638-26658. doi: 10.18632/oncotarget.25410. eCollection 2018 Jun 1.
7. Molecular pathogenesis of pancreatic ductal adenocarcinoma: Impact of passenger strand of pre-miR-148a on gene regulation.
Idichi T, Seki N, Kurahara H, Fukuhisa H, Toda H, Shimonosono M, Okato A, Arai T, Kita Y, Mataka Y, Kijima Y, Maemura K, Natsugoe S.
Cancer Sci. 2018 Jun;109(6):2013-2026. doi: 10.1111/cas.13610. Epub 2018 May 22.
8. Dual strands of the miR-223 duplex (miR-223-5p and miR-223-3p) inhibit cancer cell aggressiveness: targeted genes are involved in bladder cancer pathogenesis.
Sugawara S, Yamada Y, Arai T, Okato A, Idichi T, Kato M, Koshizuka K, Ichikawa T, Seki N.
J Hum Genet. 2018 May;63(5):657-668. doi: 10.1038/s10038-018-0437-8. Epub 2018 Mar 14.
9. Molecular pathogenesis of interstitial cystitis based on microRNA expression signature: miR-320 family-regulated molecular pathways and targets.
Arai T, Fuse M, Goto Y, Kaga K, Kurozumi A, Yamada Y, Sugawara S, Okato A, Ichikawa T, Yamanishi T, Seki N.
J Hum Genet. 2018 May;63(5):543-554. doi: 10.1038/s10038-018-0419-x. Epub 2018 Mar 12.

10. Inhibition of integrin β 1-mediated oncogenic signalling by the antitumor microRNA-29 family in head and neck squamous cell carcinoma.
Koshizuka K, Kikkawa N, Hanazawa T, Yamada Y, Okato A, Arai T, Katada K, Okamoto Y, Seki N.
Oncotarget. 2017 Dec 11;9(3):3663-3676. doi: 10.18632/oncotarget.23194. eCollection 2018 Jan 9.
11. Impact of novel oncogenic pathways regulated by antitumor miR-451a in renal cell carcinoma.
Yamada Y, Arai T, Sugawara S, Okato A, Kato M, Kojima S, Yamazaki K, Naya Y, Ichikawa T, Seki N.
Cancer Sci. 2018 Apr;109(4):1239-1253. doi: 10.1111/cas.13526. Epub 2018 Mar 9.
12. Downregulation of matrix metalloproteinase 14 by the antitumor miRNA, miR-150-5p, inhibits the aggressiveness of lung squamous cell carcinoma cells.
Suetsugu T, Koshizuka K, Seki N, Mizuno K, Okato A, Arai T, Misono S, Uchida A, Kumamoto T, Inoue H.
Int J Oncol. 2018 Mar;52(3):913-924. doi: 10.3892/ijo.2017.4232. Epub 2017 Dec 21.
13. Antitumor miR-150-5p and miR-150-3p inhibit cancer cell aggressiveness by targeting SPOCK1 in head and neck squamous cell carcinoma.
Koshizuka K, Hanazawa T, Kikkawa N, Katada K, Okato A, Arai T, Idichi T, Osako Y, Okamoto Y, Seki N.
Auris Nasus Larynx. 2018 Aug;45(4):854-865. doi: 10.1016/j.anl.2017.11.019. Epub 2017 Dec 9.
14. Regulation of HMGB3 by antitumor miR-205-5p inhibits cancer cell aggressiveness and is involved in prostate cancer pathogenesis.
Yamada Y, Nishikawa R, Kato M, Okato A, Arai T, Kojima S, Yamazaki K, Naya Y, Ichikawa T, Seki N.
J Hum Genet. 2018 Feb;63(2):195-205. doi: 10.1038/s10038-017-0371-1. Epub 2017 Dec 1.
15. Passenger strand of miR-145-3p acts as a tumor-suppressor by targeting MYO1B in head and neck squamous cell carcinoma.
Yamada Y, Koshizuka K, Hanazawa T, Kikkawa N, Okato A, Idichi T, Arai T, Sugawara S, Katada K, Okamoto Y, Seki N.
Int J Oncol. 2018 Jan;52(1):166-178. doi: 10.3892/ijo.2017.4190. Epub 2017 Nov 6.
16. The microRNA expression signature of pancreatic ductal adenocarcinoma by RNA sequencing: anti-tumour functions of the microRNA-216 cluster.
Yonemori K, Seki N, Idichi T, Kurahara H, Osako Y, Koshizuka K, Arai T, Okato A, Kita Y, Arigami T, Mataka Y, Kijima Y, Maemura K, Natsugoe S.
Oncotarget. 2017 Jul 26;8(41):70097-70115. doi: 10.18632/oncotarget.19591. eCollection 2017 Sep
17. Regulation of actin-binding protein ANLN by antitumor miR-217 inhibits cancer cell aggressiveness in pancreatic ductal adenocarcinoma.
Idichi T, Seki N, Kurahara H, Yonemori K, Osako Y, Arai T, Okato A, Kita Y, Arigami T, Mataka Y, Kijima Y, Maemura K, Natsugoe S.
Oncotarget. 2017 May 29;8(32):53180-53193. doi: 10.18632/oncotarget.18261. eCollection 2017 Aug 8.
18. Involvement of aberrantly expressed microRNAs in the pathogenesis of head and neck squamous cell carcinoma.
Koshizuka K, Hanazawa T, Arai T, Okato A, Kikkawa N, Seki N.
Cancer Metastasis Rev. 2017 Sep;36(3):525-545. doi: 10.1007/s10555-017-9692-y. Review.
19. Regulation of SPOCK1 by dual strands of pre-miR-150 inhibit cancer cell migration and invasion in esophageal squamous cell carcinoma.
Osako Y, Seki N, Koshizuka K, Okato A, Idichi T, Arai T, Omoto I, Sasaki K, Uchikado Y, Kita Y, Kurahara H, Maemura K, Natsugoe S.

〔学会発表〕(計 2 件)

The microRNA expression signature of patients with renal cell carcinoma :
tumor-suppressive miR-149-5p targeting FOXM1

2017 AUA Annual Meeting (国際学会)

腎細胞癌・マイクロRNA発現プロファイルに基づく、機能性RNAネットワークの探索

第106回日本泌尿器科学会総会

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

(2) 研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。