

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：13802

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18277

研究課題名（和文）頭頸部癌における1分子RNAメチル化解析法の確立について

研究課題名（英文）Analysis of one molecule RNA methylation in HNSCC

研究代表者

望月 大極（Mochizuki, Daiki）

浜松医科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40467246

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）：DNAメチル化などの塩基修飾が癌化機構など多様な影響を与えることが広く認識されている。なかでも次世代シーケンサーの登場で近年分子生物学が発展し、RNA領域におけるエピトランスクリプトーム研究は広がりを見せている。我々はこれまで頭頸部癌において、腫瘍・正常検体を用いDNAメチル化を特に研究してきた。最近、蛍光法を使ったRNAメチル化解析に取り組んだ。蛍光m6A測定法にて頭頸部癌では癌部でm6A比率が高く、高m6A比率群は予後不良である結果を得ることができた。あらたに網羅的1分子RNA修飾を行い、よりRNA修飾の実態にそった頭頸部癌におけるRNAメチル化と癌化機構についての知見を蓄積できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

1分子RNA修飾は、特に頭頸部癌においてRNA修飾解析で革新的な進歩をもたらす可能性がある。これで、DNA修飾の研究が中心であったが、網羅的1分子RNA修飾解析によって、あらたな頭頸部癌研究のフィールドを切り開く可能性がある。頭頸部癌に特異的な1分子RNA修飾が特定できたら、リキッドバイオプシーにて1分子RNA修飾を検知する新しい手法の開発につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：It is widely recognised that DNA methylation and other base modifications have diverse effects, including oncogenic mechanisms. In particular, with the recent development of molecular biology with the advent of next-generation sequencers, epitranscriptome research in the RNA domain has been expanding. We have specifically studied DNA methylation in head and neck cancer using tumour and normal specimens. Recently, we have worked on RNA methylation analysis using fluorescence methods. Fluorescence m6A assays have shown that the m6A ratio in head and neck cancers is high in the tumour zone and that the high m6A ratio group has a poor prognosis.

We performed another comprehensive single-molecule RNA modification and accumulated knowledge on RNA methylation and the mechanism of cancerisation in head and neck cancers, which is more in line with the actual situation of RNA modification.

研究分野：頭頸部癌

キーワード：RNA修飾 m6Aシーケンス ナノポアシーケンサー エピトランスクリプトーム

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

DNA メチル化などの塩基修飾が癌化機構など多様な影響を与えることが広く認識されている。なかでも次世代シーケンサーの登場で近年分子生物学が発展し、RNA 領域におけるエピトランスクリプトーム研究は広がりを見せている。我々はこれまで頭頸部癌において、腫瘍・正常検体を用い DNA メチル化を特に研究してきた。最近、蛍光法を使った RNA メチル化解析に取り組んだ。蛍光 m6A 測定法にて頭頸部癌では癌部で m6A 比率が高く、高 m6A 比率群は予後不良である結果を得ることができた。さらに、関連遺伝子群の解析及びノックダウン頭頸部癌細胞株を作成した。RNA 修飾に関する研究はまだ発展途上の分野である。

当初、ナノポアシーケンサーを使って、RNA そのものを直接 1 分子ごと塩基分子識別する予定であった。研究途中に、Arraystar 社から Epitranscriptomic Array 解析が日本においても実施可能となったため、1 遺伝子ごとの m6A 計測し RNA 修飾プロファイリングを実施することができた。頭頸部癌における RNA メチル化と癌化機構についての知見を蓄積していきたいと考えた。

2. 研究の目的

本研究は、1 遺伝子ごと効率的に解析できる Array 法にて網羅的に RNA メチル化度を評価し、RNA 修飾による RNA 発現への影響の実態にそった頭頸部癌における RNA メチル化と癌化機構についての知見蓄積を目的としている。

3. 研究の方法

HPV 関連中咽頭癌 3 症例の癌部と正常部のサンプルを、Epitranscriptomic Array 解析にて計測する。少量サンプルでの解析が可能で、3 μ g の totalRNA を用意する。どの遺伝子転写産物が修飾されているか、条件間の差動的な修飾、各転写産物に対する修飾の割合を単一のマイクロアレイで同時にプロファイルする。

4. 研究成果

1. Epitranscriptomic Array 解析

癌部と正常部のペア 3 サンプルの解析により、癌部 T344 と T345 に高 m6A 遺伝子が多いことがわかる。正常サンプルの N344 と N345 は癌部と比べて全体的に低 m6A である。T309 と N309 を比べると T309 に高 m6A 遺伝子群があることがわかる。(図 1)

