

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462480

研究課題名(和文) 淡明腎細胞癌における解糖系関連遺伝子の治療標的としての有用性の検討

研究課題名(英文) Analysis for glycolysis-related genes as potential therapeutic targets in clear cell renal cell carcinoma

研究代表者

長尾 一公 (NAGAO, Kazuhiro)

山口大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70379949

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：我々は淡明腎細胞癌(ccRCC)における新規治療標的を探索する目的に、ccRCCで高い発現を認めた遺伝子FABP7に関する研究を行った。FABP7が高発現している症例は、遠隔転移と低い癌特異的生存率と関連していた。FABP7の発現を抑制したところ癌細胞の増殖が抑制され、癌細胞の浸潤能も抑制された。また細胞の種類によっては、FABP6の発現抑制でも癌の細胞増殖と浸潤能が抑制された。FABP7と6はccRCCにおける予後予測マーカーおよび治療標的として有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：To identify potential targets in clear cell renal cell carcinoma (ccRCC), we performed an experiment to confirm the significance of FABP7 as a potential target and marker in ccRCC. Our immunohistochemical analysis showed that higher FABP7 expression was significantly correlated with distant metastasis and poor cancer-specific survival in ccRCC. Functional suppression of FABP7 resulted in significant growth inhibition and significant reduction of the invasive potential of a ccRCC cell line. Functional suppression of FABP6 resulted in significant growth inhibition and significant reduction of the invasive potential of another ccRCC cell line. FABP7 and 6 could be a potential therapeutic target and diagnostic marker in metastatic ccRCC.

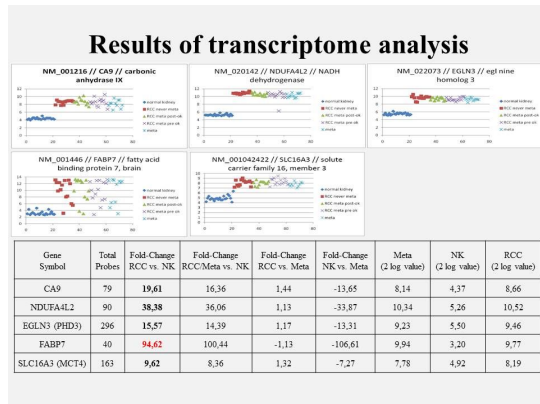
研究分野：泌尿器科学

キーワード：FABP renal cell carcinoma therapeutic target marker

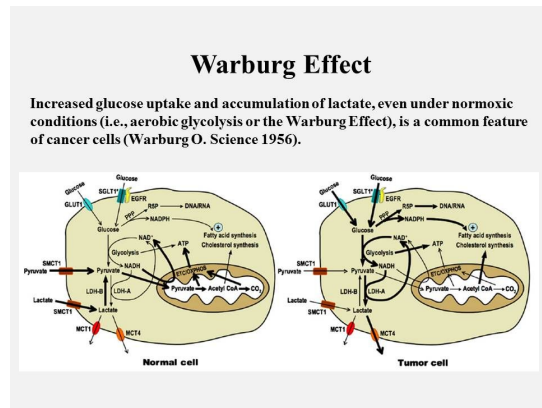
1. 研究開始当初の背景

(1)近年の淡明腎細胞癌のバイオロジー研究の進歩により、血管新生や糖代謝関連の分子を治療ターゲットとした分子標的治療は、一定の生存期間延長効果を収めている。

(2)我々は淡明腎細胞癌における有望な治療ターゲットを探索することを目的として、淡明腎細胞癌 60 例と正常腎組織 20 例から RNA を抽出し、トランスクリプトーム解析を行った。その結果、正常組織と比較して腎細胞癌において高発現していたのは、FABP7, NDUFA4L2, CAIX, PHD3, MCT4 といった低酸素、pH 制御、エネルギー代謝に関連する遺伝子であった。



