

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：11501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16684

研究課題名(和文)腎癌におけるankrd1の機能解明と薬剤耐性克服にむけた新規治療戦略の開発

研究課題名(英文)Elucidation of Ankrd1 function in renal cancer and development of new therapeutic strategy to overcome drug resistance

研究代表者

内藤 整 (Naito, Sei)

山形大学・医学部・助教

研究者番号：00431643

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：腎癌の治療標的の1つであるmTORを阻害する薬剤ラパマイシンに対して抵抗性のヒト腎癌細胞株を作成し(ACHN/RR)、非抵抗株と抵抗株で発現する遺伝子の違いを調べたところ、Ankrd1が耐性株で強発現している遺伝子の一つであった。  
このAnkrd1をノックダウンしたところ、細胞死を抑制する働きがあるBCL2ファミリー蛋白の発現低下と細胞増殖抑制効果が認められた。本研究により、Ankrd1が腎癌に対する新規治療標的となる可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

有転移腎癌に対する治療は近年大幅に進歩しているが、免疫治療に効果を示さなくなった場合は分子標的薬が治療の中心となる。しかし、分子標的薬治療は予後の延長には寄与するものの、ほとんどは治療抵抗性となる。我々は腎癌におけるAnkrd1の働きと阻害による細胞増殖抑制効果を示した。これは、腎癌に対する新規治療標的の開発に貢献されうる。

研究成果の概要(英文)：We created a human renal cancer cell line, resistant to the drug rapamycin, which inhibits mTOR, which is one of the therapeutic targets for renal cancer, and investigated the difference between the genes expressed in non-resistant and resistant strains. As a result, Ankrd1 was one of the genes strongly expressed in the resistant strain.

When this Ankrd1 was knocked down, a decrease in the expression of BCL2 family proteins that suppress cell death and a cell growth inhibitory effect were observed. This study has shown that Ankrd1 may be a novel therapeutic target for renal cancer.

研究分野：泌尿器科

キーワード：Ankrd1 腎癌

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

有転移淡明細胞型腎癌に対する薬物治療は抗VEGFR薬、mTOR阻害剤、腫瘍免疫薬が中心であるが、多くの有転移腎細胞癌患者は最終的には薬剤抵抗性となり癌死に至る。我々はこれまで、LDL添加により腎癌細胞株は抗VEGFR薬への耐性が誘導されることを報告しているが、更なる解析として網羅的遺伝子発現解析を行ったところ、LDL添加がAnkrd1の発現を上昇させることを発見した。また、我々はmTOR阻害剤に対して抵抗性を示す腎細胞癌株を樹立しているが、この細胞株を用いた遺伝子発現解析でもmTOR阻害剤耐性株においてAnkrd1の発現上昇がみられることを発見している。これらの研究の結果から、腎癌の薬物耐性機序にAnkrd1が重要な役割を果たしている可能性に注目した。

### 2. 研究の目的

腎癌におけるankrd1の機能解析、薬剤耐性克服のための新規治療標的分子としての可能性の探索、Ankrd1の薬剤感受性予測マーカーとしての有用性を検討

### 3. 研究の方法

ヒト腎癌細胞株 7860 および ACHN、mTOR 阻害剤耐性 ACHN 株 (ACHN/RR) を用いた。Ankrd1、ERK5 の発現抑制には siRNA 法を用いた。mRNA の発現量は RT-qPCR、蛋白発現量の比較はウェスタンブロット法、細胞増殖能の定量には MTS アッセイ法を用いた。

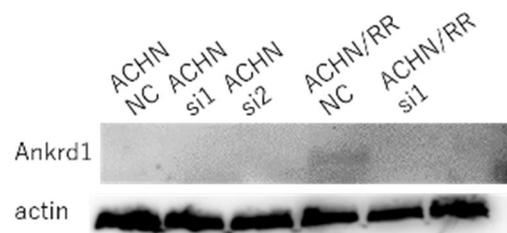
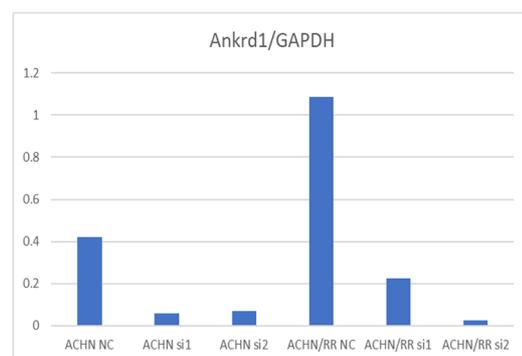
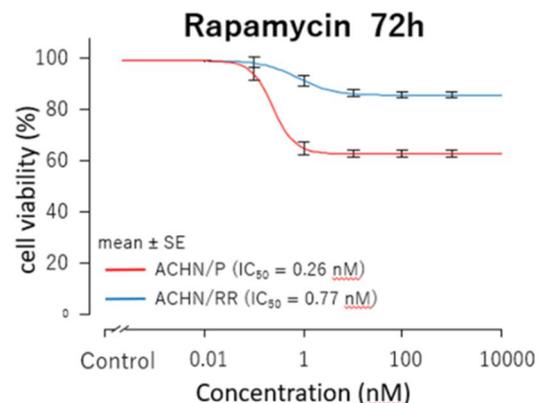
### 4. 研究成果

