

令和 6 年 6 月 8 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16351

研究課題名（和文）乳癌におけるITAFsの生物学的特性の解明とITAFs標的治療開発への挑戦的研究

研究課題名（英文）The solution of biological specificity of ITAFs and the possible therapeutic target in breast cancer

研究代表者

中川 紗紀 (Nakagawa, Saki)

東北大学・医学系研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：50781580

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）：研究代表者は本研究課題採択後の2020年3月より東北大学の関連病院へ異動となった。COVID-19の流行により勤務地と研究施設の往来が制限される中、平日はフルタイムで臨床診療を行っており、本研究を遂行するための時間を確保することが困難であった。COVID-19の影響による行動制限の緩和後も、現在の勤務地での診療業務と研究の両立は困難であったため、本研究課題を取り下げ、研究費を返還した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌領域におけるITAFsの意義や生物学的特性は未知である。また乳癌の特徴であるERシグナルやHER2シグナルとの関連も明らかではなく、個々のITAFsによって癌増殖・抑制に関わる機能が異なってくる可能性がある。本研究は、この未開の領域に対する独自のかつ創造的研究である。本研究は乳癌を対象としているが、将来的に他癌腫への応用も可能である。

研究成果の概要（英文）：The principal investigator was transferred to an affiliated hospital in March 2020, thus it was impossible to accomplish this research. The PI withdrew this research project and refunded Grants-in-Aid for Scientific Research.

研究分野：乳癌

キーワード：乳癌 ITAFs

※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、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

癌領域では遺伝子発現の研究と共に、実際に機能を持つタンパク質が生成される過程が、癌の増殖機序の解明や新規治療開発の標的として注目されている。

本研究では、複数の癌組織において腫瘍関連タンパク質の生成に関与すると考えられている内部リボソーム導入部位(Internal Ribosomal Entry Sites: IRESs)、IRESs 関連タンパク(IRES-transactivating protein: ITAFs)に着目し、ヒト乳癌組織における ITAFs の発現を評価し、薬物治療の効果や予後との関連を検討する。さらに ITAFs を標的とした創薬研究を行い既存の治療薬との相乗効果について検討する。

2. 研究の目的

癌領域において遺伝子発現の研究が盛んに行われているが、機能を有するタンパク質が生成される過程における mRNA の翻訳は非常に重要である。翻訳開始に重要な機構として内部リボソーム導入部位(Internal Ribosomal Entry Sites: IRESs)と、付随する IRESs 関連タンパク(IRES-transactivating protein: ITAFs)が注目されており、これらは乳癌のドライバー因子として極めて重要な c-MYC, IGF1R 等の腫瘍関連タンパク質の生成にも関与すると考えられるが、その機序や生物学的特性については解明されていない。本研究では、ヒト乳癌組織における ITAFs 発現を評価し、サブタイプ・薬物治療効果・予後との関連を検討する。さらに ITAFs を標的とした創薬研究を行い、血管新生・腫瘍免疫・各バイオマーカーに対する既存の治療薬との相乗効果について検討する。

3. 研究の方法

本研究ではヒト乳癌組織の手術検体や動物を用いた実験を行う点を踏まえ、所属施設の倫理委員会の審査・承認を得た上で研究を開始する。

研究の第一段階では乳癌細胞株における ITAFs のタンパク質や遺伝子の発現、ITAFs が乳癌細胞に及ぼす影響や他因子との関連を *in vitro* にて解明する。まずヒト乳癌細胞株(MCF-7, MCF12, T47D, MDA-MB231)で Western-Blot 法、Immunofluorescence 法にて ITAFs の発現を検討し、qPCR により RNA レベルにおける ITAFs の発現状況を確認する。次に MDA-MB-231 細胞株に ITAFs 遺伝子(PTBP1, STRBP)を pTRIPZ vector を用いて遺伝子導入し増殖能を検討する。また Soft Agar 及び Matrigel の Invasion Assay にて浸潤能を検討する。遺伝子導入した MDA-MB-231-PTBP1/STRBP を NOD/SCID/ IL-2 γ R^{-/-} (NGS) ノックダウンマウスの mammary fat pad (MFP)に移植し、摘出腫瘍の qPCR を行い ITAFs の遺伝子発現を検討する。血清、凍結標本、FFPE 組織を用いて、ITAFs のタンパクレベルの発現状況、血管新生・腫瘍免疫への影響を検討する。VEGF-A, FGF2, CEGFR(Flt-1, Flk-1)などの血管新生因子や CD4, CD8, Foxp3, CTLA4, PD-1, PD-L1 などの腫瘍免疫因子との関連から、腫瘍微小環境への影響を検討する。

第二段階では、ヒト乳癌組織検体における ITAFs の発現と、他因子(血管新生, 腫瘍免疫, ER, PgR, HER2)・薬物治療効果・予後との関連を検討する。長期予後が判明している乳癌 200 症例(術前化学療法施行例を含む)の FFPE 組織検体を用いて ITAFs の免疫組織化学染色を行い、VEGF-A, FGF2, CEGFR(Flt-1, Flk-1)などの血管新生因子や CD4, CD8, Foxp3, CTLA4, PD-1, PD-L1 などの腫瘍免疫因子、ER, PgR, HER2, Ki67 の発現との相関性を検討する。さらに凍結検体を用いて qPCR にて上記因子の遺伝子発現状況も検討する。また薬物治療効果や予後と ITAFs 発現の関連性を検討する。

第三段階では、ITAFs を標的とした IgG 抗体を精製し、IgG 抗体に Cytotoxic agents を結合させた治療薬の開発を行う。抗体の ADCC 活性の効果増強目的にアフコシル化を行い、Fc γ と Fc γ 受容体 III との結合能を高め、薬理作用の増強を行う。担癌マウスモデルを用いて、腫瘍増殖抑制効果を検証する。また上記の結果を踏まえて、血管新生阻害剤、免疫チェックポイント阻害剤、内分泌療法、抗 HER2 療法との併用治療に関しても検証を行う。

4. 研究成果

研究代表者は本研究課題採択後の 2020 年 3 月より東北大学の関連病院へ異動となった。COVID-19 の流行により勤務地と研究施設の往来が制限される中、平日はフルタイムで臨床診療を行っており、本研究を遂行するための時間を確保することが困難であった。COVID-19 の影響による行動制限の緩和後も、現在の勤務地での診療業務と研究の両立は困難であったため、本研究課題を取り下げ、研究費を返還した。

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