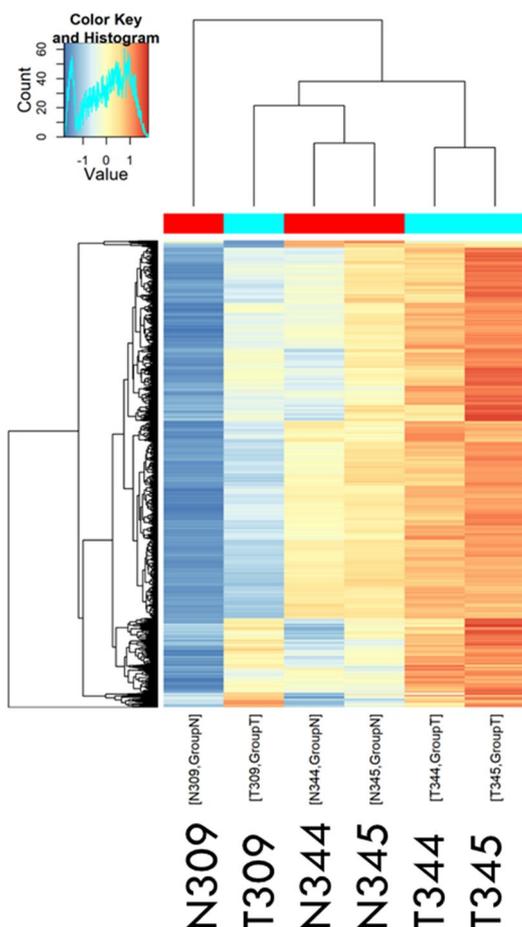


図 1

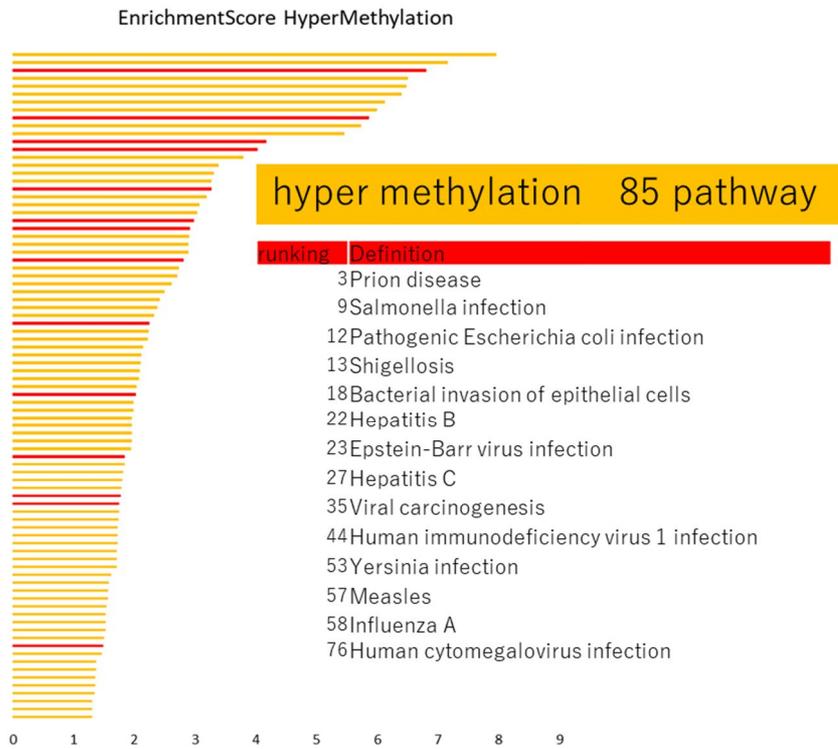


図 2

2. KEGG Pathway 解析

85 のパスウェイにて高 m6A を認めた。ウイルス感染に関係するパスウェイが関連する傾向にあった。HPV 関連中咽頭癌症例において癌部において高 m6A が見られ、発癌、進行に関連すると予想される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 望月大極, 山口裕貴, 竹内一隆, 今井篤志, 瀧澤義徳, 三澤清	4. 巻 48
2. 論文標題 頸動脈破裂に対して血管内治療を行った頭頸部癌2症例	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 頭頸部癌	6. 最初と最後の頁 344-350
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 Yamada S, Misawa K, Mima M, Imai A, Mochizuki D, Yamada T, Shinmura D, Kita J, Ishikawa R, Yamaguchi Y, Misawa Y, Kawasaki H and Mineta H	4. 巻 12(8)
2. 論文標題 Telomere shortening in head and neck cancer: association of DNA demethylation and survival.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 2165-2172
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/jca.54760	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 Ishikawa R, Imai A, Mima M, Yamada S, Takeuchi K, Mochizuki D, Shinmura D, Kita J, Nakagawa T, Kurokawa T, Misawa Y, Nakanishi H, Takizawa Y and Misawa K	4. 巻 46(2)
2. 論文標題 Novel prognostic value and potential utility of opioid receptor gene methylation in liquid biopsy for oral cavity cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Current Problems in Cancer	6. 最初と最後の頁 100834
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.currproblcancer.2021.100834	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 望月 大極, 今井 篤志, 山口 裕貴, 瀧澤義徳, 岡村 純, 三澤清, 細川誠二, 峯田周幸	4. 巻 156
2. 論文標題 喉頭摘出術における咽頭皮膚瘻、合併症、栄養指標についての検討	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科臨床	6. 最初と最後の頁 82-89
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 Misawa K, Mima M, Yamada S, Imai A, Mochizuki D, Ishikawa R, Kita J, Yamaguchi Y, Endo S, Misawa Y and Mineta H	4. 巻 18(1)
2. 論文標題 Prostanoid receptor genes confer poor prognosis in head and neck squamous cell carcinoma via epigenetic inactivation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Translational Medicine	6. 最初と最後の頁 31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12967-020-02214-1	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 Misawa K, Mima M, Yamada S, Misawa Y, Imai A, Mochizuki D, Nakagawa T, Kurokawa T, Oguro M, Ishikawa R, Yamaguchi Y, Endo S, Kawasaki H, Kanazawa Takeharu and Mineta H	4. 巻 10(1)
2. 論文標題 Neuropeptide receptor genes GHSR and NMUR1 are candidate epigenetic biomarkers and predictors for surgically treated patients with oropharyngeal cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1007
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-57920-z	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 Misawa K, Misawa Y, Mima M, Yamada S, Imai A, Mochizuki D, Nakagawa T, Kurokawa T, Endo S, Kawasaki H, Brenner JC and Mineta H	4. 巻 43(4)
