

報道関係各位

2021年6月29日

国立大学法人 東京医科歯科大学

「神経芽腫におけるマイクロRNAを用いた新規治療戦略の可能性」

【ポイント】

- 核酸抗癌薬の候補であるマイクロRNA^{※1} *miR-3140-3p* の神経芽腫細胞に対する抗腫瘍効果を確認しました。
- *MYCN* 増幅神経芽腫細胞において、ERK 経路^{※2} 活性化により *MYCN* タンパクが安定化し、BET 阻害剤に対して耐性となることを見出しました。
- *miR-3140-3p* は *BRD4* の抑制による転写レベルの *MYCN* の抑制に加えて、MAP3K3-ERK 経路の抑制による *MYCN* タンパクの安定性を阻害することで、BET 阻害剤耐性を克服することがわかりました。
- 上記マイクロRNAの投与による、新規核酸抗がん薬開発への応用が期待できます。

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・分子細胞遺伝分野の玄泰行助教、劉暢大学院生、稲澤譲治教授らの研究グループは、神経芽腫細胞に対して核酸抗癌薬のシーズである *miR-3140-3p* が抗腫瘍効果を発揮し、特に *MYCN* 増幅神経芽腫細胞において BET 阻害剤耐性を克服する可能性があることを見出しました。この研究は文部科学省科学研究費補助金（18H02688, 19K07709）などの支援のもと遂行され、その研究成果は、米国遺伝子細胞治療学会（American Society of Gene & Cell Therapy: ACGCT）の機関誌の一つである国際科学誌 *Molecular Therapy-Nucleic Acids*（モレキュラー セラピー ニクレイック アシッド）に、2021年6月25日にオンライン版で発表されました。

【研究の背景】

神経芽腫は小児の固形腫瘍の中で脳腫瘍に次いで頻度が高い病気です。特に国際神経芽腫リスク分類（INRG リスク分類）において、高リスク群は一般的に化学療法抵抗性で予後不良です。*MYCN* 癌遺伝子は、高リスク群神経芽腫の約半数で遺伝子増幅し、神経芽腫細胞の増殖に決定的な役割を果たしていることが知られています。近年、スーパーエンハンサー^{※3} を介して *MYCN* 遺伝子の転写を促進するプロモドメインタンパク質 *BRD4* を標的とするBET阻害剤（BETi）の開発が進み、神経芽腫に対しても *MYCN* を抑制することで有効性が期待され、臨床試験が行われていますが、薬剤耐性の獲得が懸念されています。そのような背景のなか、研究グループは次世代型の医薬品として核酸抗癌薬の開発に着目してきました。核酸の一種であるマイクロ

RNA(miRNA)は、20-25 塩基程度の内在性のノンコーディング RNA であり、複数の標的遺伝子の発現を抑制する働きがあり、核酸抗がん薬のシーズとして注目されています。研究グループはこれまでに *miR-3140-3p* が様々な癌腫において BRD4 を抑制することで抗腫瘍効果を発揮し、核酸抗癌薬の有望なシーズであることを報告してきました (Sci. Rep. 8, 4482.(2018), Mol. Ther. 28, 1494-1505. (2020))。

【研究成果の概要】

研究グループは、まず *miR-3140-3p* と BETi の神経芽腫に対する抗腫瘍効果を *in vitro* で比較しました。その結果、BETi では一部の *MYCN* 増幅神経芽腫細胞において治療抵抗性が認められましたが、*miR-3140-3p* はすべての *MYCN* 増幅神経芽腫細胞に対して細胞の増殖を抑えました。次に BETi に感受性がある *MYCN* 増幅神経芽腫細胞にその薬剤耐性を獲得させた細胞を樹立し、BETi 耐性化の機序について検討しました (図1A, B)。BETi 耐性細胞では、ERK 経路が活性化し、その結果、*MYCN* タンパクの S62 のリン酸化が亢進してユビキチンプロテアソーム系^{※4}による *MYCN* タンパクの分解が阻害されていることがわかりました (図1C-E)。つまり BETi 耐性細胞では BETi により転写レベルでの *MYCN* の発現を抑制しても *MYCN* タンパクは分解されずに残っているため、BETi の抗腫瘍効果効果が弱くなっていると考えられました。一方、*miR-3140-3p* は MAP3K3 を直接標的とすることで ERK 経路を抑制することから、BETi 耐性細胞に対しても、BRD4 の抑制を介した転写レベルでの *MYCN* 抑制に加え、MAP3K3-ERK 経路の抑制を介した *MYCN* タンパクの安定性阻害により、効率的に *MYCN* を抑制していることが明らかとなりました (図1F)。

