

令和元年6月11日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10993

研究課題名(和文) ERK5を標的とする新規腎細胞癌治療戦略の開発

研究課題名(英文) Development of a new strategy for renal cell cancer treatment targeting ERK5

研究代表者

長岡 明 (Nagaoka, Akira)

山形大学・医学部・その他

研究者番号：10258618

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：淡明型腎癌患者において、約75%の症例でERK5の発現を確認できた。全体の25%の症例ではERK5の強発現が確認できた。我々は腎癌においてmiR143がERK5の発現を抑制することを見出した。実際臨床検体においてもmiR143とERK5は逆相関していた。治療標的としての有用性をみるため、淡明型腎癌細胞株を用いてin vivo、in vitroでERK5阻害剤XMD8-92を投与したところ、アポトーシス誘導、細胞増殖抑制を引き起こした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々はVHL遺伝子異常をもつ淡明型腎癌において、VHL蛋白が分解促進するERK5が腫瘍増殖、抗アポトーシスにおいて重要な働きを示すことを示した。また、ERK5はVHLのみでなく、miR143にも制御されていることを示した。これらの制御により淡明型腎癌の75%でERK5発現が観察され、25%では強発現していることも明らかにした。ERK5阻害剤が淡明型腎癌細胞株のアポトーシス誘導、細胞増殖抑制効果を示すことを明らかにし、治療標的として有望であることを示した。

研究成果の概要(英文)：We confirmed ERK5 expression in 75% of clear cell carcinoma patients. And 25% of the patients had strong expression. We demonstrated that miR143 suppresses ERK5 expression. Actually, the miR143 expression had inverse correlation with ERK5 expression. To examine the effect as treatment target, we added ERK5 selective inhibitor, XMD8-92 into RCC cells in vitro and in vivo. XMD8-92 induced apoptosis and suppressed cell growth.

