

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」

(がん細胞におけるマイクロ RNA 異常メカニズムの統合解析と診断・治療への応用)

2. 研究開発代表者：鈴木 拓 (北海道公立大学法人札幌医科大学医学部分子生物学講座)

3. 研究開発の成果

以下の研究を行うことで、がんにおけるエピゲノム異常・マイクロ RNA 異常を解析し、診断バイオマーカー候補となる分子を同定した。

(1) がんにおけるエピゲノム・マイクロ RNA の網羅的解析

消化管がんの前がん病変、がん組織、正常組織などを対象にマイクロアレイ解析を行った結果、前がん病変およびがん組織において DNA メチル化レベルが上昇している遺伝子を、マーカー候補として 11 個同定した。

慢性肝炎、肝がん、正常組織を対象にマイクロアレイ解析を行った結果、マイクロ RNA 発現プロファイルと肝がん発生リスクとの間に相関を認めた。マイクロ RNA 発現プロファイルを階層クラスタリング解析した結果、正常肝、慢性肝炎 (肝がん発症なし)、慢性肝炎 (肝がん発症あり)、肝がんの順に発現プロファイルが変化することが明らかとなった。このことから、マイクロ RNA 発現プロファイルが肝がん発症リスクと相関することが示された。肝がんおよび慢性肝炎 (肝がん発症あり) において大きく発現変動するマイクロ RNA 6 種類を、肝がんリスク予測マーカー候補として同定した。

膀胱がん、正常組織および尿検体を対象にマイクロアレイ解析を行った結果、膀胱がんにおいて DNA メチル化が亢進しているマーカー候補遺伝子を 4 個同定した。

(2) エピゲノムおよびマイクロ RNA を応用したバイオマーカー開発

消化管がんの前がん病変、がん組織、正常組織 (合計 500 症例) を対象に、同定した 11 遺伝子の DNA メチル化を、バイサルファイトパイロシーケンス法により解析した。その結果、前がん病変およびがん組織において特に高頻度にメチル化している 3 遺伝子を同定した。これらは正常組織および良性の過形成ではメチル化が低レベルであることから、消化管がんのリスク予測および早期診断マーカーとして有用と考えられた。

慢性肝炎、肝がん、正常組織 (合計 50 症例) を対象に、同定した 6 個のマイクロ RNA 発現を TaqMan 法により解析した。その結果、いずれのマイクロ RNA も慢性肝炎および肝がんにおいて発現が変化しており、かつ発現変化が発がんリスクと相関することを見いだした。従って、これらのマイクロ RNA は肝がんリスク予測マーカーとして有用と考えられた。

膀胱がん患者の自排尿から抽出した DNA を対象に、同定した 4 遺伝子の DNA メチル化をバイサルファイトパイロシーケンス法により解析した。その結果、術前の尿中より膀胱がん由来の DNA メチル化を検出できることを確認した。また膀胱がん切除後に、尿中 DNA メチル化レベルが顕著に低下した。さらに治療後の外来通院時における尿検体を採取することで、膀胱がん再発診断マーカーとしての有用性を前向きに検証した。その結果、膀胱がん再発症例の尿から、これらの遺伝子の DNA メチル化が再び検出された。このことから、4 遺伝子は膀胱がん再発診断マーカーとして有用と考えられた。