

## 研究題目 尿路上皮癌・多段階進展機構における DDX31 の機能解析

## 研究組織

氏名	所属機関・部局等	職名	役割分担
金山博臣	徳島大学大学院医歯薬学研究部 泌尿器科学分野	教授	研究総括
高橋正幸	徳島大学大学院医歯薬学研究部 泌尿器科学分野	准教授	統計解析
布川朋也	徳島大学大学院医歯薬学研究部 泌尿器科学分野	講師	遺伝子変異解析
大豆本圭	徳島大学病院 泌尿器科	助教	動物実験
福原弥生	徳島大学大学院医歯薬学研究部 泌尿器科学分野	学術研究員	生化学的実験

## 【1】研究の概要

## [1-1] 本研究の目的・概要

尿路上皮癌多段階進展機構で DDX31/p53 変異シグナルが重要であることが先行研究で示唆されている。本研究では DDX31 が尿路上皮癌の多段階進展の関与においてどのように関与するかを遺伝子改変マウスで解析することが目的である。

## [1-2] 研究の方法・経過

DDX31 ノックアウトマウスによる DDX31 機能解析

尿路上皮癌では DDX31 の発現亢進が重要であるが、まずは DDX31 のノックアウトマウスにおけるフェノタイプ解析及び各臓器の病理評価を行う方針として研究を進めた。2020 年度は竹本教授との共同研究で DDX31 ノックアウトマウスの凍結胚の作製に成功し、現在フェノタイプの解析を行っている。

また予備検討として尿路上皮癌誘発する BBN 飲水投与モデルを用いることで C57BL/6 マウスの膀胱の RNA を抽出し DDX31 発現の変化を評価し、経時的に DDX31 RNA 発現が上昇する可能性が示唆された。

## 【2】研究成果

## [2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

尿路上皮癌多段階進展機構は BBN 飲水投与を用いた膀胱癌発癌モデルでは TP53 変異が関連し、Carcinoma in situ を通じて筋層浸潤性膀胱癌となることが報告されている (Nature Cell Biology volume 16, pages 982-991 (2014))。ヒト膀胱癌でも網羅的な次世代シーケンス解析結果により同様の TP53 変異機構が報告されている。しかしながら、TP53 変異のみでは発癌・進展が起こるわけではなく、TP53 変異をもとにさらなる変異の蓄積や遺伝子発現変化がおこり様々なタイプの癌進展が起こると推察されているが詳細はわかっていない。そこで我々が先行研究で着目した Dead box polypeptide 31 (DDX31) の機能解析から尿路上皮癌多段階進展機構において TP53 のミスセンス変異と DDX31 の高発現が非常に重要なことを発見した (Daizumoto K et al Cancer Res. 2018 May 1;78(9):2233-2247.)。この先行研究では p53 変異タンパク質による Gain of function 機構に DDX31 が非常に重要な Key Factor となっていることを示している。DDX31 は変異型 p53 と Sp1 transcription factor (SP1) と複合体を形成し、この複合体形成が遊走能および浸潤能の亢進に関連する Erythrocyte Membrane Protein Band 4.1 Like 4B (EPB41L4B) の転写亢進を誘導することを証明している。しかしながら TP53 変異及び DDX31 発現についてどのように変化し発現及び進展に関与してい

るかはこれまでに研究されていない。2020年度は竹本教授との共同研究でDDX31 ノックアウトマウスの凍結胚の作製に成功し、現在フェノタイプの解析を行っている。

[2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

腫瘍の発生・進展には複数の遺伝子における異常が複雑に関連していることが示唆されている。しかしながら、癌における個々の遺伝子異常についての理解は深まっているものの、複雑な分子機構の解明には至っていない。癌の発症および進展に対する理解を深めるためには、このような少数の遺伝子でなく、ゲノムワイドな遺伝子および分子の働きの変化を捉える必要がある。本研究では、遺伝子改変マウスを用いることにより、この複雑に絡み合った複数の分子の働きを時間的変化で把握し、新たな治療ターゲットやバイオマーカーの発見を目指しており、共同利用が必須であり、有益な解析結果から早期の臨床応用が期待できる。

### 【3】主な発表論文等

遺伝子改変マウスの作成に及び評価に時間を要しており、現状では報告を行っていない。

[3-1]論文発表

なし

[3-2]学会発表

なし

[3-3]成果資料等

なし

### 【4】今後の課題等

今後下記の計画で研究を予定している。

①DDX31 ノックアウトマウスにおける癌進展抑制についての検討

DDX31 の機能は rRNA 生合成に関わっていることや腎細胞癌、グリオブラストーマに関与していることが報告されているが不明な点が多い。尿路上皮癌では DDX31 の発現亢進が重要であるが、2020年度作製した DDX31 のノックアウトマウスにおけるフェノタイプ解析及び各臓器の病理評価を行う。次に BBN 飲水を施行し、*TP53* の変異が起きるかどうかが癌進展が抑制されるかどうかを調べる。さらに *TP53* ミスセンス変異+DDX31 ノックアウトマウスを作製し、発癌進展がおこるかどうかが検討する。

②DDX31 ノックインマウスにおける癌進展促進

についての検討

DDX31 ノックインマウスで BBN 飲水を同様に施行し、*TP53* の変異が起きるかどうかが癌進展が抑制されるかどうかを調べる。さらに *TP53* ミスセンス変異+DDX31 ノックインマウスを作製し、発癌進展が早期から急激に悪化するかどうかを証明する。