

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07413

研究課題名(和文) 骨肉腫分子病理診断の革新と治療

研究課題名(英文) Innovative histopathological diagnosis and therapy in osteosarcoma

研究代表者

森谷 鈴子 (Suzuko, Moritani)

滋賀医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20283559

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)：骨肉腫に於いて、RAB39A-RXRБ経路は臨床病理学的なバイオマーカーとはならなかった。しかし、一方で、RAB39A分子の標的阻害は、骨肉腫全般に於いて、強い抗がん効果を示し、本分子阻害は骨肉腫に対して広く治療適用可能と解った。

RXRБ経路を支援する分子探索を更に実施し、RDH10分子を新規同定した。RDH10分子は、卵巣がんにおいて、がん幹細胞機能の維持に重要であり、RDH10-PEPCK-RXRБの分子経路を阻害することで、卵巣がん幹細胞のcarbohydrate貯蔵能を抑制し、がん幹細胞機能を阻害できることが明らかになった。本分子経路は、卵巣がんに対する新たな治療標的となり得る。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨肉腫に於いてはRAB39A-RXRБ経路は臨床病理学的なバイオマーカーとはなりませんでしたが、RXRБがん幹細胞経路を支援する分子探索を更に実施することで、RDH10分子を新規に同定しました。

RDH10分子は、骨肉腫ではなく、卵巣がんにおいて、がん幹細胞機能の維持に極めて重要であり、RDH10-PEPCK-RXRБの分子経路を阻害することで、卵巣がん幹細胞のcarbohydrate貯蔵能を抑制し、がん幹細胞機能を強く阻害できることが明らかになりました。本経路の阻害は、卵巣がんに対する新たな治療標的となり得ると考えられます。

研究成果の概要(英文)：In osteosarcomas, RAB39A-RXRБ pathway wasn't a clinicopathological biomarker. On the other hand, targeted RAB39A inhibition showed strong anticancer effects in many osteosarcomas, indicating that this molecular inhibition has broadly therapeutic applicability in osteosarcomas.

We further searched for molecules supporting RXRБ-cancer stem pathway and identified RDH10, which is important for maintaining carbohydrate storage in ovarian cancer stem cells. Inhibiting RDH10-PEPCK-RXRБ molecular pathway can reduce the cancer stem cell function in ovarian cancers, suggesting the molecular inhibition of this pathway will become a novel therapeutic target for ovarian cancers.

研究分野：臨床病理学

キーワード：RAB39A RXRБ osteosarcoma RDH10 ovarian cancer carbohydrate cancer stem cell

## 1. 研究開始当初の背景

骨肉腫治療へ高用量抗がん剤が適用されるようになり 30 年以上経過しているが、その後、治療成績に大きな改善は見られないままである。未だ 1/3 の症例は肺転移、死亡に至る。肺転移、死亡を規定する分子マーカー、治療標的分子も十分には分かっていない。我々は、酸性がん微小環境の骨肉腫細胞の挙動に着目し、multi-omics 解析を進め (Chano, et al. Am J Cancer Res 2016; Avnet, et al. Oncotarget 2016, Int J Cancer 2017)、この過程で骨肉腫のがん幹細胞を規定する新規分子経路 RAB39A-RXRБ を同定した (Chano, et al. Oncotarget 2018, J Biochem 2018)。骨肉腫がん幹細胞性を規定している RAB39A-RXRБ 分子経路が臨床病理診断マーカーとして骨肉腫の予後も規定できるのではないかと、そして、RAB39A-RXRБ 経路が分子標的と成り、骨肉腫治療に革新をもたらせるのではないかと考え、研究を開始した。

## 2. 研究の目的

骨肉腫コホートについては、約 100 例の病理サンプル、臨床データを収集しており、また、RAB39A, RXRB 分子標的阻害実験に関しても、in vitro, in vivo で実施可能な骨肉腫細胞株と RNAi を用いた阻害実験の条件を整えてきていたので、これらを用いて、新規の骨肉腫がん幹細胞経路 RAB39A-RXRБ を適用した、(a) 分子病理診断、(b) 分子標的治療、の開発を目指し、研究を展開した。

## 3. 研究の方法

### (a) 骨肉腫に於ける RAB39A, RXRB の分子病理学的意義の解明

骨肉腫コホートに於ける RAB39A, RXRB の発現レベル評価を免疫組織化学的手法にて実施した。

### (b) RAB39A-RXRБ 経路を標的とする骨肉腫分子標的治療の意義の解明

骨肉腫 in vitro 実験モデルに於いて、RNAi を用いた RAB39A-RXRБ 分子経路を標的とする分子阻害実験を行った。

### (c) がん幹細胞の維持に関わる RXRB をコントロールする分子経路、分子探索の再探索

骨肉腫細胞 143B を用いた RNA seq 解析に依る transcriptome profiling に依り、がん幹細胞の維持に関わる RXRB をコントロールする分子経路、必須分子の再探索を実施した。