2. 論文標題 Overexpression of Sal-like protein 4 in head and neck cancer: Epigenetic effects and clinical correlations	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cellular Oncology	6. 最初と最後の頁 631-641
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13402-020-00509-5	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 Misawa K, Imai A, Kanazawa T, Mima M, Yamada S, Misawa Y, Mochizuki D, Yamada T, Shinmura D, Ishikawa R, Kita J, Yamaguchi Y, Misawa Y and Mineta H	4. 巻 8(10)
2. 論文標題 G protein-coupled receptor genes, PTGDR1, PTGDR2, and PTGIR, are candidate epigenetic biomarkers and predictors for treated patients with HPV-associated oropharyngeal cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microorganisms	6. 最初と最後の頁 1504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/microorganisms8101504	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 Misawa K, Imai A, Matsui H, Kanai A, Misawa Y, Mochizuki D, Mima M, Yamada S, Kurokawa T, Nakagawa T and Mineta H	4. 巻 39(24)
2. 論文標題 Identification of novel methylation markers in HPV-associated oropharyngeal cancer: genome-wide discovery, tissue verification and validation testing in ctDNA.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncogene	6. 最初と最後の頁 4741-4755
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41388-020-1327-z	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 Misawa K, Yamada S, Mima M, Nakagawa T, Kurokawa T, Imai A, Mochizuki D, Shinmura D, Yamada T, Kita J, Ishikawa R, Yamaguchi Y, Misawa Y, Kanazawa T, Kawasaki H and Mineta H	4. 巻 8
2. 論文標題 Long interspersed nuclear element 1 hypomethylation has novel prognostic value and potential utility in liquid biopsy for oral cavity cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomarker Research	6. 最初と最後の頁 53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40364-020-00235-y	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 望月 大極, 今井 篤志, 山口 裕貴, 岡村 純, 三澤 清, 細川 誠二, 峯田 周幸	4. 巻 156
2. 論文標題 喉頭摘出術における咽喉皮膚瘻、合併症、栄養指標についての検討	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科臨床 補冊	6. 最初と最後の頁 77-81
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 -

〔学会発表〕 計4件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 望月大極、竹内一隆、森田浩太郎、今井篤志、瀧澤義徳、三澤清
2. 発表標題 鼻副鼻腔非腸管型腺癌の2症例
3. 学会等名 日本頭頸部外科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 望月大極、今井篤志、竹内一隆、瀧澤義徳、三澤清
2. 発表標題 頭頸部癌化学放射線治療後に咽後膿瘍を生じた2症例
3. 学会等名 日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 望月大極、山口裕貴、今井篤志、喜多淳哉、石川竜司、中西啓、瀧澤義徳、三澤清、細川誠二、峯田周幸
2. 発表標題 頸動脈破裂に対して血管内治療を行った頭頸部癌2症例
3. 学会等名 耳鼻咽喉科臨床学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 1. 望月大極、岡村純、今井篤志、山口裕貴、瀧澤義徳、三澤清、細川誠二、峯田周幸
2. 発表標題 喉頭摘出術における咽頭皮膚瘻、合併症、栄養指標についての検討
3. 学会等名 日本頭頸部外科学会
4. 発表年 2020年

〔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
---------	---------