

平成 30 年 6 月 5 日現在

機関番号：16101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15237

研究課題名(和文)新規同定した小胞体ストレス応答で誘導されるncRNAによる腎癌発症機構の解明

研究課題名(英文)Role of ER stress-induced ncRNA in renal cancer pathogenesis

研究代表者

親泊 政一(OYADOMARI, Seiichi)

徳島大学・先端酵素学研究所(プロテオ)・教授

研究者番号：90502534

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：最終年度のncRNAによる腫瘍促進効果の分子機構をncRNAとUVクロスリンクして単離したRNAを次世代シーケンサーによる網羅的解析する計画を変更し、樹立することができた新規ncRNAのノックアウトマウスの解析を優先して行った。解析結果からノックアウトマウスはホモでは軟骨形成不全から胸郭が小さいために出生後に肺が十分に拡張せずに死亡することがわかり、ヘテロマウスは野生型と外見上全く違いを認めなかったが、小胞体ストレス誘導剤によって極めて脆弱で死亡率が高いことがわかった。このことから、新規のncRNAの生理的な意義や小胞体ストレス応答での意義について個体レベルで明らかにすることが出来た。

研究成果の概要(英文)：In the final year, we planned to comprehensively analyze the molecular mechanism of the tumor promotion effect by the identified ncRNA by the next generation sequencer. As a preliminary experiment, it was found that it takes time to establish isolation of RNA that interacts with ncRNA using UV cross-linking. On the other hand, we have successively established the knockout mice line of the identified ncRNA, therefore, analysis of the phenotype of the knockout mice was given priority.

As a result, the homozygous knockout mice found to die after birth from respiratory failure because of their small thorax due to dyschondrogenesis. On the other hands, the heterozygous knockout mice showed no apparently different difference from the wild type, but were extremely sensitive and had high mortality in ER stress condition. Taken together, we can clarify the physiological significance of adaptation fo ER stress of the novel ncRNA.

研究分野：細胞生物学

キーワード：小胞体ストレス 腎癌 ncRNA

1. 研究開始当初の背景

固形癌をとりまく微小環境は、増殖に伴う正常組織とは異なる血管形成不全で、低酸素やグルコース飢餓状態などのストレス状態である。

癌の悪性化や薬剤耐性の原因として、癌微小環境においても増殖可能となるストレス応答を獲得した癌幹細胞の存在が考えられる。癌微小環境では、低酸素や低栄養により小胞体でのタンパク質の折りたたみが障害されて小胞体ストレスが惹起される。

これまでに小胞体ストレス応答の破綻が疾患発症に関与することを、糖尿病などの代謝疾患に関連して先導的な研究を展開してきた (PNAS (2001) 98 10845-10850, JCI (2002) 109 525-532, Cell (2006) 126 727-739, Cell Metabolism (2008) 7 520-532)。

小胞体ストレス応答の経路網羅的な遺伝子発現解析から、PERK経路によって誘導される機能未知の non coding RNA (ncRNAs) 群を新たに同定した。同定した ncRNAs を欠失させた細胞はストレス下において細胞増殖が著しく低下したことから、癌微小環境での増殖に重要な因子ではないかと考えるに至った。

2. 研究の目的

腎癌に対する分子標的薬が開発されてきたが未だ予後不良のため、より有効な治療標的の探索が望まれている。治療抵抗性癌の原因として、ストレス状態の癌微小環境においても増殖可能となるストレス応答を獲得した癌幹細胞の存在が重要と考えている。小胞体ストレスが癌微小環境で惹起されることから、小胞体ストレス応答の網羅的な遺伝子発現解析を行い、新規の ncRNA を同定した。予備的解析から同定した ncRNA はストレス下での細胞増殖に必須で、しかもその発現はヒト腎癌患者の予後と高い相関を示すことを見出している。本研究では、同定した ncRNA と腫瘍形成の因果関係を明らかにし、その分子機構を解明して新たな腎癌治療法の基盤を確立することを研究目的とする。

