

令和元年5月28日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19817

研究課題名（和文）ビッグデータから放射線抵抗性遺伝子プロファイルを同定する

研究課題名（英文）Identification of genetic profiles from public database

研究代表者

玉利 慶介 (Keisuke, Tamari)

大阪大学・医学系研究科・特任助教（常勤）

研究者番号：30718995

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）：癌の放射線抵抗性の原因として細胞の遺伝子発現状況は重要と考えられるが、不明な部分が多い。今回は、TCGAなどの広く公開されているデータベースを用いて細胞の放射線治療抵抗性に関わる遺伝子を同定することを目的とした。結論として、本研究期間にいくつかの関連遺伝子を同定したものの、その遺伝子を細胞へ導入しても、明らかな放射線抵抗性の出現が認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌の放射線抵抗性の原因として細胞の遺伝子発現状況は重要と考えられるが、不明な部分が多い。今回データベースを用いて細胞の放射線治療抵抗性に関わる遺伝子を同定することを目的とした。今回は特にmiR-654-3pというマイクロRNAに注目して研究を行なったが、本研究期間内に明らかな放射線抵抗性への関係性を示すことができなかった。今後も他の候補遺伝子について順次研究する予定である。

研究成果の概要（英文）：Although the gene expression status of cells is considered important as a cause of cancer radioresistance, there are many unclear parts. This time, we aimed to identify genes involved in radiotherapy resistance of cells using widely available databases such as TCGA. In conclusion, although several related genes were identified during the study period, no apparent radioresistance appeared when the genes were introduced into cells.

研究分野：放射線治療

キーワード：放射線治療

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

1. 研究開始当初の背景

癌の治療には個別化が今後鍵になってくると思われる。このような時代の動きの中、癌ゲノムシーケンス解析やマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析のような癌遺伝子プロファイルは現在世界中で行われ、公共のデータベースとして公開されており、いわゆるビッグデータと呼ばれるもののひとつとなっている。このようなビッグデータ解析は医療業界のみならず社会全体で注目されている研究分野であり、将来的に癌の治療選択の根拠として使用されるようになると思うのは自然なことである。このような時代を前に放射線治療医である我々は、今後の放射線治療の発展の仕方のひとつとして、遺伝子変異・発現パターンから放射線感受性を予測することが大変重要になってくるのではないかと考えている。我々は現在国際的に進行中の癌ゲノム配列情報やマイクロアレイによる遺伝子発現量を統計学的に解析して癌の放射線抵抗性にかかわりそうな遺伝子変異や遺伝子発現パターンを同定し、実際に細胞株を用いてその遺伝子変異や遺伝子発現を導入することで、放射線感受性が変化するかについて確認したいと考えた。近年、ゲノム解読技術が劇的に進化し、2008年に次世代シーケンサーが登場したことで、速やかに、正確に、かつ低コストでできる時代になった。今後癌ゲノム解析が日常臨床のツールになることは間違いない。このような技術の進歩の中で2006年に米国で開始されたThe Cancer Genome Atlas(TCGA)を皮切りに、国際的な International Cancer Genome Consortium(ICGC)といった大型癌ゲノムプロジェクトが開始され、多くの患者サンプルに基づいた癌ゲノムの全体像が明らかになりつつあり、それがビッグデータをなし、続々と新たな報告が続いている状況である。

化学療法の研究では、特定の遺伝子変異が薬剤感受性に深く関わるということが知られており、例えば肺癌の EGFR 変異(Gefitinib)、ALK 融合遺伝子(Crizotinib)、大腸癌の KRAS 変異(Cetuximab)、メラノーマの BRAF 変異(Vemurafenib)、乳癌/卵巣癌の BRCA1,2 変異(Olaparib)などがあるが、これらについては既に日常臨床レベルで使用されているものもあり、このような変異はアクショナブル変異と言われている(Dadancy et al. Cell 2012.review)。

我々は放射線治療の分野でもアクショナブル変異は存在し放射線治療効果予測ができるようにならないか、と考えている。放射線抵抗性に関わる遺伝子変異は p53 遺伝子変異が以前から有名である(Lee et al. PNAS 1993)が、このような癌ゲノムデータベースを詳細に解析することで、放射線抵抗性に関わる他の遺伝子変異が見つかる可能性があり、今後の放射線治療の発展を考えると大変価値のある解析になると考えられる。

遺伝子マイクロアレイ解析は癌の遺伝子発現パターンの網羅的解析ができる手法である。すでに多くのマイクロアレイ解析結果が公共データベースに多数登録されており、これもビッグデータを形成している。このデータベースには予後情報なども含まれており、遺伝子発現と患者予後について解析が可能である。この解析を通して放射線感受性に関わる遺伝子発現パターンを膨大なデータベースから明らかにできる可能性がある。

2. 研究の目的

癌ゲノムデータベースから放射線治療抵抗性に関わる遺伝子を同定し、癌細胞へその遺伝子を強制発現、もしくはノックダウンすることで、遺伝子の機能を調べることを目的とする。

