

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」(テロメア・マイクロ RNA によるがんのリスク診断とマイクロ RNA によるエピゲノム調節治療法の開発)
2. 研究開発代表者： 国立大学法人広島大学大学院医歯薬保健学研究院細胞分子生物学 教授 田原栄俊
3. 研究開発の成果：

①テロメアを標的にした新規抗がん剤のスクリーニングの実施と候補化合物の評価

研究代表者らは、転写因子の DNA 結合能について多検体処理できる DSE-FRET 法を開発した。この方法を用いて、TRF2 のテロメア DNA への結合活性を抑制する阻害剤を、約 3 万種の化合物ライブラリーからスクリーニングした。さらに、その DNA 結合活性を抑制した化合物の構造を基に、新たなリード化合物群を合成し、TRF2 の DNA 結合能を阻害する 2 種の化合物を同定した。この得られた 2 種の化合物のその DNA 結合阻害活性については、ゲルシフト、免疫染色、ChIP 法を用いて確認した。またこれらの 2 種の化合物は、膵がん細胞の増殖を抑制する知見を見いだした。

②NF- κ B を標的にした新規抗がん剤のスクリーニング系の実施と候補化合物の評価

研究代表者らは、NF- κ B を構成する RelA および p52 を用いた DSE-FRET 法も開発した。この方法を用いて、大規模な化合物ライブラリーの中から NF- κ B の DNA 結合活性阻害剤をスクリーニングした。その結果、NF- κ B の DNA 結合活性阻害剤として 5 種のヒット化合物が得られた。これらのヒット化合物の NF- κ B の DNA 結合活性阻害については、ゲルシフトアッセイおよび NF- κ B の応答配列を用いたルシフェラーゼアッセイによって検証した。True hit 化合物として、RelA および p52 の阻害剤をそれぞれ 1 種ずつ得ることに成功した。さらに、RelA 阻害剤の化合物 Z は、がん細胞に対する TNF- α 感受性を向上させて致死性を示したことから、代表者は、抗がん剤として期待できる基本構造を有する化合物として単離することができた。

③転写因子を標的にした新規標的分子の検索と新規 DSE-FRET スクリーニング系の構築

研究代表者らは、がん細胞の増殖に関与する特異的因子を同定し、そして新規 DSE-FRET 法を構築するために、網羅的な転写因子群を対象にした siRNA ライブラリーを用いたノックダウンスクリーニングを行った。その結果、特異的ながん細胞の増殖に寄与する 3 種の転写因子を見出し、新しい分子標的として期待できる。

④核酸医薬品による抗がん剤開発を目的とした新規標的候補分子の探索と解析

研究代表者らは、老化誘導型 miRNA の標的遺伝子群の中から PRPF19 を同定し、核酸医薬品として有望な分子標的遺伝子であると考えた。膵がん細胞を皮下および同所移植したゼノグラフトモデルマウスにおいて、PRPF19 を標的とした siRNA の抗腫瘍効果を検証した。PRPF19-siRNA は、局所投与用の DDS を用いて投与した場合、腫瘍抑制効果が見られた。一方で、PRPF19-siRNA は、全身投与型の DDS である次世代がん支援班のナノ DDS を用いて投与した場合、顕著な腫瘍抑制効果が見られた。また、代表者は、PRPF19-siRNA のがん癌特異的な増殖抑制メカニズムとして、がん細胞特異的なスプライシング異常が寄与していることを明らかにした。以上、PRPF19 siRNA は、拡散医薬として有望な抗腫瘍薬であることが明らかになった。

⑤頭頸部がんの患者におけるテロメア長、Gテール長、マイクロ RNA の測定

研究代表者らは、次世代シーケンサーおよび G-tail Telomere HPA 法により、頭頸部癌患者の検体における、マイクロ RNA の発現プロファイル、ならびにテロメア長および G テール長を解析した。代表者は、頭頸部癌患者のゲノム DNA において、顕著なテロメア G テール長の短縮が見られることを見出した。また、頭頸部がんの早期発見に有用な 6 種のマイクロ RNA を同定した。

⑥すい臓がんを早期診断できるバイオマーカーの探索と同定

研究代表者らは、すい臓癌のバイオマーカーを同定し、前向き研究として約 1000 人の検体で発現するマイクロ RNA の発現解析を行い、すい臓癌特異的なマイクロ RNA を見出し、バイオマーカーとして有用であることを確認した。