

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09135

研究課題名(和文)腎癌発症転移に関与する長鎖non-coding RNAの同定

研究課題名(英文)lncRNA related to cancer progression and metastasis in kidney cancer

研究代表者

平田 寛(Hirata, Hiroshi)

山口大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40781307

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)：ペリニ管癌2症例を使用し、正常腎組織に比較して癌組織で有意に発現が亢進しているlncRNAをlncRNA array サービスを使用し同定した。細胞質限局の2つのlncRNA (GNASとYY1AP1)とそれらが潜在的に結合する可能性のあるmiRNA、またそのmiRNAが転写を抑制する可能性がある組み合わせを塩基配列をもとに同定できた。(1)GNAS-miR205-5p-MX11(2)YY1AP1-miR371a-5p-KIF3b
lncRNAのスポンジ効果にてmiRNAの発現が低値、そのmiRNAの標的遺伝子発現が高値である可能性があり現在淡明細胞腎癌組織内の発現を検証している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腎癌の中での最も悪性度の高いペリニ管癌組織を使用し、癌組織で高発現しているlncRNA候補を同定後に、腎癌の中で最も多い組織系の淡明細胞癌で再検証することで、癌化、浸潤、転移に関連するlncRNAを同定できる可能性を検証した。現時点で淡明細胞癌組織内での発現解析を行っている。この実証ができれば、腎癌全体の発症、浸潤、転移に関連するマーカーとなるため、今後術後のバイオマーカーとなりうる。また、lncRNAの作用機序にmiRNAのスポンジ効果があるため、候補となるlncRNAが潜在的に結合するmiRNA、及びその標的遺伝子の解析も終了しているため、それらも淡明細胞癌組織で検証を行っている。

研究成果の概要(英文)：To find lncRNAs related to cancer progression and metastasis in kidney cancer, we used 2 collecting duct carcinoma samples. Finally we identified two lncRNAs which expression was significantly increased in collecting duct carcinoma tissues compared to normal kidney tissues. Two lncRNAs are GNAS and YY1AP1, localised in cytoplasm. There two lncRNAs potentially bind to miRNA-205 and miR-371a-5p based on computer algorithms. Two miRNAs also potentially bind to MX11 and KIF3B. Currently their expression levels being verified in clear cell renal cell carcinoma tissues.

研究分野：腎癌

キーワード：ペリニ管癌 lncRNA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Non-coding RNA はタンパク質をコードしない RNA の総称で、20 塩基程度の microRNA を代表する短鎖 non-coding RNA と数百以上の長鎖 non-coding RNA に分類される。短鎖 non-coding RNA の microRNA は標的遺伝子の転写後発現調節に関与するが、長鎖 non-coding RNA (lncRNA) の研究は遅れ、機能が不明であった。2007 年に lncRNA の HOTAIR が発見され、ポリコム複合体と結合し、最終的に転写不活性に関与するヒストンタンパク質をメチル化し、癌抑制遺伝子の転写を抑制することが発見され、癌化・転移のメカニズムの一つとして lncRNA の関与の可能性が報告された。これまで多くの癌種で lncRNA の発現亢進が報告され、癌化・転移との関連が強く推測され、診断・治療分野での応用が期待されているものの、癌化・転移に共通した lncRNA は同定されていない。lncRNA がどのように癌化や転移に関与するかのメカニズムも研究途上である。腎癌の中で、ペリニ管癌の割合は約 1% と稀少癌で、進行が早く、大半の症例は発見時すでに局所浸潤、遠隔転移している。従来の化学療法、放射線治療にも反応せず、無症状での超早期発見症例を除く、大半のペリニ管癌の患者が短期間に死亡する。ペリニ管癌の過去の報告論文は、症例集積による臨床的検討が主であり、癌化や転移メカニズムの解明などの基礎研究はこれまでほとんど行われていない。通常の癌は予後良好群から予後不良群のものまで様々であるが、ペリニ管癌に関しては、ほとんどの症例で悪性度が高く、ほぼ予後不良群であり、これほど癌化・転移性が顕著な細胞型はない。我々は、この稀少ペリニ管癌サンプルを使用することで、ペリニ管癌の急速急激な癌化・転移に関連する lncRNA 候補を発見し、腎癌の大多数 (約 80%) である淡明細胞癌サンプルにおいてその lncRNA の癌化・転移との関連を再検証する。全腎癌の癌化に共通する lncRNA を発見し、癌化・転移のメカニズムを解明し、超早期の診断マーカーが発見できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究の最終目的は腎癌の癌化・転移に関与する共通の lncRNA の同定、超早期発見のための腫瘍マーカーの探索である

