

令和 3 年 5 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07290

研究課題名(和文)新規放射線治療新規バイオマーカー確立およびメカニズム解明研究

研究課題名(英文)Identification of new biomarkers in chemoradiotherapy

研究代表者

宮川 隆 (Miyagawa, Ryu)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20721939

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：非侵襲性の特徴があるがん放射線治療の重要性が増えています。本研究は、タンパク質の鋳型とならない非コードRNA(non-coding RNA; ncRNA)を切り口にして放射線治療新規マーカー確立を目的としました。治療モデルとして、放射線を照射した各種がん由来培養細胞を用いました。まず、定量PCRを用いた解析により、発現変動するncRNAをいくつか同定しました。また、FISH法やIF法を用いて、局在変化するncRNAやタンパク質も同定出来ました。ただ、免疫沈降法やフィルター結合法を用いたものの、これらのncRNAとタンパク質間での相互作用を確認することは出来ませんでした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

放射線照射によって発現が増加したncRNAをいくつか見つけることができました。特にその中でもほとんどまだ機能がわかっていない長いlncRNAであるlong non-coding RNA (lncRNA)の中からもいくつか見出すことができました。作り出されているRNAのうち、高等生物になるほど一番多くの割合を占めているのがlncRNAです。今後さらなる研究でこのlncRNAが放射線治療に関わる詳細なメカニズムが同定できれば、社会的にインパクトが大きく、かつ正確性の高いバイオマーカーを確立できて、より治療予後が良好になることが期待でき、がん患者が増えている昨今において、社会的に有意義であると言えます。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to elucidate the new mechanisms of radiation-responsive non-coding RNA (ncRNA) for the establishment of a new biomarker in radiation therapy. I used X-ray-irradiated cancer-derived cultured cells. First, I identified the expression change of some ncRNAs by qPCR. Concurrently, I also identified the localization change of some ncRNAs and some proteins by FISH and IF methods. But I was not able to identify the interaction of those ncRNAs with proteins.

研究分野：放射線生物学、分子生物学、腫瘍診断学

キーワード：ncRNA がん 放射線 放射線治療 バイオマーカー lncRNA

### 1. 研究開始当初の背景

臓器を残しつつがん根治へとつなげることが可能な非侵襲性という特徴がある放射線治療は、がん治療分野で近年、重要性が増しています。研究開始当初から比べるとその進歩も珍しく、がんが存在する領域だけに放射線を集中的に照射できるような治療法も開発されてきています。これまで、放射線治療分野における最先端の研究としては、放射線をいかに効率良くがん組織だけに照射できるかという物理学的見地からの研究が主流であり、多くの素晴らしい進歩につながりながら業績が出てきております。しかしながら、これはあくまで照射前の研究であり、照射後のフォローという点での研究はまだまだたくさんの可能性が残されています。照射前後の両方の観点で放射線治療進歩へと貢献できる可能性がある放射線生物学的研究の必要性や重要性が増しています。こういった流れの中で、治療を効率よく行うためのバイオマーカー確立が何よりも必要とされてきています。タンパク質のマーカー候補に関してはこれまでの研究で多くの候補が同定されてきましたが、本研究ではこれまであまり注目されてこなかった非コード RNA(non-coding RNA; ncRNA)をターゲットにしました。DNAにはタンパク質をコードする遺伝子部分と遺伝子ではない部分(非コード部分)が存在します。タンパク質をコードする遺伝子部分の割合は生物が高等になるに従い逆に減っていき、非コード RNA 部分のほうは増えていくことがわかっており、ヒトにおいては DNA 上の約 98%を占めることもわかっています。ヒトの高度な機能発揮のためには非コード部分のほうが重要であることが示唆されてきています。そこから多数の RNA が作られてきていて、それらが ncRNA と呼ばれています。ncRNA はタンパク質の鋳型とならないものの、RNA のまま生体内に存在し、様々な機能を担っているのではないかと考えられているものです。また最近では、タンパク質の鋳型となる mRNA よりも ncRNA のほうがより多くのものが生体内で作られてきていることもわかっていて、ncRNA が複雑な機能を担っている可能性が示唆されてきております。加えて、遺伝子部分からも多くの ncRNA が作られてきていることも解明されてきたことでますます ncRNA の重要性に注目が集まってきています。こういった背景もあり、研究開始当初では、放射線生物学研究分野において ncRNA を切り口としている研究はあまり多くはなく、タンパク質ではなく、むしろヒトにおいて多様な機能を持っているであろうことが推測される ncRNA をがん放射線治療のためのバイオマーカーとして応用することを目指す研究が重要だと考えました。

### 2. 研究の目的

本研究では、タンパク質の鋳型とならない ncRNA をターゲットにして放射線治療の新規マーカー研究確立を目的としました。がん治療の中で、臓器を残したままがん根治を目指せるという非侵襲性の特徴を持つ放射線治療が注目されていますが、高線量の放射線照射による副作用の問題や完全な効果の発揮などにはまだ個人差があります。放射線治療の効果向上のため、放射線照射前に検査によって放射線の治療効果を予測することができたり、照射後に効果を経過観察により見積もることができる新規バイオマーカー確立が必要とされています。また、最終的な目標としては、放射線治療効果予測バイオマーカーを外部より投与することで、本来放射線治療が有効ではない患者群を、放射線治療有効の方へと治療者側で誘導することができるような医薬品確立へとつなげられることを目指します。

