

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09691

研究課題名(和文) 転写超保存領域T-UCRを標的とした去勢抵抗性前立腺癌の新規診断・治療法の開発

研究課題名(英文) Development of a novel treatment for castration-resistant prostate cancer by targeting the transcriptionally hyperconserved region T-UCR

研究代表者

松原 昭郎 (Matsubara, Akio)

広島大学・医系科学研究科(医)・専門研究員

研究者番号：10239064

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)：前立腺癌で高発現したUc.4+, Uc.63+, Uc3+を前立腺癌細胞株の22RV1とC42に導入した強制発現株を樹立し、細胞増殖や浸潤能を評価した。さらにRNAシーケンスを行ない、前立腺癌特異的なT-UCRの癌悪性化や去勢抵抗性獲得のメカニズムを明らかにする予定である。さらにMicrotubule-associated protein tau (MAPT)が、抗アンドロゲン療法抵抗性の症例や、抗がん剤耐性の症例で高発現していることを確認し、そのCRPCへの関与をUrol Oncol. 2020 May 16; S1078-1439(20): 30191-30195に論文報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

去勢抵抗性前立腺がん(CRPC)の生物学的メカニズムの解明と薬剤耐性の克服に関して、非翻訳RNAである転写超保存領域(T-UCR)の発現異常に着目した研究はほとんど報告がない。タンパク質をコードしない非翻訳RNA(ncRNA)の新しいカテゴリーとして注目されている転写超保存領域(Transcribed-Ultraconserved Region; T-UCR)は、生物種を超えて100%保存されるというユニークな特徴を持つ、特定のT-UCRの前立腺癌における発現異常が見出されたことからがん関連遺伝子としての働きが注目されており、今後のがん診断・治療においてT-UCRは重要な位置付けと想定される。

研究成果の概要(英文)：We established forced expression lines of Uc.4+, Uc.63+, and Uc3+, which are highly expressed in prostate cancer, in 22RV1 and C42 of prostate cancer cell lines, and evaluated cell proliferation and invasive ability. We will also perform RNA sequencing to elucidate the mechanism by which prostate cancer-specific T-UCRs promote tumor progression and castration resistance. In addition, microtubule-associated protein tau (MAPT) was found to be highly expressed in antiandrogen therapy-refractory and anti-cancer drug-resistant cases, and its involvement in CRPC will be investigated in Urol Oncol. 2020 May 16; S1078-1439(20): 30191-30195.

研究分野：去勢抵抗性前立腺がん

キーワード：去勢抵抗性前立腺がん 非翻訳RNAである転写超保存領域(T-UCR)

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

去勢抵抗性前立腺がん(CRPC)と様々な遺伝子発現異常との関連が報告されているものの、個々の遺伝子発現異常と CRPC の分子メカニズムとの間には依然として不明な点が多く、新規治療法開発に向けての課題である。近年、タンパク質をコードしない非翻訳 RNA(ncRNA)の新しいカテゴリーとして注目されている転写超保存領域(Transcribed-Ultraconserved Region; T-UCR)は、生物種を超えて 100%保存されるというユニークな特徴を持つ。特定の T-UCR のがんにおける発現異常が見出されたことからがん関連遺伝子としてのはたらきが注目されており、今後のがん診断・治療において T-UCR は重要な位置付けにあると想定される。

2. 研究の目的

進行性前立腺がん治療の第一選択はホルモン療法であるが次第に治療抵抗性となる(去勢抵抗性前立腺がん: CRPC)。様々な遺伝子発現異常と CRPC との関連性が報告されているものの、個々の遺伝子発現異常と CRPC の分子メカニズムとの間には依然として不明な点が多く、新規治療法開発に向けての課題である。近年のゲノムワイドな解析

手法によって、タンパク質をコードしない非翻訳 RNA(non-coding RNA; ncRNA)が単なるジャンクではなく、様々な機能を有しており、がんとも深く関連することが指摘され始めている。中でも転写超保存領域(Transcribed-Ultraconserved Region; T-UCR)は、ncRNA の中でも新しいカテゴリーとして注目されている。

去勢抵抗性前立腺がんを解析対象として T-UCR の発現を広く検索し、前立腺がんの薬剤耐性メカニズムに関わる非翻訳 RNA ネットワークを解明するとともに革新的な診断治療シーズを提供することを目的とする

