

平成 29 年 5 月 7 日現在

機関番号：81303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19946

研究課題名(和文) PDXを用いたHOTAIRを標的とした肺癌治療法有効性の検証

研究課題名(英文) Identification of HOTAIR as a target of lung cancer

研究代表者

中川 隆行 (Nakagawa, Takayuki)

地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城県立がんセンター(研究所)・がん幹細胞研究部・特任研究員

研究者番号：10626261

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：HOTAIRを標的にした難治肺癌例に対する新しい治療法開発を最終目標に、PDXと遺伝子改変マウスを用いて、この遺伝子と他の悪性化機構並びに癌幹細胞との関連について解明することが本研究の目的である。検討の結果、HOTAIRの下流分子として、ケモカインが同定され、悪性化機構の一因として、HOTAIRによるケモカイン制御が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to elucidate the molecular mechanisms of lung cancer development and the identification of cancer stem cell-related genes. Our study demonstrated that some chemokines were identified as downstream molecules of HOTAIR. These data suggested that HOTAIR-chemokine axis contribute to the development of lung cancer.

研究分野：呼吸器病態学

キーワード：肺癌

1. 研究開始当初の背景

本邦において、肺癌は最も死亡数の多い癌である。2011年の厚生労働省の人口動態調査死亡統計によると、男性は50,782人、女性は19,511人が肺癌で命を失っている。肺癌発症の原因の1つとされる喫煙率が減少傾向にあるにもかかわらず、現在でも肺癌は増加傾向にある。近年肺癌の治療は、EGFR変異症例に対するGefinitib投与が大規模臨床試験により有意差をもって予後の改善が報告されたことが大きな話題となった。さらに現在EML4-ALK4変異に対するALK酵素活性阻害剤などの新規分子標的薬が試みられつつある。しかしそれらを用いても切除困難な進行肺癌や切除後再発肺癌を根治することはできず、延命は限定的であり依然として予後不良である。その理由として種々の抗癌剤・分子標的薬の治療により、一時的な腫瘍抑制効果があるものの、耐性機序により病変の進展や他臓器への転移により進行しがん死に至ることが想定される。従って、肺癌患者の予後を飛躍的に延長させるためには、切除後再発や抗癌剤耐性獲得機構に対する治療戦略を練る必要がある。

本申請者は、肺癌の切除後再発や抗癌剤耐性能の増強に關与する悪性化促進因子の候補として長鎖ノンコーディングRNAであるHOTAIRに着目した。HOTAIRはHOX遺伝子座で同定された転写抑制に關与する長鎖RNA(lincRNA)であり、近年その発現が乳癌、肝細胞癌、大腸癌、膵癌などの悪性腫瘍の転移や予後不良と關連することが報告されている。しかし、肺癌におけるHOTAIRの発現や役割については未解明のままであった。そこで、非小細胞癌77例の切除検体を材料にHOTAIRの発現と臨床病理学因子との關連を検討した。癌部とその症例の非癌部のHOTAIRの発現をreal-time RT-PCRにて解析し、非癌部

に比べ癌部での発現が2倍以上であった例を高発現例と定義した。その結果、高発現例は全体の22.1%の17例であり、低発現例に比べ有意に腫瘍径が増大、T因子、N因子の進行と脈管侵襲例を示す例が多く認められた。さらに、左図に示すように、HOTAIR高発現例の術後無再発期間が有意に短縮していた。

一方、私はヒト肺癌手術検体を超免疫不全マウス(NOD/Shi-scid, IL-2 null, NOGマウス)皮下に移植し腫瘍を形成させ(Patient-derived xenograft, PDX)を作製している。一般的に肺癌におけるPDXの作製は困難であることが知られているが、約20%の確立で2代以上皮下で継代させることに成功している。これらのPDXは、左図に示すように、継代を重ねても原発腫瘍の性格を忠実に再現することから、1つ1つのPDXが様々な性格を示す。従って、多種類のPDXに対する分子治療や化学療法の効果等を解析することが可能。ヒト手術肺癌組織とNOGマウス皮下移植腫瘍の継代像であり、ヒト癌の多様性に対しても応用できる強みを持つ。その反面、間質がマウス由来であることから、癌間質相互作用や腫瘍血管との關連などを解析するには、腫瘍、間質双方がマウス由来の遺伝子改変マウスに劣る面もある。しかし、遺伝子改変マウスでは、PDXのような様々な癌の性質が表現できないことから、これら2つのマウスを用いることによって治療効果に対する基礎検討を行うことが望ましいと考えられる。

2. 研究の目的

HOTAIRを標的にした難治肺癌例に対する新しい治療法開発を最終目標に、PDXと遺伝子改変マウスを用いて、この遺伝子と他の悪性化機構並びに癌幹細胞との

関連について解明することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

HOTAIR を標的とした肺癌の治療法開発のために、申請者が樹立した PDX 細胞株 (18 株) と遺伝子改変肺癌マウスに対する治療効果判定を行う。そのために、以下のことを行う：

- 1) 治療効果の最も期待できる HOTAIR に対する siRNA 配列を抽出する；
- 2) 網羅的遺伝子解析にて HOTAIR の標的分子と標的 microRNA を同定する；
- 3) HOTAIR 発現肺癌細胞株において標的分子と標的 microRNA の発現を抑制あるいは増強させて、HOTAIR の下流にあるか確認する。

4. 研究成果

1) 治療効果の期待できる HOTAIR に対する siRNA を、全ての癌において抽出するために腎細胞癌、肝細胞癌において検討したところ 3 配列が同定された。現在、この配列を肺癌においても検討している。

2) 肺癌細胞株 A549 に HOTAIR を過剰発現させたものとコントロールから RNA を抽出し、HOTAIR 下流にある遺伝子導入のために cDNA Microarray を行った。しかし、肺癌においては標的となる遺伝子が同定できず、現在、異なった細胞株を用いて解析中である。

3) 肝細胞癌において網羅的遺伝子解析によって腫瘍関連マクロファージ (TAM) 誘導に関与するケモカインが HOTAIR の下流にあることが同定された。

4) 上記で同定されたケモカインが、肺癌でも治療の標的となるか検討するために、肺癌

PDX 株をさらに作製した。その結果 7 株の新しい PDX 株を樹立でき、計 25 株を用いて、HOTAIR の治療効果を検討している。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中川隆行 (TAKAYUKI, Nakagawa)
地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城県立がんセンター (研究所)・がん幹細胞研究部・共同研究員

研究者番号：10626261

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者 ()