

課題番号 92

HOTAIR による腎癌悪性化メカニズムの探索と治療への応用

[1] 組織

代表者：方山 博路
(東北大学大学院医学系研究科)
対応者：菅野 新一郎
(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 13 万円

[2] 研究経過

【目的】転移性腎癌の治療は、免疫チェックポイント阻害剤の登場により大きく変化した。しかし、生存期間中央値が2年から4年に改善したものの、依然として予後不良である。したがって、転移性腎癌に対する新しいマーカーや治療ターゲットを探索することは切実といえる。

代表者である方山は、腎癌の基礎研究を行い、long non-coding RNA である HOTAIR が、IGFBP2 (Insulin Growth Factor Binding Protein 2) を介して腎癌悪性化に関与することを証明した。本共同研究では、IGFBP2 がどのような機序で腎癌悪性化に関わるのかを解明し、腎癌の新たな治療標的や、早期診断につながるバイオマーカーの探索を目的とする。

以下、研究活動状況の概要を記す。

先行論文のデータをもとに、HOTAIR 過剰発現で誘導される蛋白質として、IGFBP2 および CPVL に着目し、IGFBP2-Flag、CPVL-Flag 細胞樹立免疫沈降法を用いた実験 (Figure 1)、およびプロテオーム解析を行い、電気泳動で得られたバンドを切り出しして IGFBP2 および CPVL に結合する蛋白質の解析を日本プロテオミクス社に依頼して質量分析を行った。

バンドを切り出しして IGFBP2 および CPVL に結合する蛋白質の解析を日本プロテオミクス社に依頼して質量分析を行った。また、IGFBP2 の発現について、当院で生検または手術で摘出した組織で確認するべく、東北大学病院倫理委員会に申請し、承認を得た。

(受付番号 2020-1-1177, ヒトを対象とした医学系の研究申請: IGFBP2 プロテオーム解析による腎癌新規バイオマーカーの探索)

研究打ち合わせ等の開催状況

2022/8/3 研究内容 (CMF1 と IGFBP2 との結合部位) についてのミーティング

2022/12/2 研究の進捗について、ミーティング

2023/1/19 必要物品の経費、研究内容についてのミーティング

2023/2/13 17:30 研究方向性についてミーティング

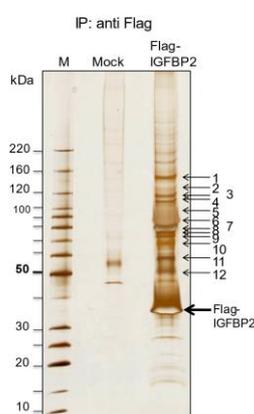


Figure 1 : IGFBP2 過剰発現細胞を用いた、IGFBP2 と結合する蛋白質の質量分析結果

[3] 成果

(3-1) 研究成果

以下に示す研究成果を得た。

質量分析の結果から、特定の蛋白質 CMF1 (Cancer Malignancy Factor1)、IGFBP2 と特異的に結合していた。

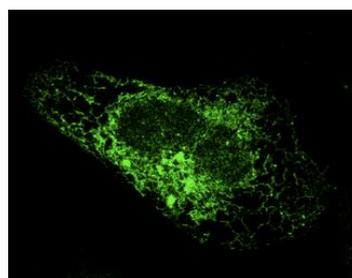


Figure 2. GFP-IGFBP2 が分泌蛋白特有な分布を示す

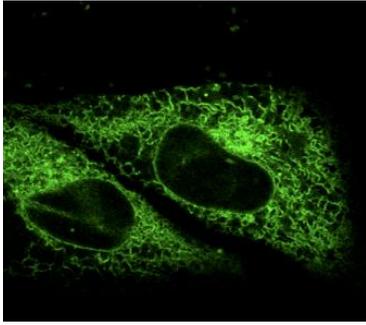


Figure 3. GFP-CMF1 も IGFBP2 と同様な分布

Fig2 および Fig3 で示す通り、GFP による蛍光顕微鏡による観察では、IGFBP2 と CMF1 はともに分泌蛋白特有な分布を示すことから、IGFBP2 は CMF1 と結合し、腎癌悪性化機序に関与するという仮説に矛盾しない結果となった。

HOTAIR-IGFBP2 の経路の先行研究では、HOTAIR を過剰発現させると、増殖能は変化ないが、遊走能が亢進することが示されていた。CMF1 も他の癌種において、同様な傾向をしめしており、IGFBP2 と CMF1 が相互作用を示すことが証明できれば、新たな腎癌の悪性化機序を証明することになる。

(3-2) 波及効果と発展性など

今後は IGFBP2 と CMF1 の結合部位や、結合した場合の作用機序に関する研究を行い、新たな治療対象となるか調査する。並行して、エクソソーム解析により、腎癌患者における IGFBP2 のエクソソーム内発現が、予後に関与するのではないかという仮説を証明すべく、エクソソームの研究も行う。

臨床検体で IGFBP2 および CMF1 の発現を採血、尿中、組織から検出し、予後や病期との相関を調査する。

また、IGFBP2 および HOTAIR は細胞老化に関連する報告があり、その相関について老化処理を行った細胞を用いて調査を行う予定である。

[4] 成果資料

現時点では、まだ成果はありません。