

システムがんNewsletter No.9

2014年1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)

公募研究の紹介

新規化合物を用いたがん抑制機構の解析

根岸 英雄

東京大学生産技術研究所 炎症・免疫制御学社会連携研究部門 特任助教



正常なほとんどの細胞は増殖できる回数が限られています。がん細胞は際限なく増殖する性質を持っています。このようながん細胞の増殖にはがん細胞そのものの性質だけでなく、がん細胞とがん細胞をとりまく環境との相互作用が重要である事が分かっています。がん細胞は自身が増殖するために周りの環境に働きかけ、自分に都合の良い状況を作り出しながら、増殖を繰り返していると言えます。

このような環境要因の中で鍵となる現象の一つに炎症があります。炎症とは例えば、病原体に感染した際に感染局所に免疫細胞を集合させ、生体を守る事に重要な機構です。しかしながら一方で、炎症が継続すると、自身の細胞を傷つけることにも繋がります。炎症による自己細胞の傷害と再生の繰り返しは、やがてがんの発生要因になるとも考えられています。がんが増殖する課程においても炎症は免疫細胞を活性化し、がん細胞に対する免疫応答を誘導するために重要だと考えられます。ただ、がん細胞は免疫応答からうまく逃れる機構を持っており、簡単には排除する事ができません。そのような状況で炎症が引き起こす別の側面として、炎症が起こるとがん細胞の増殖/生存のシグナルが活性化するなど、がん細胞の増殖に有利に働く側面があることも分

かっています。がん細胞は、免疫細胞をはじめとして、周りの環境と複雑に相互作用しながら増殖していると考えられます。このようながん細胞の増殖を抑制するには、必要な免疫応答を抑制せずに、炎症の悪い側面は抑制する、という方法が必要だと考えられます。炎症を引き起こす経路には様々なものがあり、近年の抗腫瘍免疫機構の解析から、どのようながんに対して、どのようなタイプの活性化経路が重要かといった事も少しずつ分かっています。そのような情報を元に、適切に免疫応答をコントロールできれば、がんの治療に結びつくのではないかと思います。本研究で使用する化合物IMF001もそのような観点から興味深い薬剤ではないかと期待しています。

化合物IMF001は東京大学 生産技術研究所 炎症・免疫制御学社会連携研究部門(谷口維紹教授)にて同定されたものですが、もともとは炎症を抑制する薬剤として単離されました。その作用機序の全貌は解明できていませんが、Toll様受容体という受容体経路の活性化を阻害するなどし、炎症を抑制する働きがあり、さらに、炎症の関わる様々なマウス病態モデルでその薬効を検証する課程で、がんの増殖を強く抑制する働きがある事が分かっています(図1)。

(次ページへ続く)



図1 IMF-001によるがん細胞増殖抑制

IMF001を2日ごとに20μg投与した。IMF001を投与したマウスではがんの増殖が著明に抑制された。

IMF001の作用機序仮説
 - がん細胞由来の DAMPs と自然免疫受容体が
 活性化するがん増殖システムの阻害 -

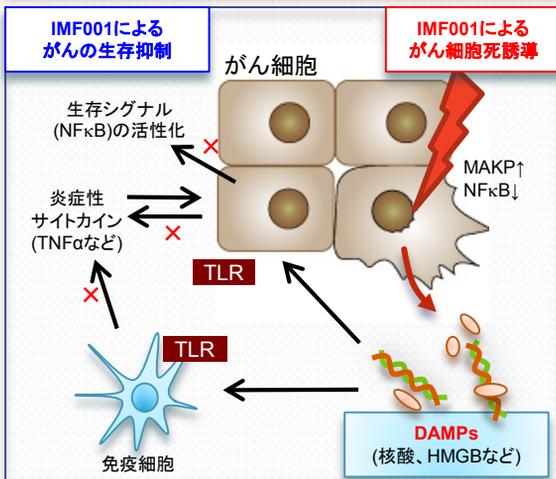


図2 IMF-001の作用仮説

IMF001はMAPKなど細胞死の誘導するタンパクを活性化することが分かっています。死んだ細胞からはDAMPsという成分が放出されますが、DAMPsはToll様受容体(TLR)を活性化します。TLRを介して免疫細胞、がん細胞が刺激されることで、炎症を引き起こすタンパク(炎症性サイトカイン)の産生が促進されるだけでなく、がん細胞で生存/増殖を促進するタンパク(NFκB等)が活性化します。