3. 研究の方法

悪性度の高い、癌化、転移性の顕著な希少ペリニ管癌 (約 1%) 組織を使い、癌化・転移関連 lncRNA を探索した。その後、腎癌の最も多いタイプの淡明細胞癌 (約 80%) でその lncRNA が癌化・転移性に関与するか、汎用性を再検証する。

4. 研究成果

ペリニ管癌 2 症例で、正常組織に比較してペリニ管癌組織で有意に発現が亢進している lncRNA は 303。また高発現している mRNA は 135 個であった。図 1 に示すように、癌組織で高発現している mRNA を標的とする miRNA は 248 存在し、miRanda を使用し mRNA をターゲットとする miRNA がターゲットにしている lncRNA を探索し、257 pair の miRNA-lncRNA を同定した。

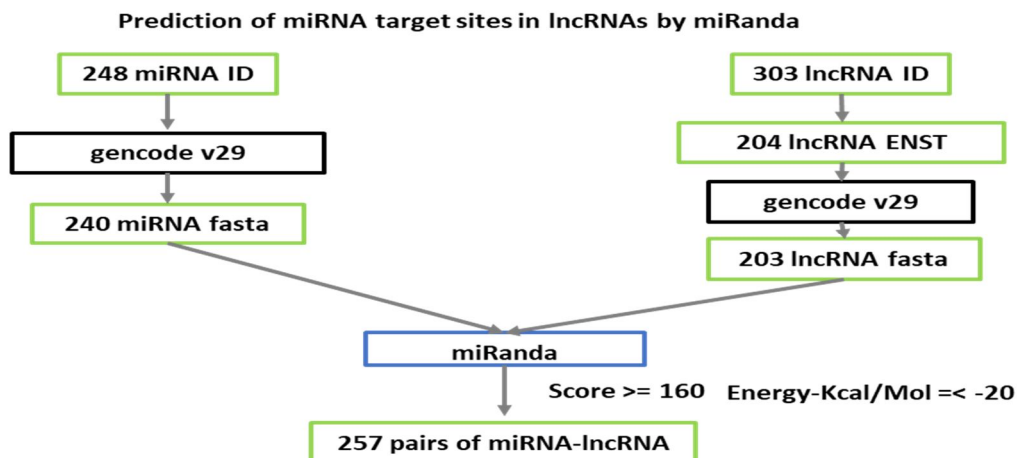


図 1 ペリニ管癌組織で高発現である lncRNA 中の miRNA の target site 検索

また、miRNA-mRNA-lncRNA は 1520 sets あり、その中で次に示すように Transcript ID レベルで 97 個の lncRNA に絞り込み (図 2)、GeneSymbol レベルでは 35 個まで絞り込んでいる (表 1)。

