

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： 大腸癌層別化による発がん分子基盤の解明と配列特異的標的治療薬開発への応用
2. 研究開発代表者： 金田篤志 (千葉大学大学院医学研究院)
3. 研究開発の成果

本研究は網羅的解析による層別化に基づいて大腸がんの本態解明を行い、各症例群の治療・早期発見のためのイノベーティブな標的の探索、及びリード化合物開発などその成果の医療応用推進を目的とする。大腸癌層別化の業務では、網羅的解析による層別化に基づいて大腸がんの本態解明を行い、各症例群の治療・早期発見のためのイノベーティブな標的を探索する。小分子化合物開発の業務では、創薬候補としての配列特異的小分子化合物の開発を行う。

大腸癌層別化の成果として、195 症例の早期病変（側方進展型腫瘍 125 症例、鋸歯状腺腫 70 症例）のうち十分な量の DNA が採取できた 167 例の DNA メチル化解析、および、進行大腸癌 17 例も加えた 184 例のうち 142 例についてエクソン変異解析を、昨年度までに行いデータ取得しており、本年度はそれらの詳細な層別化解析や検証解析を行った。鋸歯状腺腫は、TSA が中メチル化群を呈しむしろ *KRAS* 変異(+)を示すのに対し、SSA/P は高メチル化群を呈し *BRAF* 変異(+)と強く相関し高メチル化大腸癌の前癌病変と考えられた。鋸歯状経路で SSA/P から高メチル化大腸癌へと癌化する段階でメチル化頻度が大きく上昇する *MLH1* 遺伝子は、癌で遺伝子変異を獲得する重要な要因と考えられた。遺伝子変異の頻度は癌で大きく上昇し、ミスマッチ修復遺伝子や、PI3K, WNT, TGF- β などの知られたシグナル経路の変異、また新規として BMP シグナルの変異が有意に関与していた。鋸歯状経路発癌では *TP53* 変異が関与しないのに対し、LST からの de novo 発癌では *TP53* 変異が有意に関与していた。LST は中メチル化群および *KRAS* 変異(+)を示す顆粒状 LST (LST-G) と、低メチル化群および *KRAS* 変異(-)を示す無顆粒状 LST (LST-NG) に大別されるが、LST-G では *TP53* 変異が sm 癌から認められるのに対し、LST-NG ではより早期に m 癌のうちから *TP53* 変異を認めた。

これら大腸癌の各発癌経路で認められる重要な遺伝子変異は、配列特異的に DNA に結合する小分子ピロールイミダゾールポリアミド(PIP)を応用した新規化合物を開発するための有用な候補と考えられた。昨年度は *KRAS* 変異に対し特異的に結合する PIP にアルキル化剤を付加した KR12 の安全性と抗腫瘍効果を報告した。本年度は、次世代がんプロジェクトの援助も受け KR12 の結合部位と投与後の発現変化の網羅的解析から、化合物が標的遺伝子以外のオフ・ターゲットを介して抗腫瘍効果を発揮する分子機構を解明するとともに、*KRAS* 以外の EGFR のシグナル伝達経路遺伝子に対して、特異的に結合する PIP を作成し同様にアルキル化剤を付加し、細胞株で抗増殖効果を確認した。また、DNA 異常メチル化に対してもそれを阻害する小分子化合物の合成およびその効果を検証した。

診断への応用では、どの大腸癌サブタイプでも共通してメチル化が認められる遺伝子を利用し、血漿中の癌由来 DNA のメチル化を同定して大腸癌存在診断をするマーカーを昨年度報告したが、より簡便に、血清を利用した診断法について検討している。