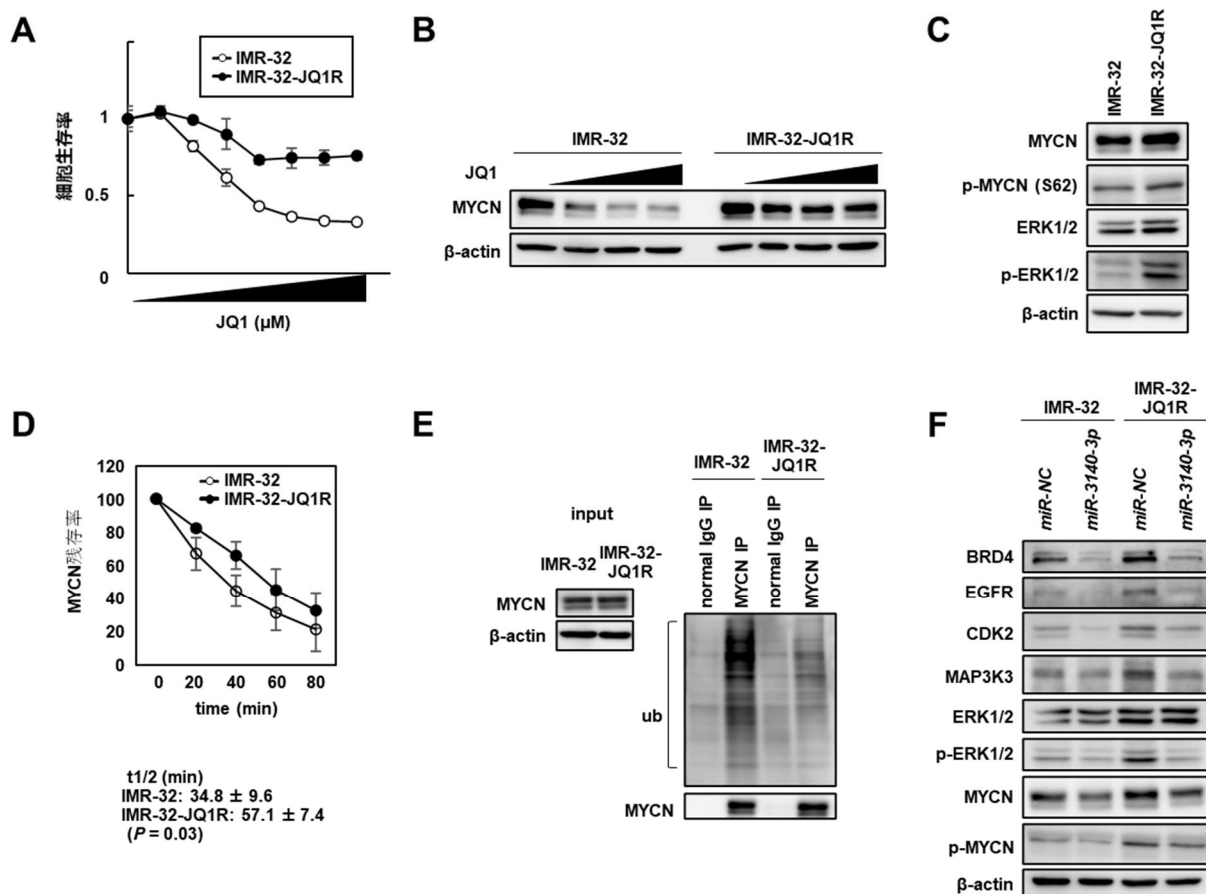


図 1. BET 阻害剤(BETi)耐性の機序と BET 阻害剤耐性神経芽腫細胞に対する *miR-3140-3p* の効果
 (A) BETi(JQ1)耐性細胞の樹立。BETi 耐性細胞(IMR-32-JQ1R)は JQ1 の濃度を上げて細胞増殖抑制効果が弱くなっている。(B) BETi 耐性細胞では JQ1 による MYCN の抑制効果が弱くなっている。(C) BETi 耐性細胞では ERK1/2 の活性化及びリン酸化 MYCN の亢進を認めた。(D、E) BETi 耐性細胞では MYCN タンパクの半減期が延長し(D)、ユビキチン化された MYCN は減少していた(E)。(F) *miR-3140-3p* は BETi 耐性細胞において MAP3K3-ERK 経路を抑制し、MYCN の発現を抑制した。

