

システムがんNewsletter No. 5

2012年7月

システムの統合理解に基づくがんの先端的診断、治療、予防法の開発

文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究 (複合領域: 4201)

研究の紹介

がんの統合的ゲノム・エピゲノム解析と治療標的分子シーズの探索

稲澤 譲治 (研究代表者)

東京医科歯科大学難治疾患研究所分子細胞遺伝学分野 教授



日本の高齢化は急速に進んでいます。総務省の発表では、2011年10月時点で日本の人口はおよそ1億2800万人であり、そのうち65歳以上の高齢者の割合は23.3%とのことです。ほぼ4人に1人は65才以上です。この数字は世界の中でもドイツ(20.6%)やイタリア(20.3%)を引き離しトップとなっています。がんは生活習慣病の一つであり年齢とともに発症頻度は高くなります。日本人であればその生涯において2人に1人ががんにかかり、男性であれば3人に1人はがんで人生の幕を閉じる時代になっています。がんはまさしく国民病ともいえる病気です。このような傾向は欧米の先進国のみならず新興国においても同じ傾向をたどっており、人間が健康で豊かな生涯を過ごすために「がん克服」は日本人のみならず世界の人々にとって解決すべき重要なテーマとなっています。なぜがんが起きるのかという原因を明らかにすることや、その理解に基づいた画期的ながん治療法や予防法の開発、さらにがんの性質を見極めるための診断技術の応用などに大きな期待が寄せられています。

私たちの体にがん細胞が出現したとしても、通常は免疫などの監視機構が働きこれを排除してくれます。しかし、この監視の目をすり抜けてしまったがん細胞に、

急速な増殖、浸潤や転移、さらに、抗がん剤への抵抗性(薬剤耐性)など、がんの特異的な悪性の性質(がん特性)が備わると人を死に至らしめることとなります。1個のがん細胞が10億(1×10^9)個に増えると、約1cm³のサイコロ程度の大きさのがん腫(tumor)になります。しかし、例えばがん腫がこれ以上に大きくなったとしても、浸潤や転移をせずにもとの位置にとどまってくれさえすれば、外科医の手術によりこれを切除することができます。また、がんの特効薬が開発できればクスリによるがん治療も可能になります。しかし、残念なことに、がんの浸潤・転移を克服する有効な方法は未だに開発されておらず、また、分子標的薬と呼ばれる特効薬も、ごく一部のがん腫を除いて開発されていません。

このように治療を困難にしている転移や再発、ならびにこれらの病態と密接に関連するものとして、「がん幹細胞性」や「上皮-間葉転換(EMT)異常」といったがん特性が知られています。これらの現象はがんの病態機構において時空間的に連続的であるにもかかわらず、従来、その生物学的な解析は独立した位相でとらえられる傾向にありました。このため、これらのがん特性に共通あるいは特異的な分子機序に関する知見が未だ乏しく明らかにされていない状況です。

(次ページへ続く)

そこで、今回の私たちの研究では、(1)がん幹細胞、EMT制御異常、がん転移の3つの重要な現象について、*in vitro/in vivo* 実験モデル系を独自に確立し、(2)過去10年以上をかけて構築したがんゲノム・エピゲノムのハイスループット解析系や機能的スクリーニング系で得たデータをもとに、細胞分化、EMT、浸潤・転移に関し3次元に拡張させたがん細胞のシステム変化(ネットワーク)のプロファイリングを行い、(3)これにエピゲノム情報との統合的な解析を加えてがん関連分子のネットワーク構造の変化とエピゲノム情報との関連性を追究し、(4)細胞分化、EMT、浸潤転移などのがん特性に固有のパスウェイを描出します。このようなアプローチに基づく「がん細胞システムの理解」は、細胞の自己再生・増殖、浸潤・転移、薬剤耐性・細胞休止(dormancy)、がん幹細胞性などの分子機構をシステムとして理解することにつながるだけでなく、がん細胞システムの背後にあるがん細胞の脆弱性の理解にも至り、結果、従来のアプローチでは不可能であった難治がん克服の新たな治療戦略情報を導き出すことができるものと期待をしています。

