

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15802

研究課題名(和文)肝細胞癌の病態形成における抑制系免疫細胞とnon-coding RNAの関わり

研究課題名(英文) Relationship between immune suppressor cells and non-coding RNA in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma

研究代表者

岩田 朋晃 (Iwata, Tomoaki)

東北大学・医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：30803647

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)：https://portal.gdc.cancer.gov/のデータベースを用いて、non-coding RNAであるSNHG6、SNHG8、SNHG5がヒト肝細胞癌において高発現していることを見出した。上記RNAのプライマーを作成し、代表的な肝細胞癌株(HepG2、Hep3B、Huh7S、Li7)での高発現を確認した。SNHG5、6、8に対するsiRNAをもちい、発現を抑制した肝細胞癌株を作成し、末梢血リンパ球と共培養したのちフローサイトメトリーを行うことで、ある種の抑制系免疫細胞の割合が変化していることを認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝細胞癌の再発や転移のリスクや予後を評価する上で、「癌細胞側の因子」と「腫瘍免疫側の因子」を検討する必要がある。「癌細胞側の因子」としてnon-coding RNAの重要性が示され、一方で「腫瘍免疫側の因子」として、単球・マクロファージや骨髄球系細胞といった抑制系免疫細胞の重要性が示されてきているが、「癌細胞側の因子」と「腫瘍免疫側の因子」との関連については不明な点が多い。本検討では肝細胞癌のnon-coding RNAが腫瘍免疫に影響を及ぼす可能性について示した。今後、さらに広く行われる免疫療法の効果を増強することができる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We examined the expression of non-coding RNA in human HCC using the database at "https://portal.gdc.cancer.gov/". SNHG5, SNHG6 and SNHG8 were highly expressed in human HCC.

Primers for the above RNAs were prepared, and it was confirmed that the above RNAs were highly expressed in typical HCC cell line (HepG2, Hep3B, Huh7S, Li7). HCC cell lines in which the expression of SNHG 5, 6 and 8 was suppressed were prepared by using siRNA.

By co-culturing with the cell lines and peripheral blood lymphocytes and then performing flow cytometry, it was found that the proportion of certain suppressive immune cells was changed.

研究分野：肝細胞癌、腫瘍免疫

キーワード：肝細胞癌 腫瘍免疫 non coding RNA 抑制系免疫細胞 cell-free DNA TERT promoter

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

肝細胞癌の病態形成における抑制系免疫細胞と non-coding RNA の関わり

1. 研究開始当初の背景

肝細胞癌の再発や転移のリスクや予後を評価する上で、「癌細胞側の因子」と「腫瘍免疫側の因子」を検討する必要がある。「癌細胞側の因子」として non-coding RNA (microRNA や long non-coding RNA)の重要性が示されてきており、一方で「腫瘍免疫側の因子」として、単球・マクロファージや骨髄球系細胞といった抑制系免疫細胞の重要性が示されてきているが、「癌細胞側の因子」と「腫瘍免疫側の因子」との関連については不明な点が多い。

2. 研究の目的

肝細胞癌の non-coding RNA が、腫瘍免疫動態にどのような影響を及ぼすかを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

<https://portal.gdc.cancer.gov/>のデータベースを用いて、ヒト肝細胞癌の non-coding RNA の発現を調べ、高発現している non-coding RNA を発見する。肝細胞癌株でも同じ RNA が発現していることを確認し、siRNA を用いて、抑制株を作成する。末梢血単核細胞と共培養したのちフローサイトメトリーを行うことで、末梢血単核細胞中のサブセットにどのような影響を及ぼすかを検討する。

肝細胞癌に対して分子標的薬および免疫チェックポイント阻害薬で治療を行なっている肝癌組織の遺伝子変異と癌由来 cell-free DNA の遺伝子変異の相同性ならびに治療前後での cell-free DNA の遺伝子変異モチーフの変化について ex vivo での検討を行った。TERT promoter、CTNNB1、TP53 の 3 領域の遺伝子変異を調べた。

4. 研究成果

long non-coding RNA である SNHG6、SNHG8、SNHG5 がヒト肝細胞癌において高発現していることを見出した。上記 RNA のプライマーを作成し、代表的な肝細胞癌株(HepG2、Hep3B、Huh7S、Li7)での高発現を確認した。

発現を抑制した肝細胞癌株を作成し、末梢血リンパ球と共培養したのちの FACS 解析にて、ある種の抑制系免疫細胞の割合が変化していることを認めた。

Relationship between immune suppressor cells and non-coding RNA in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma

It is necessary to consider "factors on the cancer cells" and "factors on the tumor immunology", to assess the risk and prognosis of recurrence and metastasis of hepatocellular carcinoma (HCC).

The importance of non-coding RNA (microRNA and long non-coding RNA) has been shown as a "factors on the cancer cell", on the other hand, the importance of immune suppressor cells such as monocytes/ macrophages and myeloid cells has been shown as "factors on the tumor immunology".

However, there are many unclear points regarding the relationship between "factors on the cancer cell" and "factors on the tumor immunology."

In this study, we focus on non-coding RNA of HCC and clarify how it affects tumor immunokinetics.

We examined the expression of non-coding RNA in human HCC using the database at "<https://portal.gdc.cancer.gov/>".

SNHG5, SNHG6 and SNHG8 were highly expressed in human HCC.

Primers for the above RNAs were prepared, and it was confirmed that the above RNAs were highly expressed in typical HCC cell line (HepG2, Hep3B, Huh7S, Li7).

HCC cell lines in which the expression of SNHG 5, 6 and 8 was suppressed were prepared by using siRNA.

By co-culturing with the cell lines and peripheral blood lymphocytes and then performing flow cytometry, it was found that the proportion of certain suppressive immune cells was changed.

We are currently studying the mechanism.

HCC tissue was collected from patients treated with molecular-targeted drugs and immune checkpoint inhibitors for hepatocellular carcinoma.

Ex vivo studies were conducted on the homology between the gene mutation in liver cancer tissue and the gene mutation in cancer-derived cell-free DNA, and the change in the gene mutation motif in cell-free DNA before and after treatment.

We investigated gene mutations in the three regions of TERT promoter, CTNNB1 and TP53.

Currently, we are accumulating cases.

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