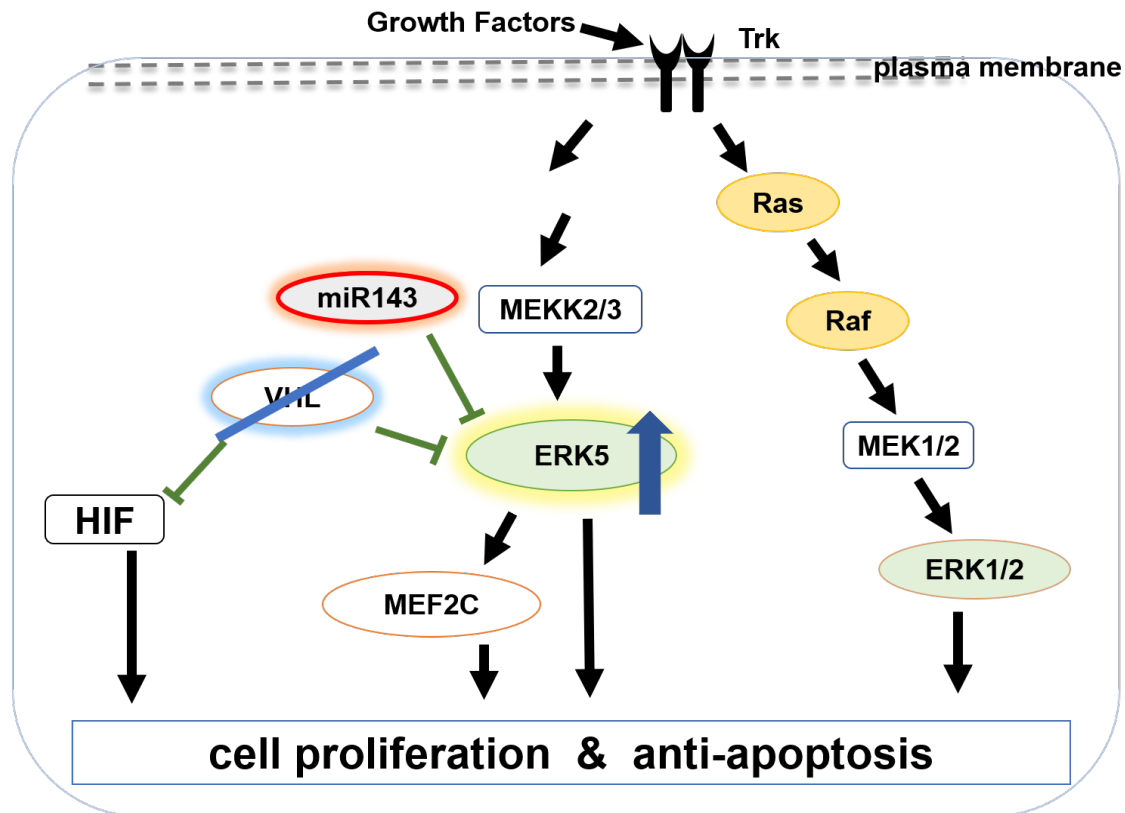
研究分野：泌尿器科癌

キーワード：腎癌 ERK5

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腎細胞癌の大部分を占める淡明細胞癌の多くは *VHL* 遺伝子に異常があることが示されている。*VHL* 蛋白の異常は低酸素誘導因子 HIF の蓄積をきたすことが知られており、事実、ここ 10 年の間に腎癌に対して第 1 相試験で効果が示された分子標的薬は、HIF に関連する分子を標的としている。これらの分子標的薬は有転移腎癌の予後改善に寄与してきたが、ほとんどの症例で薬剤耐性となる。近年 p*VHL* が HIF だけでなく ERK5 の分解誘導にもかかわることが報告された。*VHL* に異常のある腎細胞癌において、ERK5 がミッシングパーツとなっている可能性がある。



2. 研究の目的

腎細胞癌における ERK5 の臨床病理学的意義の検討と新規標的分子としての可能性を探索すること

3. 研究の方法

免疫組織学的染色を用いて、淡明型腎細胞癌における ERK5 の発現を観察、臨床因子や予後との関連を検討する。

ERK5 を制御することが報告されている miR143 の発現を rt-qPCR 法により解析し、ERK5 の発現の関連を検討する。

淡明細胞型腎癌細胞株に pre-miR143 を導入し、ERK5 の発現を低下させるか、ウェスタンブロット法にて確認する。

淡明細胞型腎癌細胞株の ERK5 を siRNA 法によりノックダウンし、アポトーシス関連蛋白、細胞増殖関連蛋白の発現変化をウェスタンブロット法で確認する。細胞活性を MTS アッセイで確認する。

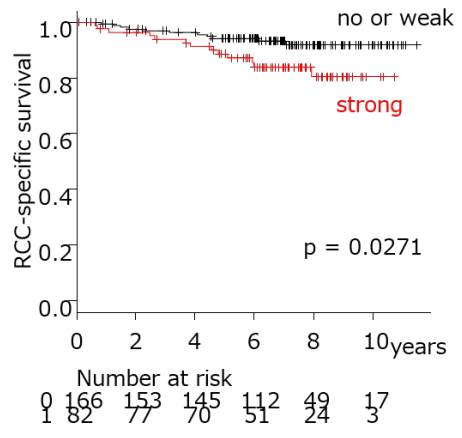
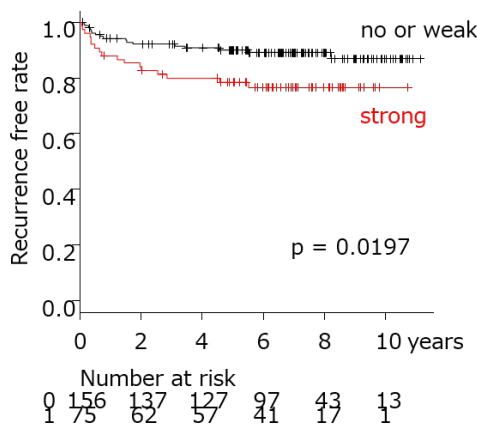
淡明細胞型腎癌細胞株に ERK5 特異的阻害剤 XMD8-92 を添加し、アポトーシス関連蛋白、細胞増殖関連蛋白の発現変化をウェスタンブロット法で確認する。細胞活性を MTS アッセイで確認する。

淡明細胞型腎癌細胞株を皮下移植したヌードマウスに、XMD8-92 を腹腔内注入し、in vivo での抗腫瘍効果を検討する。

4. 研究成果

淡明型腎癌患者の手術検体を確認すると、約 80% の症例で ERK5 の発現を確認できた。また、1/4 の症例では ERK5 を強発現していた。ERK5 強発現症例は高ステージ、高グレードの場合が多く、生存期間も短かった。

2 specimens failed in estimation.
 No expression of ERK5 29 specimens (20%)
 Weak expression 137 specimens (55%)
 Strong expression 82 specimens (25%)



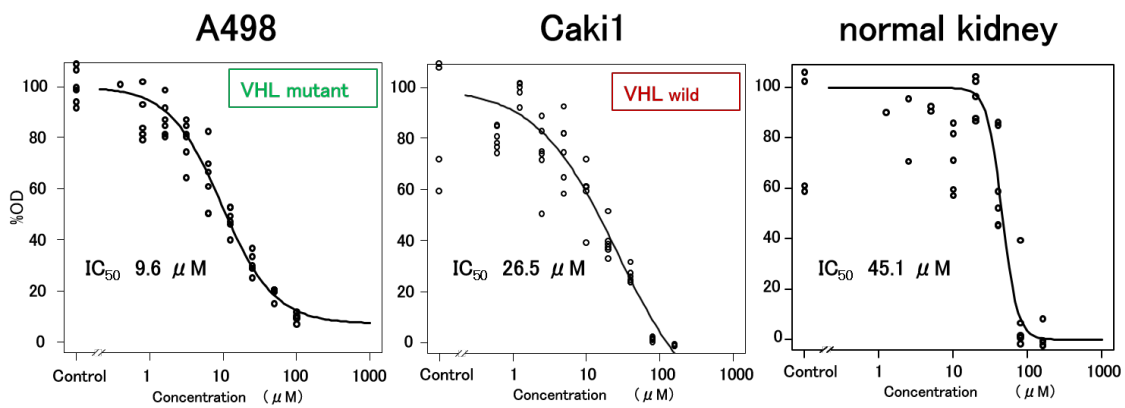
淡明型腎癌患者の手術検体において、miR143 と ERK5 の発現は逆相関していた。