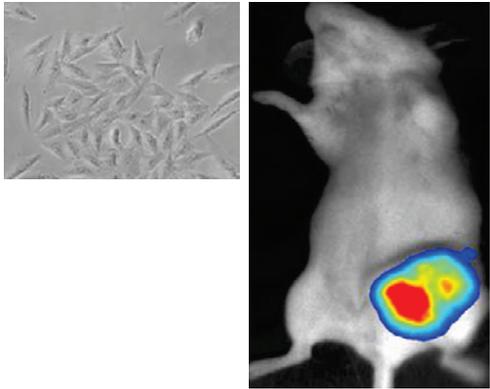
私たちのこの研究を推進するうえで極めて重要で

ある *in vitro/in vivo* スクリーニング・検証モデル系については既に独自のモデル系を確立しています。

例えば、口腔がん細胞株(HOC313)をマウスの鼠径部皮下に移植して腫瘍を形成させ、その腫瘍から腋下のリンパ節や肺などの遠隔臓器に転移する高転移性クローンを *in vivo* スクリーニング法で選別を続けました。その結果、本来の口腔がんの細胞集団の中から、極めて強い転移能を有する高転移性株(HOC313-LM)を選別することができました。これら二種類の「転移しにくい親株HOC313」と「転移しやすい亜株HOC313-LM」は、もとを辿れば同じ一個のがん細胞に起源しており完全に一致する遺伝情報を保有していたはずですが、これら性質の異なる二種類の細胞株の間の遺伝学的な差異やその結果引き起こされる分子ネットワークの変調や、あるいは細胞コンテキストの状態を明らかにすることで、転移性亜株が何故、浸潤能や転移性を獲得するに至ったかの分子メカニズムを解き明かすことが可能になるはずですが、その「解」を得ることは、また、浸潤・転移を防ぐ薬剤の開発にも直結することになります。「転移を制する者はがんを制す」というある外科医の名言があります。私たちの

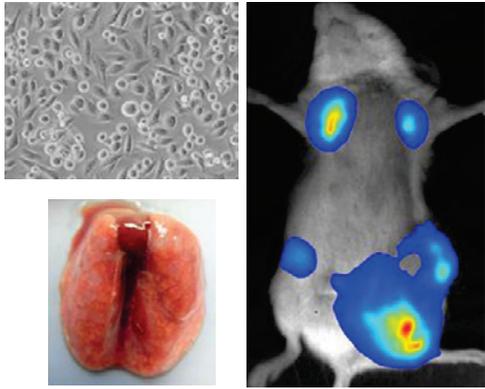
In vivo セレクション法による高転移性株の樹立

親株



【左】口腔がん細胞の親株や紡錘形でシャーレ底面に付着して増殖。
【右】皮下移植のがん細胞を蛍光発色して観察した。腫瘍は左鼠径部に限局。

高転移株



【左】分離した口腔がん高転移株は円形・浮遊傾向で活発に増殖。
【左下】摘出肺には無数の転移腫瘍を観察。
【右】腫瘍は左鼠径部で大型で、右鼠径、両腋下、両肺に転移。

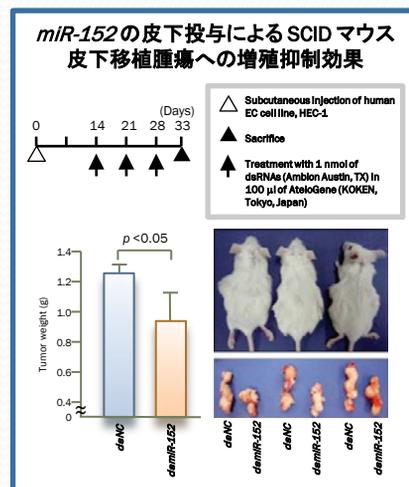
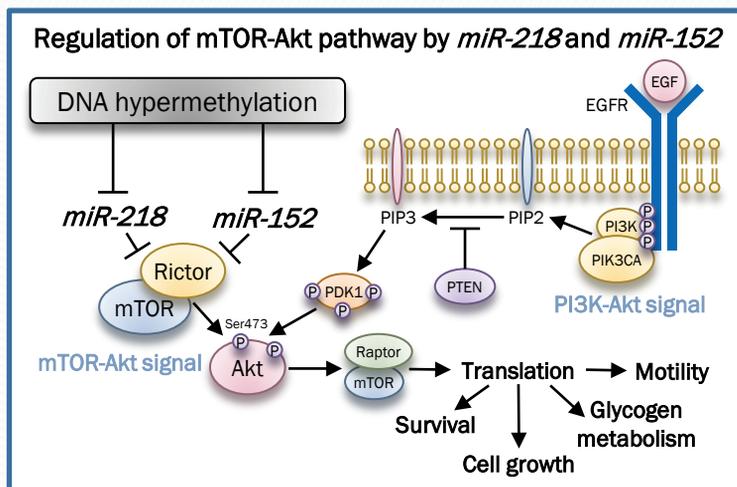
取り組みの中からがん浸潤・転移の新しいメカニズムが解明され、その情報をもとに特効薬開発に繋がる糸口が見出されるのではと楽しみにしています。