3. 研究の方法

(1)ドライな実験

公共データベースをもとに放射線抵抗性に寄与している遺伝子変異、遺伝子発現パターンの候補について数理統計学的手法を用いて解析する。TCGA(<http://cancergenome.nih.gov>)に公開されている子宮頸癌患者データの中から必要な情報(患者背景、治療、予後情報、遺伝子変異情報等)を抽出し、遺伝子変異と予後相関につき確認する。

(2)ウェットな実験

初年度に同定した遺伝子変異や遺伝子発現パターンを実際に細胞株に起こし、放射線感受性の因子になりうるかを、clonogenic survival assay やヌードマウスへの皮下移植をし、実験検証する。

4. 研究成果

(1)ドライな実験

子宮頸癌患者の micro-RNA の発現に注目して解析を行ったところ、miR-654-3p の低発現が子宮頸癌の予後に有意に悪化していることを明らかとした(図1)。

(2)ウェットな実験

癌幹細胞は放射線抵抗性であり、癌の治療後再発に深く関わっていることが知られているが、我々は子宮頸癌の癌幹細胞において miR-654-3p の発現が低いことをまず明らかにした(図2)。この知見はドライな実験での miR-654-3p の発現が低いほど予後が悪いという結果とも合致しており、興味深い結果となった。

次に、miR-654-3p の発現を低下させると放射線抵抗性が変化するかどうかを調べるために、miR-654-3p のノックダウンを行う実験を行った(図3、4)。しかしながら、miR-654-3p の発現低下は放射線感受性には影響を及ぼさないことがわかった。

以上の結果から、癌遺伝子データベースから miR-654-3p という放射線抵抗性に関わる可能性のあるマイクロ RNA を同定することができたが、その細胞内の働きとして、癌幹細胞らしさに関わるものの、放射線治療抵抗性の因子ではないことが明らかとなった。

今後の展望として、今回の研究期間中に十分な遺伝子の検討ができなかったため、今後も他の候補遺伝子について調べる予定である。

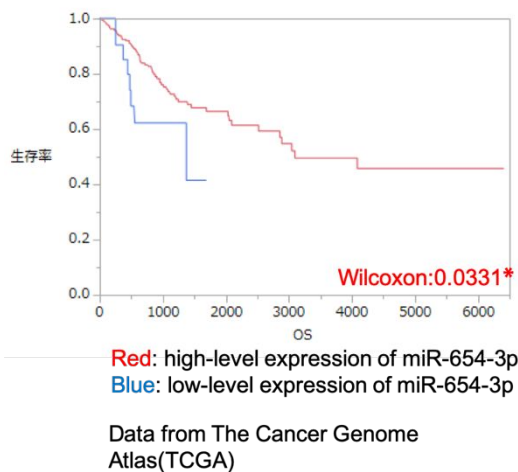


図 1 . 子宮頸癌患者では miR-654-3p 低発現が全生存率の予後不良因子

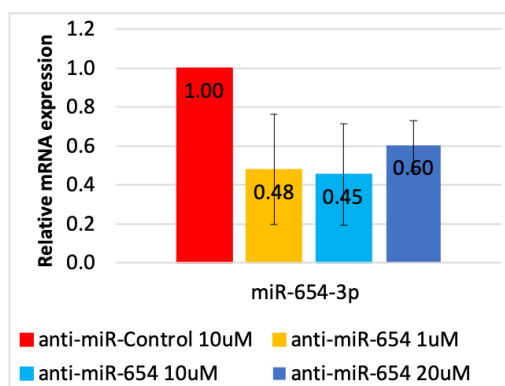


図 2 . 子宮頸癌癌幹細胞では miR-654-3p の発現が低い

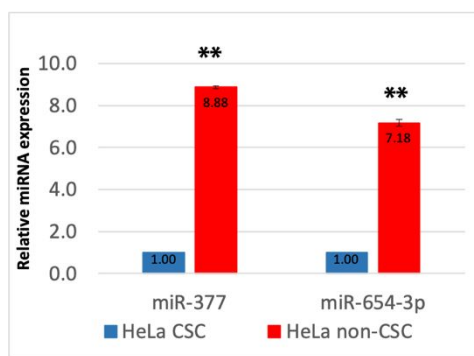


図 3 . アンチ miR による miR-654-3p のノックダウンの検証

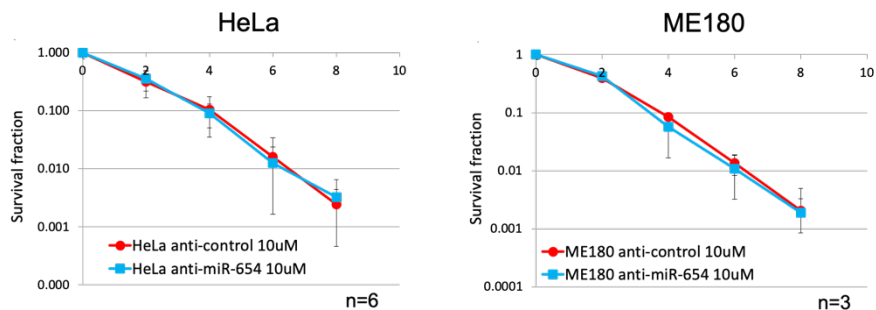


図4. miR-654-3p ノックダウンによる放射線感受性変化

5. 主な発表論文等

〔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：

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

なし

(2)研究協力者

なし

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。