### (d) 卵巣がん、特に卵巣明細胞癌に於ける RDH10 高発現の意義の解明

RDH10 分子は骨肉腫ではがん幹細胞の維持に寄与しないものの、卵巣がん、特に卵巣明細胞癌に於いて高発現を示し、そのがん幹細胞性に寄与することが示唆されたので、卵巣がんに於ける RDH10 発現の状態を免疫組織化学的手法にて評価した。

また、卵巣明細胞癌細胞 (ES-2, TOV-21G) を用いた RNAi 実験により、その糖新生、貯蔵機能、がん幹細胞性について、評価を行った。

## 4. 研究成果

約 100 例のコホートに於いて各蛋白の発現レベルの評価を行ったが、発現状態と病理、及び、臨床データに有意な関連は見つけられなかった。RAB39A-RXRБ 経路の発現 variation は見られず、発現状態と病理、及び、臨床データに有意な関連は見つけられなかった。RAB39A, RXRB 両分子は骨肉腫のほぼ全ての症例に於いて高発現であり、その病態に深く関わることが推定され

た。しかし、臨床病理学的な予後診断マーカーとしての有用性は乏しいと考えられた。

一方で、骨肉腫各細胞 (U2OS, Saos-2, HOS, 143B) に於いて、RAB39A RNAi を用いた標的阻害は強い抗がん効果を示した。本結果は、2D culture を用いた骨肉腫細胞の増殖阻害実験でも、また、3D spheroid culture を併用した骨肉腫がん幹細胞 sphere の阻害実験でも共通しており、RAB39A は骨肉腫に対する良い分子標的になり得ると考えられた。

骨肉腫細胞 143B に於ける transcriptome profiling に依り、がん幹細胞の維持に関わる RXRB をコントロールする分子経路、必須分子の探索を行った結果、vitamin A and carotenoid 代謝経路の RDH10 が key molecule であることを同定した。

RDH10 分子は骨肉腫ではがん幹細胞の維持に寄与しないものの、卵巣がん、特に卵巣明細胞癌において極めて高い発現状態を示し、重要な働きをしていることが示唆された。よって、卵巣がん 111 例 (明細胞癌 55 例、類内膜癌 31 例、漿液性癌 25 例) のコホートに於いて、RDH10 の発現状態を免疫組織化学的手法にて評価した。この結果、RDH10 分子は特に卵巣明細胞癌に於いて高い発現状態を示し、そのがん幹細胞性に強く寄与することが示唆された。