淡明細胞型腎癌細胞株に pre-miR143 を導入したところ ERK5 の発現低下が見られた。

淡明細胞型腎癌細胞株の ERK5 を siRNA 法によりノックダウンしたところ、ERK5 の発現低下、BCL2 発現低下が確認された。

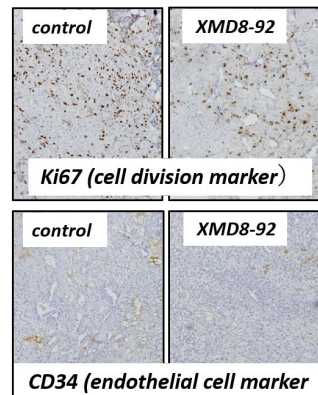
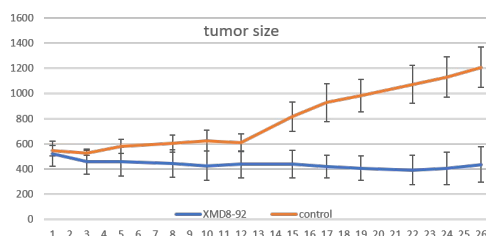
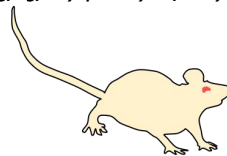
淡明細胞型腎癌細胞株を XMD8-92 で処理したところ、アポトーシス誘導され、細胞活性低下も見られた。

MTS assay in XMD8-92 adding medium for 48h



淡明細胞型腎癌細胞株皮下移植ヌードマウスに XMD8-92 を腹腔内投与したところ、体重減少は見られずに抗腫瘍効果を示した。摘出標本を見たところ、細胞増殖マーカーである Ki67 陽性細胞の減少に加え、腫瘍内血管の減少が観察された。

Balb c/c nul-/- with subcutaneous A498
 XMD8-92 50mg/kg/day ip 5day on/2day off for 3 weeks



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 5 件)

- 1) 内藤整, 菅野秀典, 伊藤裕美, 加藤智幸, 一柳統**, 成澤貴史, 八木真由, 牛島正毅, 小澤迪喜, 黒田悠太, 櫻井俊彦, 土谷順彦: 細胞核での ERK5 発現は腎癌において予後不良因子である. 第 77 回日本癌学会学術総会, 大阪; 2018 年 9 月
- 2) 菅野秀典, 内藤整, 伊藤裕美, 一柳統, 小原祐太郎, 成澤貴史, 加藤智幸, 長岡明, 石井邦明, 土谷順彦: ERK5 は腎細胞癌に対する薬物治療のターゲットになりうる. 第 68 回日本薬理学会北部会, 山形; 2017 年 9 月
- 3) 菅野秀典, 伊藤裕美, 末永信太, 堀江繁光**, 黒田悠太, 八木真由, 山岸敦史, 櫻井俊彦, 内藤整, 西田隼人, 川添久, 柴崎智宏**, 一柳統, 加藤智幸, 長岡明**, 土谷順彦: 淡明腎細胞癌における ERK5 阻害の影響. 第 26 回泌尿器科分子・細胞研究会, 大分; 2017 年 3 月
- 4) Kanno H, Naito S, Ito H, Ichiyangi O, Kurota Y, Yagi M, Yamagishi A, Sakurai T, Nishida H, Shibasaki T**, Kawazoe H, Kato T, Nagaoka A**, Tsuchiya N: The Effects of ERK5 Inhibition in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. AACR annual meeting 2017, Washington, D.C.; April 2017
- 5) Kanno H, Naito S, Ito H, Ichiyangi O, Kurota Y, Yagi M, Yamagishi A, Sakurai T, Nishida H, Shibasaki T**, Kawazoe H, Kato T, Nagaoka A**, Tsuchiya N. ERK5 is a promising therapeutic target for Clear Cell Renal Cell Carcinoma. San Francisco; April 2018

〔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:
国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 内藤整

ローマ字氏名 : Naito Sei

所属研究機関名 : 山形大学医学部

部局名 : 腎泌尿器外科学講座

職名 : 助教

研究者番号 (8 桁) : 00431643

(2)研究協力者

研究協力者氏名 : 一柳統

ローマ字氏名 : Ichiyonagi Osamu

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。