

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 7月24日現在

機関番号：16101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23650599

研究課題名（和文） 腫瘍促進性RNAファミリーを分子標的とした制癌剤開発のための基礎的研究

研究課題名（英文） Novel anticancer agents targeting tumor-promoting non-coding RNA

研究代表者

近藤 茂忠 (KONDO SHIGETADA)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・特任助教

研究者番号：40304513

研究成果の概要（和文）：

血管新生阻害治療が、がん細胞に直接及ぼす影響について検討した結果、アバスタチンや VEGF 受容体阻害剤でがん細胞自身の VEGF シグナルを遮断すると、これまでに報告のない2つのノンコーディング RNA が誘導されることを見出した。これらノンコーディング RNA を大腸がん細胞株に過剰発現させると抗がん剤や低酸素によるアポトーシスに抵抗性となった。そこで本研究では、これら腫瘍促進性のノンコーディング RNA を抑制できる siRNA を開発し、その抗腫瘍効果について細胞レベルとマウスゼノグラフトレベルで検討した。

本研究期間内に得られた研究成果として、1) 腫瘍促進性ノンコーディング RNA を有効に抑制できる siRNA を2種類設計することができた。2) これらの siRNA の性能評価を行い、各 siRNA によって vegf ncRNAs をノックダウンすると細胞傷害性の抗がん剤 (5-FU, cisplatin, etoposide) によるがん細胞のアポトーシスが亢進すること (細胞レベル)、さらにこれら抗がん剤の腫瘍形成抑制効果が増強されること (マウスレベル) を確認した。

研究成果の概要（英文）：

I have investigated the direct effects of antiangiogenic agents on tumor cells, and revealed that treatment of cancer cells with vascular endothelial growth factor (VEGF)-targeting agents, including avastin and VEGF receptor multi kinase inhibitor, induced novel protein-non-coding RNAs. Overexpression of these non-coding RNAs made tumor cells resistant to anticancer drug- and hypoxia-induced apoptosis.

In this research project, I developed two efficient siRNAs targeting novel tumor-promoting non-coding RNAs (ncRNAs). I evaluated efficacy of those siRNA on tumor cells and xenograft tumors. Knockdown of ncRNAs increased apoptosis of tumor cells by cytotoxic anticancer drugs (5-FU, cisplatin, etoposide). Furthermore, knockdown of ncRNAs in xenograft tumors enhanced antitumor effects of those cytotoxic anticancer agents.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：腫瘍学・腫瘍生物学

キーワード：ノンコーディング RNA、悪性腫瘍

1. 研究開始当初の背景

多くの固形がんで、がん細胞は機能的 VEGF 受容体を発現しているが、VEGF 標的治療薬が直接がん細胞自身に与える影響は良く解っていない。

また、現在 VEGF/VEGF 受容体を分子標的とした数多くの血管新生阻害薬が開発されている一方で、がん細胞はこれら VEGF 阻害薬に対して抵抗性を獲得し、その結果さらに悪性化してしまうことが大きな問題となっている。この VEGF 阻害薬抵抗性と悪性化を司る、がん細胞内の分子機構は未解明の重要問題である。

2. 研究の目的

血管新生阻害治療が、がん細胞に直接及ぼす影響について検討してきた結果、アバスチンや VEGF 受容体阻害剤でがん細胞自身の VEGF シグナルを遮断すると、新規の2つのノンコーディング RNA が誘導されることを見出した。

これらノンコーディング RNA が過剰発現すると、がん細胞は VEGF 阻害剤、種々の細胞傷害性抗がん剤、そして血管新生阻害によって腫瘍内で引き起こされる低酸素によって誘導されるアポトーシスに強い抵抗性を獲得した。

さらに、これらがん細胞をヌードマウスの皮下に移植してつくったゼノグラフト腫瘍は、VEGF 標的治療と化学療法に抵抗性となった。そこで本研究では、VEGF 阻害治療によって活性化される「悪性腫瘍化 RNA プログラム」に着目して、これら ncRNA ファミリーを標的とした、悪性腫瘍の新たな治療法開発に向けた学術的基盤を確立することを目的とする。