卵巣明細胞癌細胞 (ES-2, TOV-21G) を用いた RDH10 分子の抑制及び高発現実験により、卵巣明細胞癌では、RDH10-PEPCK-RXRβ 分子経路を介して、がん幹細胞の carbon hydrate 貯蔵能、がん幹細胞としての sphere 形成機能が維持されていることが明らかとなった。本分子経路を標的として阻害することが、卵巣がんに対する新たな治療標的分子経路となり得ることを明らかにした。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Ishizawa Michihito, Okabe Hidetoshi, Matsumoto Keiji, Morimoto Shigeru, Hukuda Sinsuke, Chano Tokuhito	4. 巻 S0949-2658(20)
2. 論文標題 Histopathological explanation of the MRI target sign in extra-axial schwannomas	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Science	6. 最初と最後の頁 30194-30199
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jos.2020.06.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kubota Shigehisa, Yoshida Tetsuya, Kageyama Susumu, Isono Takahiro, Yuasa Takeshi, Yonese Junji, Kushima Ryoji, Kawauchi Akihiro, Chano Tokuhito	4. 巻 18
2. 論文標題 A risk stratification model based on four novel biomarkers predicts prognosis for patients with renal cell carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 World Journal of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 270
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12957-020-02046-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Amano Tsukuru, Murakami Atsushi, Murakami Takashi, Chano Tokuhito	4. 巻 10
2. 論文標題 Antioxidants and Therapeutic Targets in Ovarian Clear Cell Carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Antioxidants	6. 最初と最後の頁 187 ~ 187
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/antiox10020187	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 KAGEYAMA SUSUMU, MAEDA KOKI, KUBOTA SHIGEHISA, YOSHIDA TETSUYA, OSAFUNE TAKASHI, ARAI YUTAKA, SOGA HIROKI, NISHIKAWA ZENKAI, SAKANO YUJI, TAKIMOTO KEITA, KIM CHUL JANG, CHANO TOKUHIRO, KAWAUCHI AKIHIRO	4. 巻 35
2. 論文標題 Single Short Retention Instillation of Pirarubicin Prevents Intravesical Recurrence of Low-risk Non Muscle Invasive Bladder Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 In Vivo	6. 最初と最後の頁 1141 ~ 1145
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/invivo.12360	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Amano Tsukuru, Chano Tokuhiko	4. 巻 Chapter 8
2. 論文標題 Linking oxidative stress and ovarian cancers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer; Oxidative Stress and Dietary Antioxidants; Book; Second Edition	6. 最初と最後の頁 77 ~ 86
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/B978-0-12-819547-5.00008-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Taniguchi Keiko, Ii Hiromi, Kageyama Susumu, Takagi Hiroko, Chano Tokuhiko, Kawauchi Akihiro, Nakata Susumu	4. 巻 517
2. 論文標題 Depletion of gamma-glutamylcyclotransferase inhibits cancer cell growth by activating the AMPK/FOXO3a/p21 axis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 238 ~ 243
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.07.049	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Amano Tsukuru, Chano Tokuhiko, Yoshino Fumi, Kimura Fuminori, Murakami Takashi	4. 巻 7
2. 論文標題 Current Position of the Molecular Therapeutic Targets for Ovarian Clear Cell Carcinoma: A Literature Review	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Healthcare	6. 最初と最後の頁 94 ~ 94
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/healthcare7030094	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 TAKAGI HIROKO, Ii HIROMI, KAGEYAMA SUSUMU, HANADA EIKI, TANIGUCHI KEIKO, YOSHIYA TAKU, CHANO TOKUHIRO, KAWAUCHI AKIHIRO, NAKATA SUSUMU	4. 巻 39
2. 論文標題 Blockade of $\gamma$ -Glutamylcyclotransferase Enhances Docetaxel Growth Inhibition of Prostate Cancer Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 4811 ~ 4816
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.13666	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Avnet S, Chano T, Massa A, Bonuccelli G, Lemma S, Falzetti L, Grisendi G, Dominici M, Baldini N.	4. 巻 9
2. 論文標題 Acid microenvironment promotes cell survival of human bone sarcoma through the activation of cIAP proteins and NF- B pathway.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Am J Cancer Res	6. 最初と最後の頁 1127-1144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Amano Tsukuru, Chano Tokuhiko, Isono Takahiro, Kimura Fuminori, Kushima Ryoji, Murakami Takashi	4. 巻 17
2. 論文標題 Abundance of mitochondrial superoxide dismutase is a negative predictive biomarker for endometriosis-associated ovarian cancers	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 World Journal of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12957-019-1565-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 HANADA EIKI, KAGEYAMA SUSUMU, MURAI RYOSUKE, KUBOTA SHIGEHISA, II HIROMI, NAKATA SUSUMU, KITA HIROKO, KAWAUCHI AKIHIRO, CHANO TOKUHIRO	4. 巻 39
2. 論文標題 Pro-GA, a Novel Inhibitor of -Glutamylcyclotransferase, Suppresses Human Bladder Cancer Cell Growth	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 1893 ~ 1898
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticanres.13297	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshino Fumi, Amano Tsukuru, Zou Yajuan, Xu Jian, Kimura Fuminori, Furusho Yoshio, Chano Tokuhiko, Murakami Takashi, Zhao Li, Komatsu Naoki	4. 巻 15
2. 論文標題 Preferential Tumor Accumulation of Polyglycerol Functionalized Nanodiamond Conjugated with Cyanine Dye Leading to Near Infrared Fluorescence In Vivo Tumor Imaging	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Small	6. 最初と最後の頁 1901930 ~ 1901930
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/smll.201901930	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Murakami Atsushi, Amano Tsukuru, Yoshino Fumi, Kita Hiroko, Moritani Suzuko, Murakami Takashi, Chano Tokuhiko	4. 巻 34
2. 論文標題 Retinol dehydrogenase 10 contributes to cancer stemness and intracellular carbohydrate storage in ovarian clear cell carcinomas	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Biomarkers	6. 最初と最後の頁 1~7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/CBM-210435	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔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
研究分担者	茶野 徳宏  (Chano Tokuhiko)  (40346028)	滋賀医科大学・医学部・准教授    (14202)	

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