

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： 「がんエピゲノム異常を標的とした治療・診断法の開発」
(がん細胞の動的・静的エピゲノム異常の解明とその制御)
2. 研究開発代表者： 近藤 豊 (公立大学法人 名古屋市立大学 大学院医学研究科)
3. 研究開発の成果

がん細胞のエピゲノム制御機構はがん細胞の可塑性の獲得に寄与しており、多彩に変化するがん細胞を根絶するためには、エピゲノム異常を標的とした治療薬の開発が望まれる。さらにがんの有効な治療戦略の実現のためには、早期に診断が可能な診断バイオマーカーの開発が不可欠である。本研究ではがんエピゲノム異常の基礎的研究から得られた知見をもとに、がんの新規診断法・治療法を開発し、製薬企業等への導出や共同研究を介して医療現場での応用を目指す。

1.がん関連 DNA メチル化マーカーによる高精度革新的がん診断法の確立。

肺がんの原発巣で特異的かつ高頻度に DNA メチル化している遺伝子について網羅的解析を行ない、DNA メチル化マーカーを同定した(「肺癌の検査方法」特願 2014-055322)。この DNA メチル化マーカーパネルを用いてバイサルファイト PCR 法で検証した結果、肺組織では感度 90%、特異度 100%、血液検体では感度 85%、特異度 40%であった。従って血液中の DNA が微量な場合、従来のメチル化アッセイでは検出できない可能性が高く、より鋭敏な検出法の開発が必要であると考えた。

次に膵臓がん診断のために DNA メチル化マーカーパネルを構築した。この DNA メチル化マーカーパネルを用いてバイサルファイト PCR 法で検証した結果、膵臓がん組織では感度 93%、特異度 100%で診断可能であった(「膵臓癌の検出のための方法及びキット」特願 2015-224268)。

新規高感度 DNA メチル化検出法として、メチル化した DNA を遺伝子配列特異的に認識するプローブを用いたメチル化解析技術を開発した。検出系として高感度のデジタル PCR 法を用いた検出法を試み、メチル化した DNA と非メチル化 DNA を正確に検出できることを確認した。これらの基本解析技術の反応条件を変化させることで、より安定的にかつ微量な血液中の DNA メチル化が検出できると考え、条件設定の検討を行った。本高感度検出系が確立できれば臨床への応用が可能となると考える。

2.がん細胞の可塑性に関わる PRC2 制御パスウェイの解明と小分子化合物による人為的制御法の確立。

EZH2/PRC2 の活性を阻害する true hit 化合物を同定した(N47)。化合物 N47 (5 μ M) はヒストン H3K27 メチル化レベルを低下させた。ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤との併用で顕著に H3K27 メチル化標的遺伝子を再活性化させ、スクリーニング系と合致する所見が得られた。また N47 (5 μ M) の暴露によりがん細胞の増殖抑制効果を持つことを見出した。

さらに脳がん幹細胞で高発現している長鎖非翻訳 RNA (lincA) を同定した。lincA は EZH2 と結合し、EZH2 の遺伝子特異的リクルートに関与することを見出した。lincA を RNA 干渉法で阻害すると、効率的に脳がん幹細胞をアポトーシスに誘導し、脳がん幹細胞移植モデルでも腫瘍増殖が抑制された。lincA の阻害核酸を「抗腫瘍剤」として出願した(特願 2015-24713、PCT 出願中)。次に lincA に対するアンチセンスオリゴ (ASO) を本プログラム創薬基盤融合技術育成領域の DDS 技術研究分野(片岡一則教授)の支援で、DDS との組み合わせで抗腫瘍効果を示す核酸医薬 (lincA-ASO-DDS) の開発を行った。ヒト脳がん幹細胞を移植したマウスモデルを用いて lincA-ASO-DDS を経静脈的に投与した結果、脳腫瘍への効率的・特異的な送達と、著明な抗腫瘍効果を認めため、知財を確保した(「抗腫瘍性ドラッグデリバリー製剤」特願 2015-226895)。本研究成果は現在有効な治療薬に限られた膠芽腫への治療法につながると考え導出活動を行い、企業と具体的な導出契約について打ち合わせ中である。