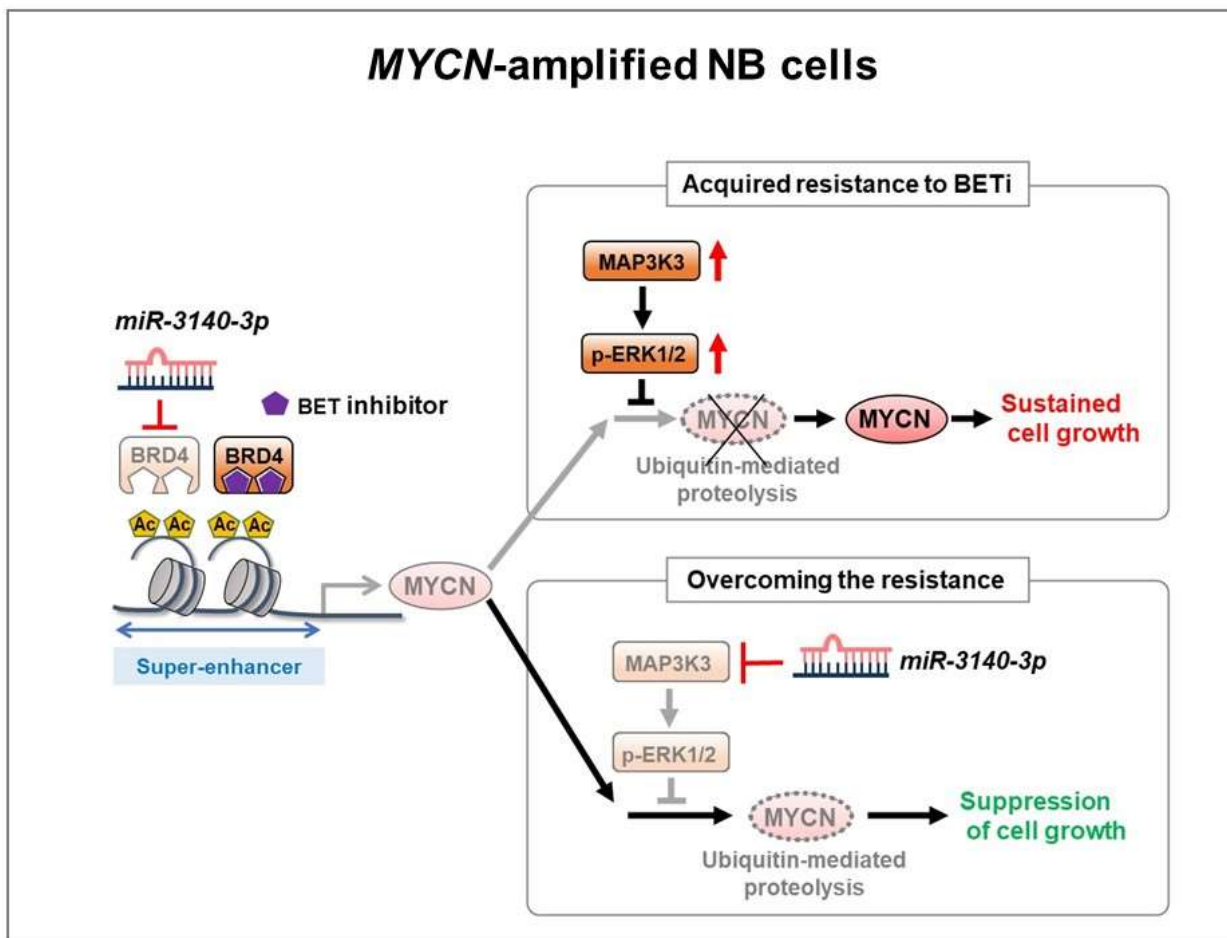


図 2. 本研究のまとめ図。

【研究成果の意義】

本研究では、神経芽腫細胞における BETi 耐性の機序を明らかにするとともに、核酸抗癌薬の候補である *miR-3140-3p* を用いた神経芽腫細胞に対する新しい治療戦略の可能性を示しました。*miR-3140-3p* は BRD4 と MAP3K3-ERK 経路を抑制することで、転写レベルおよびタンパクの安定性のレベルにおいて MYCN を抑制し、BETi に対して抵抗性を持つ神経芽腫細胞においても抗腫瘍効果を発揮することを明らかにしました(図2)。*miR-3140-3p* を用いた核酸治療(核酸抗がん薬)は MYCN 増幅神経芽腫細胞に対する新たな治療戦略となる可能性があります。

【用語解説】

※1 マイクロ RNA (microRNA : miRNA) は、標的遺伝子の転写産物(mRNA)に直接結合することで、遺伝子発現を抑制する約 22 塩基からなるノンコーディング RNA です。ヒトでは 2,500 種類以上のマイクロ RNA が存在しており、中でも、がん抑制型マイクロ RNA は、核酸抗がん薬の開発における創薬シーズとして期待されています。

※2 ERK 経路は様々な成長因子やサイトカインの刺激を受けて細胞の増殖を促進するシグナル経路で、癌においてしばしば活性化していることが知られています。

※3 多くの癌細胞ではスーパーエンハンサーと呼ばれる遺伝子の転写を大きく促進する調節機構が MYC や MYCN を含む様々な癌遺伝子の領域に存在していることが知られています。近年、スーパーエンハンサーに結合して癌遺伝子の転写を促進する BRD4 を標的とする BETi が開発されつつあります。

