

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09399

研究課題名（和文）腎癌の免疫チェックポイント阻害剤治療予測マーカーとしてのlncRNAの有用性

研究課題名（英文）Utility of lncRNAs as predictive markers for immune checkpoint inhibitor therapy in renal cell carcinoma.

研究代表者

平田 寛 (Hirata, Hiroshi)

山口大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：40781307

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では腎癌におけるICI治療効果を予測できるlncRNAの発見に取り組む目的でICI治療無効症例の腎がん組織で発現が亢進したlncRNA LRRC75A-AS1をRNAsequenceにて同定した。このlncRNAはICI無効症例で発現が高値であり、また淡明細胞癌患者組織での検討では、lncRNA LRRC75A-AS1の発現が高値群では術後再発リスクが高いことも認められた。human腎細胞がん細胞株を使用した基礎実験では、siRNAにて発現を低下させると腎がん細胞の増殖能や浸潤能が統計学的に有意に低下する結果であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々の結果は、今後腎がん治療に際して免疫チェックポイント阻害剤を使用する際に、前もって効果を判定できる新たなバイオマーカーとなる可能性がある。腎癌のみならず多種の癌のICI治療予測のマーカーとなる可能性もあり、広く学術的、科学技術的に、また社会全体に波及効果が期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, the lncRNA LRRC75A-AS1, which was upregulated in RCC tissue from patients who failed ICI treatment, was identified by RNAsequencing with the aim of discovering an lncRNA that could predict the efficacy of ICI treatment in RCC. In basic experiments using human renal cell carcinoma cell lines, siRNA downregulation of the lncRNA LRRC75A-AS1 was associated with a higher risk of post-operative recurrence. The results showed a statistically significant reduction in the proliferative and invasive potential of kidney cancer cells when siRNA expression was reduced.

研究分野：腎がん

キーワード：腎細胞がん lncRNA

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) が癌治療に登場し、泌尿器科領域腫瘍でも治療適応が拡大されつつある。しかしどういった症例に有効であることを示す治療効果予測マーカーは存在しない。我々は、non-coding RNAの中の長鎖non-coding RNA (lncRNA) が免疫反応にも関与するという報告を基に、lncRNAが癌治療におけるICIの効果に何らかの関係があるのではないかと考えた。本研究では腎癌におけるICI治療効果を予測できるlncRNAの発見に取り組み、ICI治療の有効性を予測する新たなマーカーを見出すことで、適切な医療の提供に役立つとともに癌患者の生命予後の改善に貢献すると考えた。

#### 2. 研究の目的

本研究の目的は腎癌におけるICI治療予測マーカーとなるlncRNAの同定、探索である。免疫チェックポイント阻害剤の治療効果を予測するバイオマーカーとしてlncRNAに着目した研究はこれまでなく、本研究を通じてlncRNAの新たな機能の解明につながることから、大変斬新で独自性が高い。腎癌で最も多いタイプの淡明細胞癌患者でICIの効果を確認したサンプルでの治療効果に関連するlncRNAを同定することを今回の研究目標とし、2018年の科研費テーマであるペリ二管癌のlncRNAのパターンと類似すれば、今後腎癌以外の癌腫でもICI治療を行う際の治療効果予測が可能となる。腎癌のみならず多種の癌のICI治療予測のマーカーとなる可能性もあり、広く学術的、科学技術的に、また社会全体に波及効果が期待できる。

#### 3. 研究の方法

免疫チェックポイント阻害剤使用時の治療効果予測マーカーとしてlncRNAが有用であるかの解明方法として、腎癌 (淡明細胞癌) 患者で長期間治療効果が持続した症例 (3例) と、最初からまったく効果のなかった症例 (3例) を使い、ICI治療に関連するlncRNAをRNA sequenceにて同定した。データ解析は研究分担者の山口大学のシステムバイオインフォマティクス講座の早野が行った。ICI治療奏功無効に関連するlncRNAとして、lncRNA LRR75A-AS1を標的遺伝子とした。RNA sequence 結果のvalidation として、ICI治療奏功5例と無効5例の腎がん組織から抽出したRNAを用いてlncRNA LRR75A-AS1の発現を確認した。また、ICI治療群で発現が高値であるlncRNA LRR75A-AS1はoncogenic な機能を持つ可能性もあるため、山口大学病院にて腎摘もしくは腎部分切除を行った症例の組織から抽出したRNAを使用し正常腎組織/癌組織での発現解析や予後との関連に関しても検討した。

またhuman 腎がん細胞株を使用しsiRNAを使用することでlncRNA LRR75A-AS1の発現を低下させた場合の細胞増殖能や細胞浸潤能の検証もおこなった。

#### 4. 研究成果

RNA sequence にてICI治療無効群で高値の lncRNA LRR75A-AS1 の発現は、ICI 無効症例 (5 症例) と ICI 有効症例 (5 例) の腎がん組織内でのRT-PCR結果では、ICI無効症例で統計学的に有意に高値であった。

また、lncRNA LRR75A-AS1 の oncogenic の機能を検証するため腎がん組織中の発現を正常組織と比較した。正常の腎組織と比較して腎がん組織中では lncRNA LRR75A-AS1 の発現は有意に高値であった。Kaplan-Meier curve 解析においても lncRNA LRR75A-AS1 の発現高値群では再発までの期間が有意に短い結果であった。多変量解析を行い、lncRNA LRR75A-AS1 高値群が再発予測マーカーとして有用かの検討も行ったが、統計学的に有意に LRR75A-AS1 は再発に関係していた。これらの結果から lncRNA LRR75A-AS1 は腎がんに関して oncogenic な機能が推測されたため、細胞実験にてより機能解析を行った。

lncRNA LRR75A-AS1 の細胞を使用した機能解析では、siRNA にて lncRNA LRR75A-AS1 の発現を低下させると腎がん細胞の増殖能は低下し、細胞浸潤能も有意に低下した。このことは、lncRNA LRR75A-AS1 が oncogenic な機能を持ち、癌の増殖や浸潤に関連することを示唆しているのかもしれない。現在 lncRNA の別の機能として microRNA との関係にも着目し、イオインフォマテイクス講座の早野により lncRNA LRR75A-AS1 に結合する可能性のある miRNA のリストアップを終了し、追加実験を行っている。また、当初の仮説である lncRNA LRR75A-AS1 の ICI 治療効果予測のバイオマーカーとしての検討は少ない症例での結果のため、今後サンプル数を増加させ再検討を予定している。今回の結果は論文にまとめ、現在執筆準備を行っている。

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	早野 崇英  (Hayano Takahide)  (30642392)	山口大学・大学院医学系研究科・講師    (15501)	
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(特命)    (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