

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：10107
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2018～2020
課題番号：18K08131
研究課題名(和文) BET阻害剤の抗腫瘍効果におけるmiRNAの機能の解析

研究課題名(英文) miRNA functional analysis in BET inhibitors

研究代表者

大崎 能伸 (Ohsaki, Yoshinobu)

旭川医科大学・大学病院・客員教授

研究者番号：30191935

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：BET阻害剤が新たな癌の治療薬として応用され始めている。BETファミリータンパクに対するBET阻害剤の機能はよく研究されているが、がん治療の作用機序については不明な部分が多い。我々が行った基礎研究では、BET阻害剤の長期投与により、がん細胞がBET阻害剤への耐性を獲得してしまうことが明らかとなった。さらに、BET阻害剤の作用点であるBRDタンパクの遺伝子解析を行ったが、遺伝子変異は明らかではなかった。miRNAの解析を行なった結果、耐性株ではmiRNAの一部が上昇していることを突き止めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々の研究結果から、がん細胞はBET阻害剤に耐性を獲得してしまうことがわかった。さらに、その機序としてはプロモドメイン領域の獲得耐性変異ではないことも突き止めた。一部で癌の増殖を亢進するようなOncomiRNAの発現が上昇していたことから、BET阻害剤耐性の1つの機序として考えられた。これらの成果から、BET阻害剤の臨床応用の際には獲得耐性の克服が重要であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：BET inhibitors are beginning to be applied as new therapeutic agents for cancer. The function of BET inhibitors on BET family proteins has been well studied, but the mechanism of action of cancer treatment remains unclear. Our primary research revealed that long-term administration of BET inhibitors causes cancer cells to acquire resistance to BET inhibitors. Furthermore, we performed a genetic analysis of the BRD genes, but the gene mutations were unclear. As a result of analyzing miRNA, it was found that a miRNA expression was elevated in the resistant cells.

研究分野：呼吸器内科

キーワード：BET阻害剤

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

BET ファミリータンパクはプロモドメインの繰り返し配列を持つタンパクで、遺伝子発現を制御する働きを持つ。近年、BET 阻害剤が癌治療へ応用されつつあるが、その作用メカニズムについては不明な部分が多い。

2. 研究の目的

BET 阻害剤の作用機序を解明し、がん治療における BET 阻害剤の耐性メカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 獲得耐性遺伝子変異の探索

肺癌、乳がん、NUT 癌細胞株より DNA を抽出した。抽出には QIAamp DNA mini kit を用いた。DNA の quality check には Qubit 2.0, Qubit dsDNA HS assay を用いた。抽出した DNA 100nmol を用いて、次世代シーケンサーによる変異解析を行なった。次世代シーケンサーには Ion PGM system を用いた。Ion Ampliseq Library kit 2.0 および Ion Ampliseq カスタムパネルを用いてターゲット領域を増幅した。増幅後の品質管理には Agilent 2100 Bioanalyzer, Agilent High Sensitivity DNA kit を用いた。変異解析には CLC Genomics Workbench ソフトを用いた。

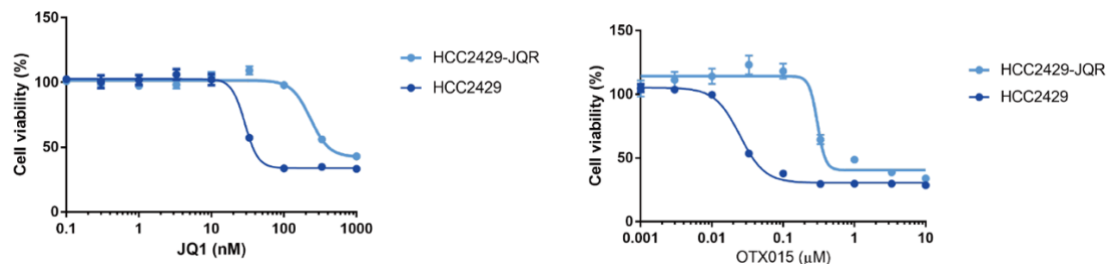
(2) miRNA 解析

肺癌、乳がん、NUT 癌細胞株より small RNA を抽出した。抽出には PureLink miRNA isolation kit を用いた。quality check には Qubit 2.0, Qubit RNA HS assay を用いた。抽出した RNA を次世代シーケンサーによる RNA シークエンスを行なった。Small RNA を Ion Total RNA-seq kit を用いて cDNA を増幅し、増幅後の品質管理には Agilent 2100 Bioanalyzer, Agilent High Sensitivity DNA kit を用いた。microRNA 発現量解析には TaqMan miRNA assay および QuantStudio 3D Digital PCR を用いた。

4. 研究成果

(1) 獲得耐性遺伝子変異が検出されなかった。

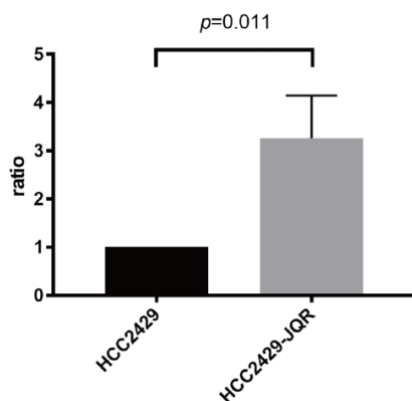
肺癌、乳がん、NUT 細胞について、BET 阻害剤耐性株を作成した (下図)。



耐性株を用いて BET タンパクのプロモドメインの遺伝子変異解析を行なったが、BET 阻害剤結合部位周辺の遺伝子変異は検出されなかった。

(2) 主要な miRNA 発現プロファイルに変化を認めなかったが、一部の oncomiR の発現が上昇していた (下図)。

BRD4 阻害剤耐性株と非耐性株とで miRNA の発現プロファイルを解析したが、主要な miRNA の発現量に一定の傾向は見られなかった。しかし、我々の研究室で行なっている別のプロジェクトで BET 阻害剤との関連が示された oncomiR を検索した結果、miR-21 の発現量が耐性株で増えていた。



<引用文献>
なし。

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
---------	---------