3 . 研究の方法

本研究では、1)CRPC 関連 T-UCR をデジタルカウント遺伝子発現解析という新しい手法を用いて候補遺伝子を絞り込み、2)CRPC 特異的な T-UCR を同定する。3)さらに生物学的意義や薬剤耐性との関連についての研究を進める

[1]デジタルカウント遺伝子発現解析を用いた CRPC 関連 T-UCR の同定

前立腺がんおよび CRPC 臨床検体を試料として両者における T-UCR の発現を比較する。解析には前立腺がん臨床組織検体を使用するが、病理組織学評価を先立って行い、解析に適した標本であることを確認するとともに、グリソンスコアを評価する。

[2]候補となる T-UCR の CRPC における発現解析

同定された T-UCR に関しては、正常前立腺組織、前立腺がん組織を用いて定量的 PCR 法を用いた発現比較にて検証する。前立腺がんにおける高発現が証明された T-UCR においてはビオチン標識した LNA プローブを設計し、病理組織切片を用いた in situ hybridization(ISH)法により前立腺がんにおける発現と局在を検討する。T-UCR

の発現と組織学的悪性度などの臨床病理学的事項との関連を評価し、治療後の予後との解析を生存曲線により調べる。さらに、高感度かつ優れた定量性を有する droplet digital PCR (ddPCR)法を用い、CRPC 患者血清中の T-UCR 発現を調べることで、多数例の CRPC 症例における T-UCR 発現プロファイルを評価する。

[3] CRPC 関連 T-UCR と薬剤耐性メカニズムの解析

T-UCR 発現ベクターを作製、前立腺がん細胞株にトランスフェクションし、細胞増殖や浸潤能に与える影響を調べる。さらには抗がん剤（ドセタキセル、カバジタキセル）あるいは新規アンドロゲン受容体阻害剤を投与し、薬剤感受性が変化するかを調べる。また、縦断的に採取された CRPC 治療中の患者血清における標的 T-UCR の発現変化を追い、治療効果判定への有用性を検討する。

4 . 研究成果

私たちは、前立腺癌細胞株の22RV1とC42にUc.4+, Uc.63+, Uc3+を導入した強制発現株を樹立し、RNAシーケンスを行ない、前立腺癌特異的なT-UCRの癌悪性化や去勢抵抗性獲得のメカニズムを研究している。さらに症例数を増やし、デジタルカウント遺伝子発現解析を用いたCRPC関連T-UCRの同定、T-UCRのCRPCにおける発現解析、CRPC関連T-UCRと薬剤耐性メカニズムの解析を施行している。