3. 研究の方法

本研究は、申請者が最近同定した ncRNA をと腫瘍形成の因果関係を明らかにし、その分子機構を解明して新たな腎癌治療法の基盤を確立することを目標とし、具体的には以下の研究項目を計画した。

- (1) 新規同定の ncRNA が腫瘍促進因子として機能するかを、ヒト患者由来サンプルでの相関解析、ヌードマウスへの癌移植解析、ゲノム編集した細胞での増殖解析などで明らかにする。
- (2) 上記により ncRNA による腫瘍促進効果が確認できれば、ncRNA と UV クロスリンクして単

離した RNA を次世代シーケンサーで網羅的解析し、腫瘍増殖効果のメカニズムを明らかにする。

4. 研究成果

小胞体は合成したタンパク質の折り畳みの不全 (小胞体ストレス) を感知して、それに適応する機構 (小胞体ストレス応答) を持つ。小胞体ストレスが癌微小環境で惹起されることから、小胞体ストレス応答の網羅的な遺伝子発現解析を行い、新規の ncRNA を同定した。予備的解析から同定した ncRNA はストレス下での細胞増殖に必須で、しかもその発現はヒト腎癌患者の予後と高い相関を示すことを見出している。本研究では、同定した ncRNA と腫瘍形成の因果関係を明らかにし、その分子機構を解明して新たな腎癌治療法の基盤を確立することを本研究の目的としている。

研究最終年度の平成 29 年度に ncRNA による腫瘍促進効果の分子機構を ncRNA と UV クロスリンクして単離した RNA を次世代シーケンサーによる網羅的解析を計画していたが、次世代シーケンサー解析の前の予備実験が上手くいかず、修飾方法を含めて条件等が必要であることがわかり、年度内での実施を断念した。その代わりに、新規 ncRNA のノックアウトマウスを樹立することができたので、その解析を優先して行った。解析の結果、ノックアウトマウスはホモでは軟骨形成不全から胸郭が小さいために出生後に肺が十分に拡張せずに死亡することがわかった。一方、ヘテロマウスは野生型と外見上全く違いを認めなかったが、小胞体ストレス誘導剤によって極めて脆弱で死亡率が高いことがわかった。このことから、新規の ncRNA の生理的な意義や小胞体ストレス応答での意義について個体レベルで明らかにすることが出来た。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

Hisanaga Satoshi, Miyake Masato, Taniuchi Shusuke, Oyadomari Miho, Morimoto Masatoshi, Sato Ryosuke, Hirose Jun, Mizuta Hiroshi, Oyadomari Seiichi

PERK-mediated translational control is required for collagen secretion in chondrocytes.

Scientific Reports 2018 773. 査読有り
doi: 10.1038/s41598-017-19052-9.

Fischer Carina, Seki Takahiro, Lim Sharon, Nakamura Masaki, Andersson Patrik, Yang Yunlong, Honek Jennifer, Wang Yangang, Gao Yanyan, Chen

Fang, Samani Nilesh J., Zhang Jun, Miyake Masato, Oyadomari Seiichi, Yasue Akihiro, Li Xuri, Zhang Yun, Liu Yizhi, Cao Yiha

A miR-327-FGF10-FGFR2-mediated autocrine signaling mechanism controls white fat browning.

Nature Communications 2017, 8, 2079 査読有り doi:

10.1038/s41467-017-02158-z

Miyake Masato, Kuroda Masashi, Kiyonari Hiroshi, Takehana Kenji, Hisanaga Satoshi, Morimoto Masatoshi, Zhang Jun, Oyadomari Miho, Sakaue Hiroshi, Oyadomari Seiichi

Ligand-induced rapid skeletal muscle atrophy in HSA-Fv2E-PERK transgenic mice. PLOS ONE 2017 12, e0179955 査読有り

doi:10.1371/journal.pone.0179955

Kurahashi K, Inoue S, Yoshida S, Ikeda Y, Morimoto K, Uemoto R, Ishikawa K, Kondo T, Yuasa T, Endo I, Miyake M, Oyadomari S, Matsumoto T, Abe M, Sakaue H, Aihara K