次に、最近の成果をお話します。ゲノムDNAに書き込まれた遺伝情報はまずRNAという分子に転写され、これを鋳型に蛋白質への翻訳が行われます。さらに、この蛋白分子が種々の修飾を受けて様々な機能を発揮することで複雑な生命現象が実に当たり前の如く営まれています。最近、蛋白質に翻訳されることなく機能を発揮するRNAの存在が注目されてきています。中でも22塩基程度の極めて短いマイクロRNAの機能の変調ががんの発症に係わっている事実が次々と明らかにされてきています。このがん関連マイクロは、がん細胞の増殖にとってアクセルの働きをする「がん遺伝子型マイクロRNA」と、ブレーキの働きをする「がん抑制遺伝子型マイクロRNA」に別けることができます。がん抑制遺伝子型マイクロRNA (TS-miR) は、がん細胞において何らかの機序で機能を消失していることが知られています。そこで、もし適当なTS-miRを見つけ出し、これをがん細胞の中に戻して機能を回復させてやるとがん細胞の増殖を抑えることができる可能性が出てきました。新しい部品を補充してブレーキの働きをもどす治療法です。そこで、私たちの研究グループは、まず最初に、がん抑制性マイクロRNAのスクリーニング法を確立して、

次に、これを利用して数百種類の中から新しいTS-miRを探し出すという作業を進めました。

その結果、327種類のmiRNA配列から、がんの特異的なDNA過剰メチル化より発現が抑制される *miR-218* と *miR-585* を口腔がんのTS-miRとして同定することに成功しました。引き続き同様の方法で子宮体がんにおいても、新たなTS-miRNAとして *miR-152* をみつけることに成功しました。とても興味深いことに、口腔がんで見出された *miR-218* と子宮体がんで見出された *miR-152* はいずれも *Rictor* をという分子を標的にしており、これを抑制することで、細胞増殖のシグナル伝達に重要な [Rictor-mTOR-AKT] の経路を負に制御していることを明らかにしました。即ち、がん特異的過剰DNAメチル化によって不活性化となった *miR-218*、*miR-152* は、結果的に [Rictor-mTOR-AKT] シグナル経路を活性化し、がん細胞を増殖へと導くことになるわけです。そこで、子宮体がん細胞株を移植したSCIDマウスへの *miR-152* 投与実験を行い、合成二本鎖TS-miRを用いたマイクロRNA補充療法が子宮体がんの新規の治療法として期待できる可能性を示しました(図参照)。その結果、合成二本鎖 *miR-152* は明らかに腫瘍抑制効果を発揮し、マイクロRNA 補充療法の治療法としての可能性が示されました。

文献 ■ Uesugi A. et al., *Cancer Res*, 71:5765-78, 2011
 ■ Tsuruta T. et al., *Cancer Res*, 71:6450-62, 2011