(3)古くから癌細胞においては、Warburg effect と呼ばれる好気性解糖によりエネルギー産生が賄われていることが知られており、この経路を遮断する癌治療の試みの1つとして、Glut1 遺伝子の抑制によるブドウ糖輸送の阻害による分子標的治療の試みが動物実験において成功しており、ヒトを対象とした Phase study が開始されている(Chan et al. Sci Transl Medicine, 2011;3(94):94ra70)。我々の探索した治療ターゲット候補の中にも、糖代謝への関与が示唆される分子があり、NDUFA4L2 と MCT4 がそれである。



2. 研究の目的

我々は解糖系の進行に関与すると考えられる NDUFA4L2 と MCT4 の遺伝子発現を knock-down することにより、癌細胞におけるエネルギー産生抑制による細胞増殖抑制に加えて、血管新生の抑制や免疫応答性の改善効果も期待されると考え、淡明腎細胞癌における新規治療ターゲットとしての有用性を検討することとした。

3. 研究の方法

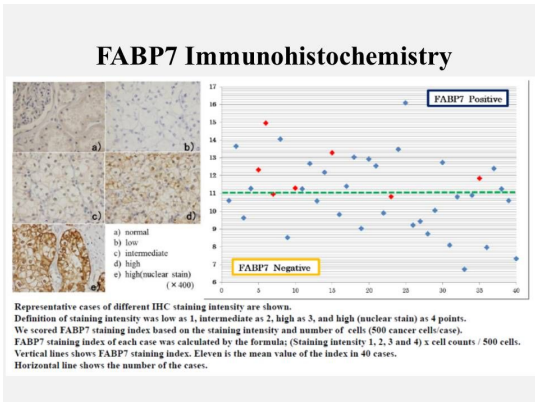
(1)NDUFA4L2 および MCT4 遺伝子の発現が共に亢進している淡明腎細胞癌株 SKRC10 と共に亢進していない淡明腎細胞癌株 Caki-1 へ、標的遺伝子に特異的な siRNA とコントロールの siRNA をトランスフェクションし、これら遺伝子の発現を抑制した。

(2)標的遺伝子の発現抑制による癌細胞の細胞増殖抑制効果 (MTT assay) と浸潤抑制効果 (Matrigel Invasion Assay) を検討する。

4. 研究成果

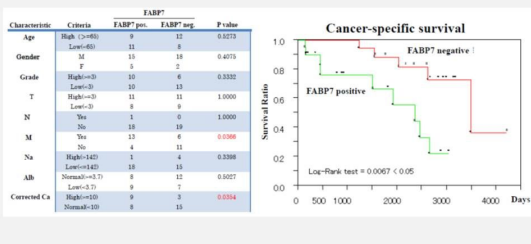
(1)NDUFA4L2 の発現抑制実験では、癌細胞の増殖能、浸潤能ともに変化を認めず、MCT4 の発現抑制実験では、癌細胞の増殖能が僅かに抑制されたが、浸潤能には変化を認めなかった。またこれら2つの遺伝子の発現を同時に抑制した場合も、相加的な増殖抑制効果は認められなかった。以上の結果から、これら遺伝子が新規治療標的となりうる可能性は低いと判断した。

(2)そこで我々のトランスクリプトーム解析で最も高発現を認めていた FABP7 の新規治療標的としての可能性を検討することとした。以前の我々の検討では、FABP7 のトランスクリプトーム発現は個体差が大きいことが分かっていたため、サイトカイン療法および分子標的薬治療を施行した 40 例の淡明腎細胞癌症例を対象に、FABP7 の免疫組織染色を行い、臨床病理学的因子との関連性を検討し、バイオマーカーとしての可能性を検討した。淡明腎細胞癌組織を用いた免疫組織染色では、FABP7 の高発現は遠隔転移、血清高 Ca 値および低い癌特異的生存率との間に有意な相関を認め、FABP7 の予後予測マーカーとして可能性を示した。