The Role of Heparin Cofactor in the Regulation of Insulin Sensitivity and Maintenance of Glucose Homeostasis in Humans and Mice. Journal of atherosclerosis and thrombosis 2017, 24, 1215-1230 査読有り

doi: 10.5551/jat.37739

Yasue Akihiro, Kono Hitomi, Habuta Munenori, Bando Tetsuya, Sato Keita, Inoue Junji, Oyadomari Seiichi, Noji Sumihare, Tanaka Eiji, Ohuchi Hideyo

Relationship between somatic mosaicism of Pax6 mutation and variable developmental eye abnormalities-an analysis of CRISPR genome-edited mouse embryos.

Scientific Reports 2017, 7, 53 査読有り doi: 10.1038/s41598-017-00088-w

Suzuki Toru, Gao Junhong, Ishigaki Yasushi, Kondo Keiichi, Sawada Shojiro, Izumi Tomohito, Uno Kenji, Kaneko Keizo, Tsukita Sohei, Takahashi Kei, Asao Atsuko, Ishii Naoto, Imai Junta, Yamada Tetsuya, Oyadomari Seiichi, Katagiri Hideki

ER Stress Protein CHOP Mediates Insulin Resistance by Modulating Adipose Tissue Macrophage Polarity. Cell Rep 2017, 18, 2045-2057 査読有り doi: 10.1016/j.celrep.2017.01.076.

Keiko Handa, Kouichi Inukai, Hirohisa Onuma, Akihiko Kudo, Fumiyuki Nakagawa, Kazue Tsugawa, Atsuko

Kitahara, Rie Moriya, Kazuto Takahashi, Yoshikazu Sumitani, Toshio Hosaka, Hayato Kawakami, Seiichi Oyadomari, Hitoshi Ishida

Correction: Long-Term Low Carbohydrate Diet Leads to Deleterious Metabolic Manifestations in Diabetic Mice PLoS One. 2016, 11 (5), e0155751 査読有り

doi: 10.1371/journal.pone.0155751

Silvia Naomi Mitsui, Akihiro Yasue, Kiyoshi Masuda, Takuya Naruto, Yoshiyuki Minegishi, Seiichi Oyadomari, Sumihare Noji, Issei Imoto, Eiji Tanaka

Novel human mutation and CRISPR/Cas genome-edited mice reveal the importance of C-terminal domain of MSX1 in tooth and palate development Sci Rep. 2016, 6, 38398 査読有り

doi: 10.1038/srep38398

Shusuke Taniuchi, Masato Miyake, Kazue Tsugawa, Miho Oyadomari, Seiichi Oyadomari

Integrated stress response of vertebrates is regulated by four eIF2 α kinases Sci Rep. 2016, 6 32886 査読有り doi: 10.1038/srep32886

[学会発表](計 11 件)

張 君、親泊政一 他 6 名、8 番目
高血糖に伴う IRE1 の O-GlcNAc 修飾は小胞体ストレス応答を減弱させる
第60回日本糖尿病学会年次学術集会、2017年5月18日 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

三宅雅人、親泊政一 他 3 名、5 番目
CRISPRライブラリーを用いた新規小胞体ストレス応答制御因子の同定
第12回小胞体ストレス研究会、2017年10月9日 奈良先端科学技術大学院大学研修ホール(奈良県・生駒市)

張 君、親泊政一 他 4 名、6 番目
高血糖に伴う IRE1 の O-GlcNAc 修飾は小胞体ストレス応答を減弱させる
第12回小胞体ストレス研究会、2017年10月9日 奈良先端科学技術大学院大学研修ホール(奈良県・生駒市)

谷内秀輔、親泊政一 他 4 名、6 番目
eIF2 のリン酸化はミトコンドリアの代謝機能に
関与する
第12回小胞体ストレス研究会、2017年10月9日 奈良先端科学技術大学院大学研修ホール(奈良県・生駒市)