がん細胞で ドライバー変異を起こしている遺伝子の同定法の確立

横田 淳（研究代表者）

国立がん研究センター 研究所多段階発がん研究分野

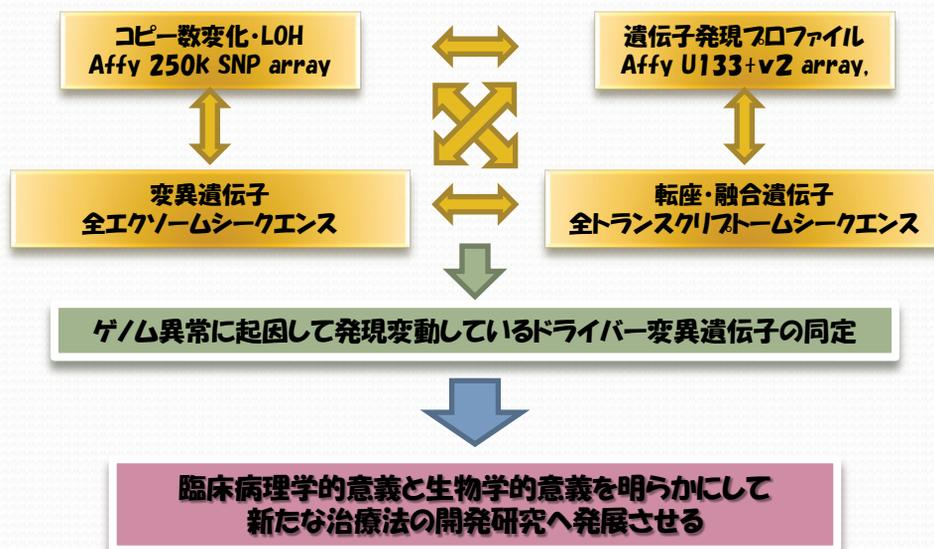


私が初めてヒトがん細胞からDNAを抽出してゲノム異常の解析をしたのは1982年です。その年は、細胞の悪性形質転換を起こすがん遺伝子として点突然変異しているHRAS遺伝子やKRAS遺伝子が同定され、白血病や大腸がんの細胞株では増幅、リンパ腫では転座している遺伝子としてMYC遺伝子が同定され、ヒトがん遺伝子が発見された年として位置づ

けられています。当時、ゲノム異常の解析法としてはサザンブロット法が主流で様々ながん遺伝子のプローブをハイブリダイゼーションするたびに何か見つからないかと期待して暗室でフィルムを現像していました。しかし、1枚のゲルで解析できるのは10~15例くらいで、結果としても遺伝子の増幅か再構成が見られるだけで、変異を検索するには更にゲノム

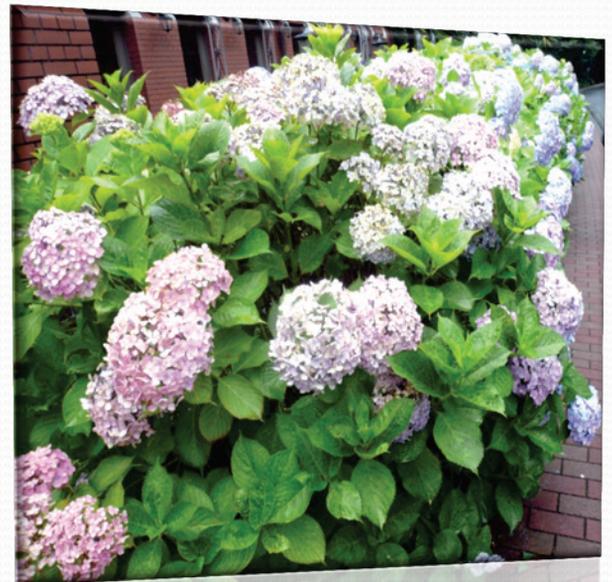
肺小細胞がんのドライバー変異遺伝子の同定

様々なゲノム解析法の結果を統合したシステム的アプローチによって
予後不良な肺小細胞がんのドライバー変異遺伝子を同定し、新たな分子標的治療法の開発を目指す



DNA断片をクローニングして配列を読まなければなりませんでした。まだPCRすらなかった時代ですから一つの遺伝子の変異解析に1年近く掛かっていました。あれから30年経った今、私はまだがん細胞のゲノム異常を解析しています。しかし、今は全ゲノム、全遺伝子に関して、増幅・欠失・転座(融合)・変異などの情報が得られます。したがって情報量も莫大になり、もはや1人の研究者だけで研究を完遂することはできなくなりました。そんなときに新学術領域「システムがん」が新たな研究組織として立ち上がったのは正に時を得ていました。この組織の他の研究者との共同研究を推進して、ヒト肺がん細胞でドライバー変異を起こしている遺伝子の同定法を確立していこうと考えています。そして、これからはがんの臨床でも役に立つ情報を少しでも多く発信していこうと思っています。