### 3. 研究の方法

まず初手として各種ストレス暴露によって産生が促進される熱ショックタンパク質を用いて、細胞に照射するのに適切な放射線量を見積もりました。その後、その線量群を臨床的に放射線治療適応されている各種がん(子宮頸がん、肺がん、乳がんなど)由来細胞に照射し、定量逆転写 PCR を用いた解析により、発現変動する ncRNA を探しました。併せて、ウェスタンブロッティング法により、同様に変動するタンパク質因子を探しました。また、FISH 法や IF 法を用いて、放射線照射前後で局在変化する ncRNA やタンパク質を見つけました。その後、免疫沈降法やフィルター結合法などの直接または間接的に相互作用を検出できるような手法をいくつか用いて、これらの ncRNA とタンパク質間での相互作用解析を試みました。

### 4. 研究成果

定量逆転写 PCR を用いた解析により、発現変動する ncRNA 候補をいくつか同定しました。併せて、ウェスタンブロッティング法により、同様に変動するタンパク質因子候補をいくつか見出しました。また、FISH 法や IF 法を用いて、局在変化する ncRNA やタンパク質もいくつか同定出来ました。ただ、免疫沈降法やフィルター結合法を用いたものの、実験自体がうまくいかず、結果としてはこれらの ncRNA とタンパク質間での相互作用同定には至りませんでした。RNA とタンパク質間での相互作用が確認できなかったことで、放射線照射とその後の予後をつなげるようなメカニズムの説明ができず、詳細な放射線に反応するバイオマーカー確立を今後進めて

いくためには、より詳細な条件検討や、ターゲットとする ncRNA の種類を増やすこと、また、別の実験手法を取り入れていく（バイオインフォマティクスなどでの相互作用様式を予測するような研究手法などの非実験的手法も含む）ことが必要という結論に至りました。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Mukai, T., Nozawa, Y., Miyagawa, R., Ohta, T., & Nakagawa, K.	4. 巻 8
2. 論文標題 Glycated hemoglobin levels among workers who remained in the area evacuated after the Fukushima Daiichi Nuclear Plant disaster	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Studies in Science and Technology	6. 最初と最後の頁 129-132
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11425/sst.8.129	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Mukai, T., Miyagawa, R., Ohta, T., Nozawa, Y., Tamari, Y., & Nakagawa, K	4. 巻 17
2. 論文標題 Relationship between death attitude and risk perception of radiation: A comparison between residents in an evacuation zone and Tokyo.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Human Environmental Studies	6. 最初と最後の頁 25-30
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4189/shes.17.25	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 片野厚人、宮川隆、山下英臣、中川恵一	4. 巻 53
2. 論文標題 Stress response of methionine transfer RNA to X-ray irradiation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Radiation Biology Research Communications	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 宮川隆	4. 巻 502
2. 論文標題 がん化学放射線治療新規RNA バイオマーカー確立における新知見	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 FBNews	6. 最初と最後の頁 3-7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 太田岳史、宮川隆、向井智哉、中川恵一
2. 発表標題 Relationship analysis between geographical features and air dose rates using satellite data
3. 学会等名 日本放射線影響学会第62回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮川隆
2. 発表標題 AI時代でも活躍できる次世代薬剤師に必要な知識とは?!
3. 学会等名 第30回日本医療薬学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮川隆
2. 発表標題 次世代薬剤師に必要な知識～AI 時代を迎えて
3. 学会等名 第38回厚生連薬剤師研修会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮川隆
2. 発表標題 大学教員から見た次世代薬剤師に必要な最先端知識とは
3. 学会等名 第22回次世代の薬剤師を創る会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 太田岳史、宮川隆、向井智哉、中川恵一
2. 発表標題 衛星データを利用した GPS 付き線量データの包括的分析
3. 学会等名 第20回環境放射能研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 向井智哉、宮川隆、太田岳史、玉利祐樹、中川恵一
2. 発表標題 福島原発事故後の精神的ストレスと死生観の関連：放射能に関するリスク認知による媒介効果を中心に
3. 学会等名 日本心理学会第82回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 太田岳史、宮川隆、向井智哉、中川恵一
2. 発表標題 福島県の高線量地域における放射線マップ作成の取り組み
3. 学会等名 日本放射線影響学会第61回大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>東京大学教員リスト  <a href="https://www.u-tokyo.ac.jp/focus/ja/people/k0001_01960.html">https://www.u-tokyo.ac.jp/focus/ja/people/k0001_01960.html</a></p> <p>東京大学放射線科スタッフリスト  <a href="http://www.ut-radiology.umin.jp/staff/">http://www.ut-radiology.umin.jp/staff/</a></p> <p>宮川隆のWikipediaページ  <a href="https://ja.wikipedia.org/wiki/%E5%AE%AE%E5%B7%9D%E9%9A%86">https://ja.wikipedia.org/wiki/%E5%AE%AE%E5%B7%9D%E9%9A%86</a></p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------