山川哲生、親泊政一 他 4 名、6 番目
新規PERK経路下流因子Snhg12ホモ欠損マウス解析
第12回小胞体ストレス研究会、2017年10月9日 奈良先端科学技術大学院大学研修ホール(奈良県・生駒市)

北風圭介、親泊政一 他 4 名、6 番目
膵 細胞特異的Atf4ノックアウトマウスは小胞体ストレスを介した糖尿病が重症化する
第12回小胞体ストレス研究会、2017年10月9日 奈良先端科学技術大学院大学研修ホール(奈良県・生駒市)

森本雅俊、親泊政一 他 5 名、7 番目
黄色靭帯肥厚における小胞体ストレスの役割
第12回小胞体ストレス研究会、2017年10月9日 奈良先端科学技術大学院大学研修ホール(奈良県・生駒市)

久永哲、親泊政一 他 4 名、6 番目
PERK経路の活性化が軟骨細胞のECM分泌に与える影響
第12回小胞体ストレス研究会、2017年10月9日 奈良先端科学技術大学院大学研修ホール(奈良県・生駒市)

北風圭介、親泊政一 他 5 名、7 番目
Atf4ノックアウトマウスの膵 細胞は小胞体ストレスに脆弱で脱分化をきたす
第29回分子糖尿病学シンポジウム 2017年12月2日グランフロント大阪(大阪府・大阪市)

親泊政一
統合的ストレス応答経路による癌微小環境への適応機構
ConBio2017(2017年度生命科学系学会合同年次大会) 2017年12月7日
神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)

三宅雅人、親泊政一
小胞体ストレス応答因子PERKによる代謝調節機構
ConBio2017(2017年度生命科学系学会合同年次大会) 2017年12月8日
神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)

三宅雅人、親泊政一 他 6 名、8 番目
ATF6 の肥満・糖尿病における役割の解明
第59回日本糖尿病学会年次学術集会 2016年05月20日
国立京都国際会館(京都府京都市)

三宅雅人、親泊政一 他 5 名、7 番目

脂肪組織での小胞体ストレスなどで活性化されるeIF2 リン酸シグナルによる肥満抑制作用 第89回日本生化学会大会 2016年09月26日 仙台国際センター(宮城県仙台市)

張 君、親泊政一 他 3 名、5 番目
UPR欠損マウス胎児線維芽細胞は小胞体からのCa²⁺放出を介してアポトーシスを誘導する
第11回小胞体ストレス研究会 2016年10月10日 岐阜大学サテライトキャンパス(岐阜県岐阜市)

三宅雅人、親泊政一
脂肪細胞におけるPERK経路を起点とした細胞間相互作用による細胞死の誘導
第11回小胞体ストレス研究会 2016年10月10日 岐阜大学サテライトキャンパス(岐阜県岐阜市)

山川哲生、親泊政一 他 4 名、6 番目
腎癌の予後に関係する新規 PERK 経路下流因子(ncRNA)について
第11回小胞体ストレス研究会 2016年10月11日 岐阜大学サテライトキャンパス(岐阜県岐阜市)

谷内秀輔、親泊政一 他 4 名、6 番目
哺乳類ミトコンドリア UPR は統合的ストレス応答を介さずに誘導される
第11回小胞体ストレス研究会 2016年10月11日 岐阜大学サテライトキャンパス(岐阜県岐阜市)

張 君、親泊政一 他 3 名、5 番目
小胞体シグナルを介した母体栄養に起因する胎仔肝のエピゲノム修飾の解明
第11回臨床ストレス応答学会大会 2016年11月12日 山口大学(山口県宇部市)

張 君、親泊政一 他 6 名、8 番目
高血糖に伴うIRE1のO-GlcNAc修飾は小胞体ストレス応答を減弱させる
第28回分子糖尿病学シンポジウム 2016年12月03日 タワー111(富山県富山市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

親泊 政一(OYADOMRI, Seiichi)

徳島大学・先端酵素学研究所・教授

研究者番号: 90502534