※4 ユビキチンプロテアソーム系はユビキチンと呼ばれるタンパク質が標的タンパク質に付加されるとプロテアソームと呼ばれるタンパク質の分解装置によって分解されるシステム。細胞の中の様々なタンパク質は合成されては分解されることが繰り返されています。

【論文情報】

掲載誌: Molecular Therapy–Nucleic Acids

論文タイトル: Concurrent targeting of MAP3K3 and BRD4 by *miR-3140-3p* overcomes acquired resistance to BET inhibitors in neuroblastoma cells

【研究者プロフィール】

劉 暢(リュウ チョウ) Chang Liu

東京医科歯科大学 難治疾患研究所

分子細胞遺伝分野 大学院生

・研究領域

腫瘍生物学



玄 泰行(ゲン ヤスユキ) Yasuyuki Gen

東京医科歯科大学 難治疾患研究所

分子細胞遺伝分野 助教

・研究領域

腫瘍生物学



稲澤 譲治(イナザワ ジョウジ) Johji Inazawa

東京医科歯科大学 難治疾患研究所

分子細胞遺伝分野 教授

・研究領域

人類遺伝学、分子腫瘍学、ゲノム医科学



【問い合わせ先】

<研究に関すること>

東京医科歯科大学難治疾患研究所

分子細胞遺伝分野 氏名 稲澤 譲治 (イナザワ ジョウジ)

氏名 玄 泰行 (ゲン ヤスユキ)

TEL:03-5803-5820 FAX:03-5803-0244

E-mail:johinaz.cgen@mri.tmd.ac.jp

<報道に関すること>

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

TEL:03-5803-5833 FAX:03-5803-0272

E-mail:kouhou.adm@tmd.ac.jp