昨年度は肺腺がんに関して多くの情報を発信することができました。今年度は肺がんの中でも最も予後不良で未だに分子標的となるようなゲノム異常が一つも同定されていない肺小細胞がんを対象に研究を進めていきます。肺小細胞がんは手術で根治することが難しく、抗がん剤や放射線で治療しても半数の方々は1年以内に亡くなってしまいます。内科医として働いた経験のある私にとっては何とか予後改善の糸口を見つけたいという思いで研究を行っていますが、皆さんの協力をいただいて、分子標的となり得るドライバー変異遺伝子の同定を目指しますので、今後ともよろしくお願いいたします。

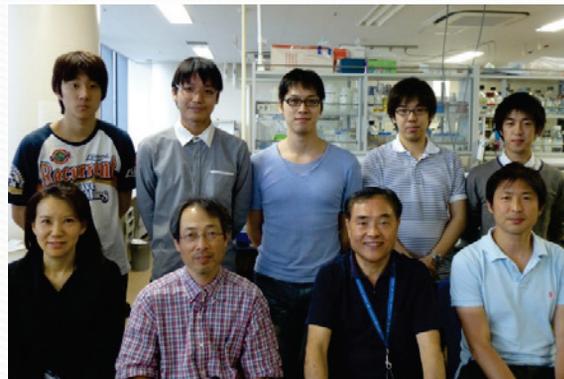


がん治療抵抗性のシステムの解析

—がん細胞のストレス応答の違いから、副作用のない新規治療を探す—

北嶋 繁孝（研究代表者）

東京医科歯科大学難治疾患研究所遺伝生化学分野



前列右から2人目が研究代表者（北嶋）
（御茶ノ水駅を見下ろす、
M&Dタワー19階の遺伝生化学研究室にて撮影）

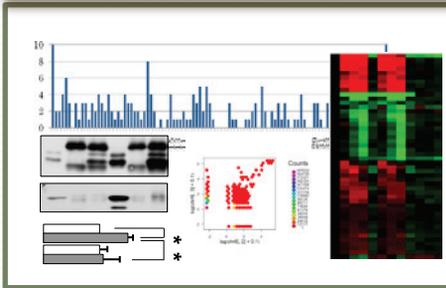
「生命の設計図」である遺伝情報は、適切な場所と時期に正確な量だけ読み取られますが、その基本的な仕組みは分子生物学の進歩とともに理解が進みました。同時に、最近のヒトゲノムの解読と大規模ゲノム解析技術の進歩は、単独の遺伝子の働きにとどまらず、細胞全体を俯瞰し遺伝子の互いの関わり合いを解析する「システムズ解析」を可能としました。抗がん剤や放射線によるがん治療を考えた場合、実は、がん細胞の中で複数のストレス応答転写因子が活性化されています。それらの指令が互いに組み合わせさせて、DNA修復や代謝、細胞転移、細胞死などを制御して治療効果を決定していると考えられます。また、がん細胞のストレス応答の違いが「がんの悪性度」を決めている例も知られており、望まない抗がん治療の副作用につながっていることもあります。

私どもの研究室では、これまで細胞応答の遺伝子発現制御の研究から、ストレス応答に関与する転写因子の下流標的遺伝子を網羅的に解析して来ました。その結果、1つのストレス刺激（例えば抗がん剤）に対応する少なくとも9つの転写因子から成るネットワークを見出し、それによって数千単位の遺伝子の発現が制御されていることを明らかにしていま