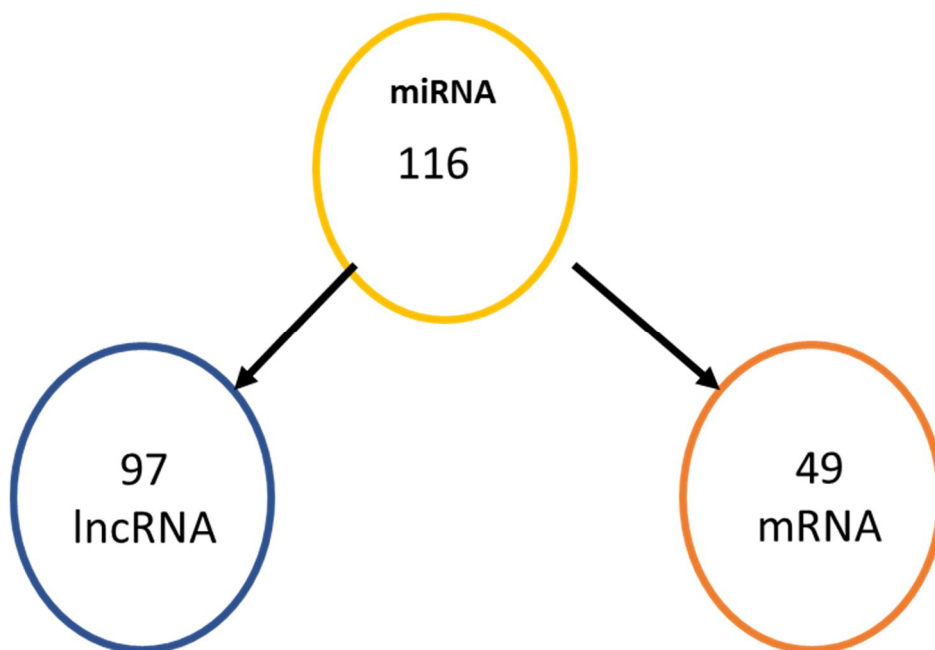


図 2 ベリニ管癌に関連する lncRNA-mRNA-miRNA の相関図

表 1 miRNA-mRNA-lncRNA の候補となる 35 個の lncRNA リスト

GeneSymbol	Subcellular_Localization
AC005808.1	
AC007388.1	
AC016738.2	
AC095032.1	
AC099673.1	
AC105942.1	
AL021937.1	
AL133480.1	
AL139289.1	
AL353148.1	
AL389885.1	
ANKRD30BL	Nucleus
AOAH-IT1	
AP000532.2	Nucleus
AP001469.3	Nucleus
CADM2-AS1	
FAM120AOS	
GNAS	Cytosol
HOXD3	
LINC00113	
LINC00467	
LINC00578	
LINC00607	Nucleus
LINC00963	
LINC01206	Nucleus
LINC01794	
LINC01865	
LINC02262	
LINC02471	
MANCR	unknown
PAXB1-AS1	
SEPT7-AS1	
TLX1NB	
YY1AP1	Cytosol
ZSWIM8-AS1	Nucleus

スポンジ効果のため、lncRNA 中の細胞質に局在するもので絞り込み、細胞質内に限局すると
いわれる lncRNA は GNAS と YY1AP1 がこの解析では同定された(表1)。

ペリニ管癌組織で正常腎組織に比べ高値であった2つの lncRNA (GNAS と YY1AP1)とそれらが
潜在的に結合する可能性のある miRNA, またその miRNA が転写を抑制する可能性がある組み合
わせは以下の(1)(2)であった。

(1) GNAS-miR-205-5p-MXI1

(2) YY1AP1-miR-371a-5p-KIF3b

細胞質内限局の lncRNA のため、スポンジ効果にて miRNA の発現が低値であり、その miRNA の
標的遺伝子の発現は高値である可能性がある。

TCGA のデータベースによると、MXI1 は淡明細胞癌では unfavorable marker とされ、
miRNA-205 の発現は低値であるため lncRNA の GNAS の発現が淡明細胞癌組織内で高値であれば、
lncRNA のスポンジ効果が実証されるかもしれない。

現在、淡明細胞癌の組織からの RNA を使って GNAS-miR-205-5p-MXI1 の発現パターンを確認して
いる。データがまとまり次第論文作成を行う予定である。

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〕

〔その他〕

-

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
研究分担者	松山 豪泰 (Matsuyama Hideyasu) (70209667)	山口大学・大学院医学系研究科・教授 (15501)	

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