腎癌細胞株を用いて RT-qPCR 法で Ankrd1 の発現を確認したところ、非耐性株に比し耐性株で Ankrd1 の発現が高いこと、ウェスタンブロット法で耐性株の Ankrd1 が蛋白レベルでも亢進していることを確認した。

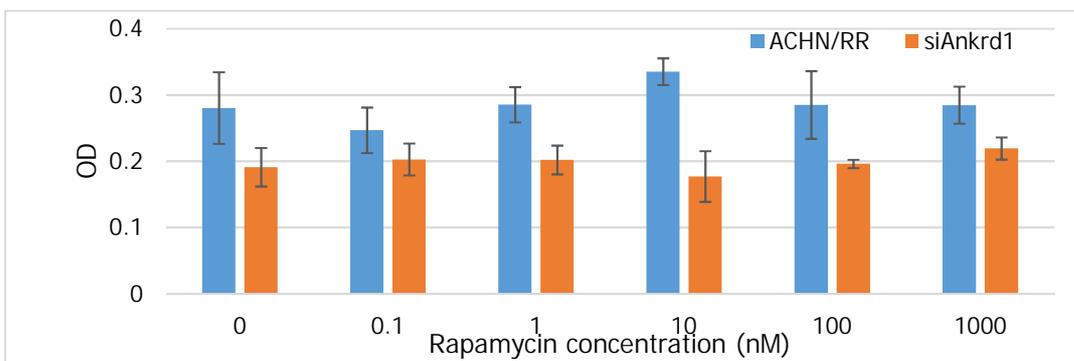
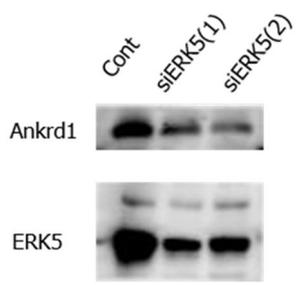
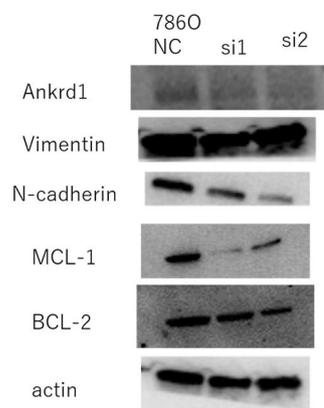
Ankrd1 の機能解析を行なうため、ACHN/RR およびヒト腎癌細胞株 7860 について、Ankrd1 を siRNA 法を用いて knock down し、細胞増殖能を MTS アッセイ法で測定したところ、Ankrd1 抑制細胞での細胞増殖抑制がみられた。また、Ankrd1 knock down 細胞株において抗アポトーシス分子である MCL1 や BCL2 などの BCL2 ファミリー蛋白の発現抑制がみられた。

我々の共同研究者は神経系の細胞において ERK5 経路の刺激が Ankrd1 の発現を亢進することを示している。この知見から、腎癌細胞株の ERK5 を siRNA 法を用いて knock down したところ Ankrd1 の発現は低下した。また、ERK5 阻害剤 SMD8-92 を添加したところ、knock down の場合と同様に Ankrd1 の発現低下と BCL2 ファミリー蛋白の発現低下がみられた。

以上の知見から、ERK5/Ankrd1 経路は腎癌に対する新たな薬物治療の標的となりうると考えられた。



Ankrd1 expression levels after Ankrd1 knock-down (Rt-qPCR and WB)



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小澤迪喜、内藤整、他
2. 発表標題 Ankrd1 as a potential therapeutic target for rapamycin-resistant renal cell carcinoma
3. 学会等名 日本癌学会総会
4. 発表年 2018年

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----