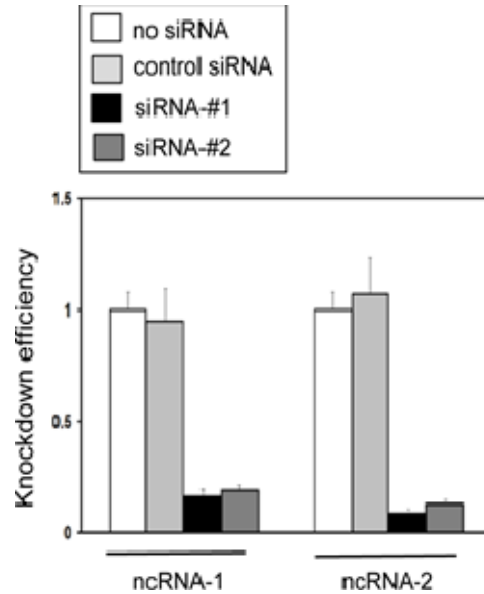
3. 研究の方法

(1) 新規ノンコーディング RNA を分子標的とした効果的な siRNA を3種類デザインする。

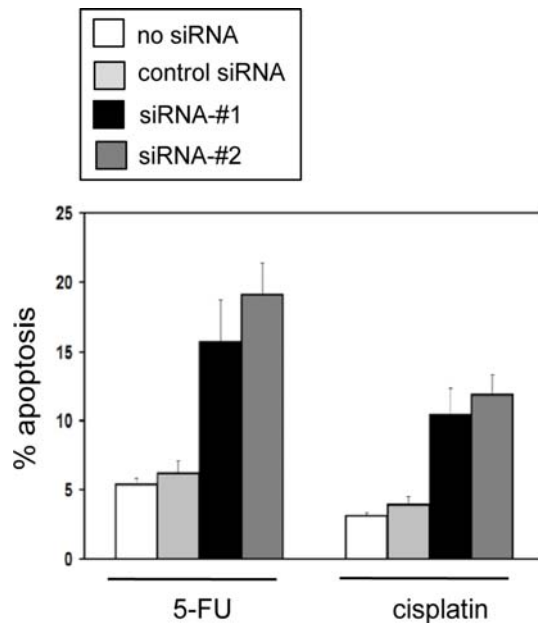
(2) siRNA の抗腫瘍効果を培養大腸がん細胞株に細胞傷害性抗がん剤 (5-FU, cisplatin) を処理して、そのアポトーシス感受性で評価する。

4. 研究成果

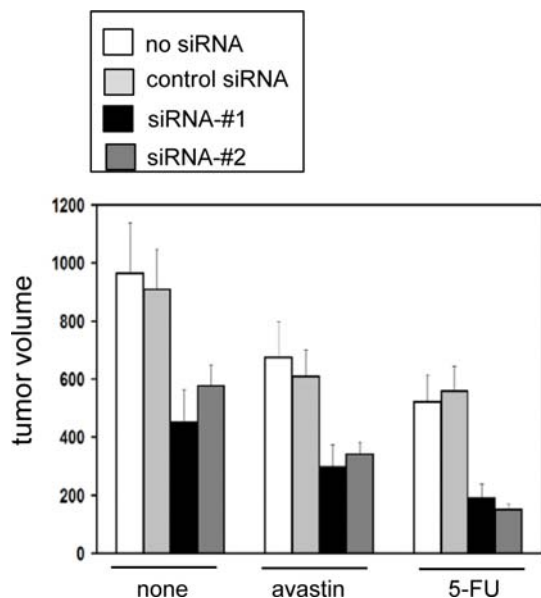
(1) 新規ノンコーディング RNA を有効に抑制できる siRNA を2種類設計することができた。



(2) これらの siRNA の性能評価を行い、各 siRNA によってノンコーディング RNA をノックダウンすると、大腸がん細胞の抗がん剤 (5-FU, cisplatin) によるアポトーシスが亢進した。



(3) in vivo における、siRNA の抗腫瘍効果の評価を行い、アバスタチンによる血管新生阻害効果と、抗がん剤 5-FU による腫瘍増殖の抑制効果が亢進



5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① Yamagishi, N., Teshima-Kondo, S. (corresponding author), Masuda, K., Nishida, K., Kuwano, Y., Dang, D.D Dang, L.H., Nikawa, T., and Rokutan, K. Chronic inhibition of tumor cell-derived VEGF enhances the malignant phenotype of colorectal cancer cells. BMC Cancer. 査読有 13:229 (2013).doi: 10.1186/1471-2407-13-229.
- ② Abe T, Kohno S, Yama T, Ochi A, Suto T, Hirasaka K, Ohno A, Teshima-Kondo S. Okumura Y, Oarada M, Choi I, Mukai R, Terao J, Nikawa T. Soy Glycinin Contains a Functional Inhibitory Sequence against Muscle-Atrophy-Associated Ubiquitin Ligase Cbl-b. Int J Endocrinol. 査読有 2013:907565 (2013). doi: 10.1155/2013/907565

③ Abe T, Hirasaka K, Kagawa S, Kohno S, Ochi A, Utsunomiya K, Sakai A, Ohno A, Teshima-Kondo S. Okumura Y, Oarada M, Maekawa Y, Terao J, Mills EM, Nikawa T. Cbl-b Is a Critical Regulator of Macrophage Activation Associated with Obesity-Induced Insulin Resistance in Mice. Diabetes. 査読有 62(6):1957-69. (2013) doi: 10.2337/db12-0677

④ Utsunomiya K, Owaki K, Okumura Y, Yano M, Oto T, Suzuki E, Tamura S, Abe T, Kohno S, Ohno A, Hirasaka K, Teshima-Kondoh S. Nikawa T. An Intracellular Fragment of Osteoactivin Formed by Ectodomain Shedding Translocated to the Nucleoplasm and Bound to RNA Binding Proteins. Biosci Biotechnol Biochem. 査読有 76(12):2225-2229 (2012).

⑤ Kohno S, Yamashita Y, Abe T, Hirasaka K, Oarada M, Ohno A, Teshima-Kondo S. Higashibata A, Choi I, Mills EM, Okumura Y, Terao J, Nikawa T. Unloading stress disturbs muscle regeneration through perturbed recruitment and function of macrophages. J Appl Physiol. 査読有 112(10):1773-82 (2012). doi: 10.1152/jappphysiol.00103.2012.

[学会発表] (計 3 件)

- ① 近藤茂忠,山岸直子 新規腫瘍促進性ノンコーディング RNA の発現制御、第 71 回日本癌学会学術集会、2012. 9.20. ロイトン札幌 (北海道)
- ② 山岸直子,近藤茂忠 *Vegf* 遺伝子にコードされた新規腫瘍促進性ノンコーディング RNA の機能解析、第 71 回日本癌学会学術集会、2012. 9.20. ロイトン札幌 (北海道)

- ③ 近藤茂忠, 山岸直子 Identification of a novel tumor promoting non-coding RNA encoded in the Vegf gene. Cell Symposia: Regulatory RNAs 2011. 10. 11. Chicago (USA)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 茂忠 (KONDO SHIGETADA)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・特任助教

研究者番号：40304513

研究者番号：

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：