

論 文 要 旨

Potential tumor-suppressive role of microRNA-99a-3p in sunitinib-resistant renal cell carcinoma cells through the regulation of *RRM2*

〔 スニチニブ耐性腎細胞癌における *RRM2* の制御を介した
microRNA-99a-3p の腫瘍抑制効果の可能性 〕

大迫 洋一

【序論及び目的】

1980年代から開始されたサイトカイン療法にとってかわり、2000年代には血管新生阻害剤に代表されるさまざまな分子標的治療薬の出現によって進行性腎癌の薬物療法の治療戦略は大きく変化した。これらの中で、スニチニブは VEGF 受容体チロシンキナーゼ活性を阻害することで血管新生抑制作用を有し進行性腎癌に対する治療薬として広く普及している。その後、抗 PD-1 抗体を始めとする免疫チェックポイント阻害剤の登場により、臨床試験においてさらなる治療成果が報告されている。しかし免疫チェックポイント阻害剤は重篤な副作用、医療コストなど克服すべき課題も多く、スニチニブを始めとした分子標的治療の重要性は今後も続くと考えられる。臨床的課題としてこのスニチニブ耐性克服が挙げられ、その機序や新規治療戦略の解明が重要と考える。

我々は、以前より泌尿器癌における癌抑制型マイクロ RNA の制御する分子ネットワークの探索を継続してきた。本研究では過去の報告からスニチニブ耐性腎癌で発現が低下しているマイクロ RNA の中で *miR-99a-3p* を選択し、これがスニチニブ耐性腎癌における癌抑制型 miRNA であると仮説を立て、その機能解析と標的分子ネットワークの探索をおこなった。

【材料及び方法】

当科で *in vivo* で樹立したスニチニブ耐性 786-o 腎細胞癌細胞株 (SU-R-786-o) に *miR-99a-3p* を核酸導入し、細胞の増殖・細胞死誘導について機能解析を施行した。SU-R-786-o を用いた RNA シークエンス発現解析と *in silico* 解析により、標的遺伝子群の探索を行った。miRNA と標的遺伝子の結合はルシフェラーゼアッセイにて証明した。The Cancer Genome Atlas (TCGA) database を用いて *miR-99a-3p* やその標的遺伝子の発現を解析した。標的遺伝子としてあげられた *Ribonucleotide reductase regulatory subunit M2 (RRM2)* の阻害剤 Didox を用いて機能解析を施行した。

【結 果】

miR-99a-3p は親細胞と比べ SU-R-786-o において発現抑制が認められた。*miR-99a-3p* を SU-R-786-o に核酸導入する事で、癌細胞の増殖が有意に抑制され、アポトーシスが誘導された。*miR-99a-3p* が制御する分子として、DNA の重合および修復に必要なデオキシヌクレオチドの合成に関与する *RRM2* が挙げられた。*RRM2* は SU-R-786-o で発現が亢進しており、siRNA を用いた機能解析

から、SU-R-786-oにおいてアポトーシスを介した増殖能の抑制を認めた。また腎癌患者において *RRM2* の高発現群は予後不良因子である事が示された。

【結論及び考察】

miR-99a-3p はその標的遺伝子である *RRM2* の制御を介してスニチニブ耐性腎細胞癌において癌抑制的作用を有することが示唆された。*miR-99a-3p* の機能解析を通してスニチニブ耐性腎細胞癌の新規分子ネットワークの一端が明らかとなった。

(INTERNATIONAL JOURNAL OF ONCOLOGY 54: 1759-1770, 2019 掲載)