このような状況で、IMF001はがん細胞死の直接の誘導と、TLRを介した生存シグナルの抑制を同時に行う事により、がんの増殖を抑制するのではないかと考えています。

Toll様受容体は病原体の成分を認識して、免疫応答を活性化する受容体として有名ですが、病原体だけでなく、自己の死んだ細胞から放出される様々な分子を認識し、炎症を引き起こすことが分かっています。Toll様受容体は主に免疫細胞に多く発現していますが、その他の免疫系以外の細胞だけでなく、がん細胞自身にも発現しています。抗腫瘍応答におけるToll様受容体経路の役割には、生体に不利な側面と有利な側面の両方があり、おそらくがん細胞の種類や状況によっても異なるものだと考えられ、非常に複雑です。そのため単にIMF001がToll様受容体経路を抑制する事だけが、がん細胞の抑制に繋がっているとは考えにくく、実際、IMF001はToll様受容体経路の抑制とは別に、細胞死を誘導するようなシグナルを活性化することも分かっています。おそらくToll様受容体経路の抑制と細胞死シグナルの活性化の両方が、がん細胞だけでなくがん細胞を取り巻く周りの環境に働きかけ、複雑な相互作用の結果としてがんの増殖が抑制されるのではないかと考えています(図2: IMF001の作用機序仮説)。IMF001の複数の作用が作り出す特定の条件下で、Toll様受容体経路が抑制されるとがんの増殖を抑制できるのではないかと考えています。

この研究の目的は、Toll様受容体経路の抑制+αの作用を持つ、化合物IMF001がどのような機構でがん細胞の増殖を抑制するかを解明する事により、薬剤開発を進めると同時に「がん細胞増殖抑制に関わる新しい普遍的機構」について、特にToll様受容体経路の阻害と関連づけて解明を試みる事です。

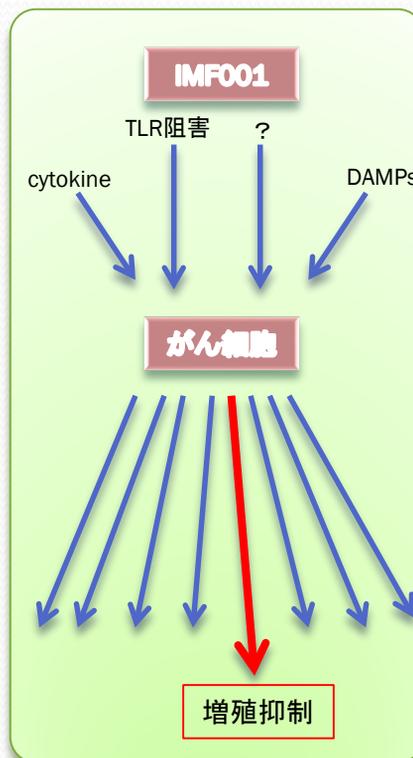
しかしながら、この研究には解析を進める上で一つ大きな問題点がありました。それは、IMF001の標的となるタンパクが分からない事です。標的のタンパクが分かれば、標的蛋白の生理機能を解明することで、化合物の作用機序を解析することが可能です。しかしながら、標的蛋白候補の単離はそれ自身が容易ではありません。また、IMF001は複数の作用機序があり、それらによる複雑なシグナルが入り組んだなかで薬効を示しているものと考えられ、直接の標的蛋白の同定はより困難だと予想していました。