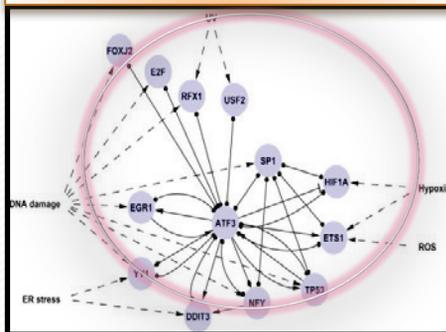
ストレス誘導のシステム解析からがんを理解し治療に役立てる

がん細胞、モデルマウスの実験



細胞レベル、モデルマウスの実験とスーパーコンピューターを駆使した大規模データ解析によるネットワーク、システムの動的モデリングから、正常細胞 vs がん細胞のストレス応答の違いを系統的に知り、治療に役立てる

大規模データによるストレスネットワーク



がんを理解し治療する

がんの分子標的薬の開発
薬剤効果を最大限引き出し
同時に
正常細胞への副作用を防ぐ

す(GEO no: GSE1 8457)。そこで、もし、これらの複雑な応答を「システムズ解析」を用いて理解することが出来れば、より効果的でしかも副作用の少ない新たな抗がん治療を見出すことができると考えて研究を進めています。

ストレス応答bZip型転写因子ATF3は、細胞のストレスセンサーの一つですが、発がんやがん細胞死と関連する紫外線・DNA損傷・酸化・低酸素・小胞体ストレスなど広範な刺激によって誘導され、p53と協調してがん抑制に働きますが、私どもは、ATF3が発がん遺伝子c-mycやWnt、TGF- β などのがん進展因子の下流標的遺伝子としても働くことも見出だしています。つまり、ストレス応答に関わる転写因子は、がんの細胞死と細胞増殖という相反する機能に関わってい

ると考えられるようになってきました。ATF3は二面的な働きをしているわけです。この逆の働きが、がん治療にどのように関わっているのかを知り、その遺伝情報の流れを治療に役立てればと思っています。

本研究ではがん細胞と正常細胞のストレス制御ネットワークの違いと特性を、システムズ・バイオロジーの統合的視点に基づいて理解しようとしています。細胞、マウスを用いたベンチワークと数学的手法を用いた解析との複合的な試みによって、「がん」をストレス応答の切り口から解析し、これまで見えなかった新たながん治療戦略を確立して、難治がん医療に貢献したいと研究室全員一丸となって研究に励んでいます。



文部科学省新学術領域研究
システムがん
システムの統合理解に基づくがん
の先端診断、治療、予防法の開発

オフィシャルWebサイト

<http://systemscancer.hgc.jp/>



システムがんの研究内容、構成研究者情報、発表論文、研究集会などの詳しい情報はこのWebサイトをご覧ください。



<http://twitter.com/SystemsCancer>

システムがんの研究成果、世界のがん研究、研究拠点、学会情報など最先端な話題をつぶやいています。



Human Genome Center

東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター スーパーコンピュータ
<http://supcom.hgc.jp/>

システムがんで用いられるデータ解析ソフトウェアは、ヒトゲノム解析センターのスーパーコンピュータで動いています。スーパーコンピュータはどなたでもご利用になれます(有償)。



大容量のディスク装置



高密度の計算機

編集後記

普通のユーザーはパソコンのスペックをあまり気にしなくなり、そもそも家庭の中でそれほどパソコンでなければならない作業も減りつつあるけれど、それはいわゆる IT 機器がひろく一般化したためのことで、そういった物の存在はクラウド的に、役割はサービスとしてしみこむように増え続けている。ヒトゲノムシーケンシングはこの環境に絡みながら、いかにして一般化していくか、見ものである。

新学術領域研究「システムがん」ニュースレター No.5
発行日★平成24年7月1日(初版)、7月2日(第二版)、7月8日(第三版)
発行★システムの統合理解に基づくがんの先端診断、治療、予防法の開発
領域代表者★宮野 悟

● 東京大学医科学研究所 ヒトゲノム解析センター DNA情報解析分野
● 〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1
● TEL: 03-5449-5615 FAX: 03-5449-5442
● E-mail: miyanolab-jimu@edelweiss.hgc.jp

編集★サトウアユ