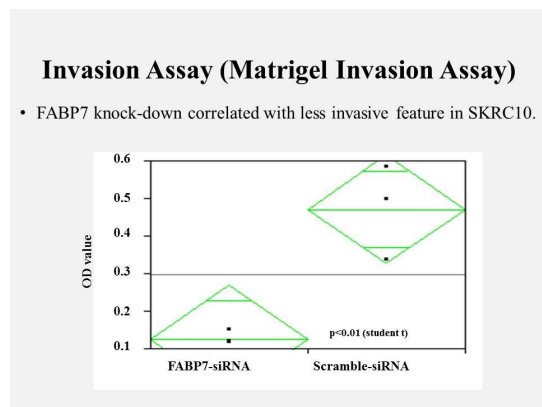
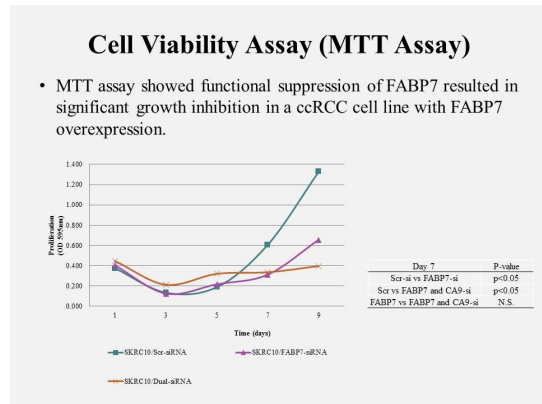
Clinicopathological parameters and FABP7 expression -IHC staining-

- Higher FABP7 expression was significantly correlated with distant metastasis, hypercalcemia, and poor cancer-specific survival.

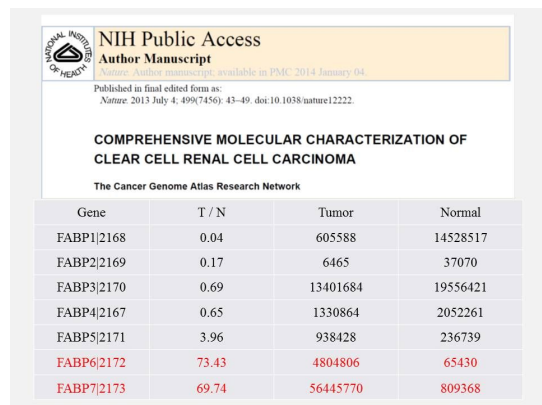


(3) FABP7の発現亢進を認めた淡明腎細胞癌株SKRC7とSKRC10に対して、siRNAを用いてこの発現をknock downし、癌細胞の増殖能および浸潤能に与える影響をMTT assayおよびMatrigel Invasion assayを用いて評価したところ、SKRC7では増殖能、浸潤能ともに抑制されなかったのに対して、SKRC10では抑制され

た。



(4)そこでTCGA data baseにおいて、FABP7とともに淡明腎細胞癌において高発現しているFABP6の発現を確認したところ、SKRC7ではFABP6が高発現しており、一方、SKRC10ではFABP6の発現は低値であった。そこでSKRC7を対象に、FABP6の発現抑制実験を行ったところ、癌細胞の増殖能が抑制された。淡明腎細胞癌におけるFABP7と6の発現は細胞毎に異なっており、これらが相補的に機能している可能性が示唆された。



(5)以上の結果より、FABP7と6は淡明腎細胞癌における予後予測マーカーもしくは治療標的

となる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計3件)

発表者；長尾一公，発表演題；FABP7 and 6 as a potential target and marker in clear cell renal cell carcinoma，学会等名；米国泌尿器科学会，発表年月日；2016年5月10日，発表場所；サンディエゴ(アメリカ)。

発表者；長尾一公，発表演題；FABP7 は淡明腎細胞癌における予後予測マーカーおよび治療標的となりうる，学会等名；第103回日本泌尿器科学会総会，発表年月日；2015年4月18日，発表場所；ANAクラウンプラザホテル金沢(石川県金沢市)。

発表者；長尾一公，発表演題；FABP7 as a potential target and marker in clear cell renal cell carcinoma，学会等名；欧州泌尿器科学会，発表年月日；2015年3月23日，発表場所；マドリッド(スペイン)。

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

長尾 一公(NAGAO, Kazuhiro)

山口大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70379949

(2)研究分担者

松本 洋明(MATSUMOTO, Hiroaki)

山口大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60610673

松山 豪泰(MATSUYAMA, Hideyasu)

山口大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：70209667

池田 栄二(IKEDA, Eiji)

山口大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：30232177

(3)連携研究者

なし