加えて、Microtubule-associated protein tau (MAPT)の抗アンドロゲン療法抵抗性の

症例や、抗がん剤耐性の症例で高発現していることを確認した。このことをUrol Onco

I. 2020 May 16: S1078-1439(20): 30191-30195に論文報告している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Inoue S, Hayashi T, Teishima J, Matsubara A.	4. 巻 31(1)
2. 論文標題 Prevalence of hand joint symptoms in androgen deprivation therapy among Japanese patients with prostate cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Urol Sci	6. 最初と最後の頁 15-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4103/UROS.UROS_41_19.	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 Sekino Yohei, Han Xiangrui, Babasaki Takashi, Goto Keisuke, Inoue Shogo, Hayashi Tetsutaro, Teishima Jun, Shiota Masaki, Takeshima Yukio, Yasui Wataru, Matsubara Akio	4. 巻 38
2. 論文標題 Microtubule-associated protein tau (MAPT) promotes bicalutamide resistance and is associated with survival in prostate cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations	6. 最初と最後の頁 795.e1 ~ 795.e8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.urolonc.2020.04.032	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 Fukuoka Kenichiro, Teishima Jun, Nagamatsu Hiroataka, Inoue Shogo, Hayashi Tetsutaro, Mita Koji, Shigeta Masanobu, Kobayashi Kanao, Kajiwara Mitsuru, Kadonishi Yuichi, Tacho Takatoshi, Matsubara Akio	4. 巻 52
2. 論文標題 Predictors of poor response to first-generation anti-androgens as criteria for alternate treatments for patients with non-metastatic castration-resistant prostate cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Urology and Nephrology	6. 最初と最後の頁 77 ~ 85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11255-019-02281-4	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 Sekino Yohei, Han Xiangrui, Kawaguchi Takafumi, Babasaki Takashi, Goto Keisuke, Inoue Shogo, Hayashi Tetsutaro, Teishima Jun, Shiota Masaki, Yasui Wataru, Matsubara Akio	4. 巻 20
2. 論文標題 TUBB3 Reverses Resistance to Docetaxel and Cabazitaxel in Prostate Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3936 ~ 3936
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20163936	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 Teishima Jun, Hayashi Tetsutaro, Nagamatsu Hiroataka, Shoji Koichi, Shikuma Hiroyuki, Yamanaka Ryoken, Sekino Yohei, Goto Keisuke, Inoue Shogo, Matsubara Akio	4. 巻 8
2. 論文標題 Fibroblast Growth Factor Family in the Progression of Prostate Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 183 ~ 183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm8020183	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 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 後藤 景介, 井上 省吾, 林 哲太郎, 亭島 淳, 坂本 直也, 仙谷 和弘, 大上 直秀, 安井 弥, 松原 昭郎
2. 発表標題 前立腺癌オルガノイドを用いた癌幹細胞性 転写保存領域の探索と治療への応用
3. 学会等名 第108回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yohei Sekino ¹ , Keisuke Goto ¹ , Tetsutaro Hayashi, Jun Teishima, Wataru Yasui, Akio Matsubara
2. 発表標題 TUBB3 is associated with PTEN and anti-androgen resistance in prostate cancer
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 後藤 景介, 宮本 俊輔, 藤井 慎介, 福岡 憲一郎, 関野 陽平, 北野 弘之, 池田 健一郎, 稗田 圭介, 井上 省吾, 林 哲太郎, 亭島 淳, 安井 弥, 松原 昭郎
2. 発表標題 後分泌型HMGB1の前立腺癌における発現・機能解析
3. 学会等名 第108回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名	関野陽平、大上直秀、後藤景介、重松慶紀、林哲太郎、坂本直也、仙谷和弘、亭島淳、安井弥、松原昭郎
2. 発表標題	前立腺癌においてprotocadherin B9はピカルタミド耐性に関わり、予後不良因子である
3. 学会等名	第107 回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	関野陽平、韓向鋭、上野剛志、井上省吾、林哲太郎、亭島淳、塩田真己、安井弥、松原昭郎
2. 発表標題	前立腺癌におけるTUBB3のカバジタキセル耐性機構への関与およびP13K阻害薬の可能性
3. 学会等名	日本泌尿器腫瘍学会第5回学術集会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	関野陽平、上野剛志、福岡憲一郎、後藤景介、神明俊輔、稗田圭介、井上省吾、林哲太郎、亭島淳、塩田真己、安井弥、松原昭郎
2. 発表標題	前立腺癌においてTUBB3はドセタキセル、カバジタキセル耐性に関与する
3. 学会等名	第57回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	関野陽平、韓向鋭、上野剛志、井上省吾、林哲太郎、亭島淳、塩田真己、安井弥
2. 発表標題	Involvement of TUBB3 in taxane resistance and the potential role of combination with P13K inhibitor and taxane chemotherapy in prostate cancer
3. 学会等名	第71回西日本泌尿器科学会総会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名 関野陽平、後藤景介、井上省吾、林哲太郎、亭島淳、坂本直也、仙谷和弘、大上直秀、安井弥、松原昭郎
2. 発表標題 オルガノイドを用いた前立腺研究
3. 学会等名 第35回前立線シンポジウム
4. 発表年 2019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
研究分担者	亭島 淳 (Teishima Jun) (20397962)	広島大学・医系科学研究科(医)・准教授 (15401)	
研究分担者	安井 弥 (Yasui Wataru) (40191118)	広島大学・医系科学研究科(医)・名誉教授 (15401)	
研究分担者	林 哲太郎 (Hayashi Tetsutaro) (60612835)	広島大学・医系科学研究科(医)・講師 (15401)	
研究分担者	井上 省吾 (Inoue Shogo) (90457177)	広島大学・病院(医)・講師 (15401)	

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
---------	---------