このようにIMF001の標的蛋白が不明な状況でも、作用機序を明らかにするため、私は今回の公募研究に応募しました。すなわち、IMF001が直接作用する蛋白には着目せず、化合物によってがん細胞に引き起こされる遺伝子変動の全体を網羅的に数理解析することで、薬効に関わる可能性の高い遺伝子を絞り込み、それらを順に検証するという解析を行います。これによって、化合物ががん細胞に作用して、増殖を抑制する課程での重要な役割を果たす遺伝子を明らかにします。統合的な解析を行う事で、既知のがん抑制経路だけでなく、全く新しい機構の発見に繋がる可能性があり、それをToll様受容体シグナルの抑制という、抗がん剤としてはユニークな作用と結びつけて解析する事で、新しい発見につながる事を期待しています。そしてこのような結果をもとに、IMF001を抗がん剤として開発して行きたいと考えています。

図3 本研究の解析方法

IMF001は複合的な作用でがん細胞の増殖を抑制すると考えられます。そのため、IMF001が作用する標的タンパクの解析は容易でないと考えられます。本研究ではIMF001が薬効を示す過程で重要な役割を果たすタンパクを同定し、その事を手がかりとして、作用機序の全貌を解明したいと考えています。

IMF001によってがん細胞中で変動する遺伝子を網羅的に解析し、さらに数理解析によって、変動遺伝子の中から可能性の高い遺伝子を絞り込みます。最後にsiRNAという遺伝子の機能を抑制する方法で、検証します。



がん細胞はIMF-001の直接の作用だけでなく、間接的なDAMPs等の複合的な刺激を受けると予測される。

がん細胞の中で変動する様々な経路を数理解析で予測する。

siRNAを用いた検証によってがん増殖の抑制に関わる経路を特定する。

数理的統計的解析による 難治性がん幹細胞システムの解明と創薬応用

石井 秀始

大阪大学 大学院医学系研究科消化器がん先進化学療法開発学 教授



がんの過半数は消化器がん

わが国を含む先進諸国では高齢化社会に突入し、人口構成の変化から加齢に伴う病気が増えています。また人類の歴史における産業革命を経て、燃焼物を中心とした環境変異原である発がん物質が私達の身の回りに増えているとされています。さらに元来、質素な食生活に親しんできた日本人には欧米式の高カロリー食は細胞レベルで大きな負荷をかけていると考えられています。このような複合要因の結果として、わが国では2人に1人ががんに罹患する

時代を迎えようとしています。その過半数は消化器のがんです。消化器は臓器として食物を体内に取り込む最初の砦ですから、発がん物質に暴露される機会が多いと考えられます。高齢になれば生まれてからの時間が長い訳ですからその分に依存して遺伝子細胞レベルでの傷が入りやすい、生じた異常変化が蓄積しやすい、それががんの発生と進展に関わっています。早期に発見された消化器がんは手術でほぼ治りますが、進行してしまった場合は抗がん剤などの薬物療法や放射線療法を実施します。

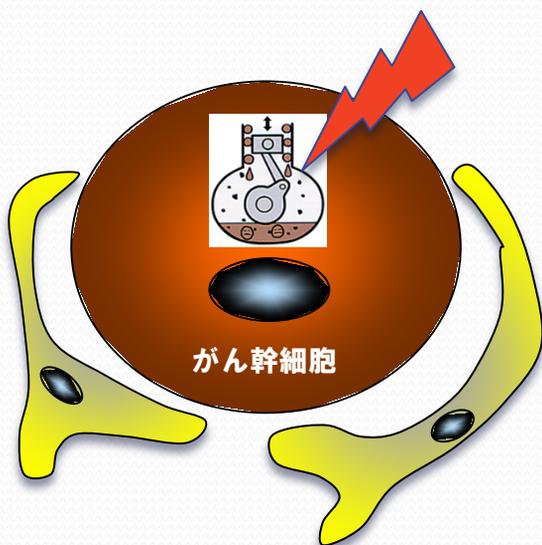


図1 がん幹細胞の動力源を究明する
特異的な代謝様式が鍵を握ると考えられます。





図2 この研究手法のアイデアが生まれた会合
前列向かって右Ciechanover博士（ノーベル賞）、左Neupert博士、後列中央がCroce博士、左が森正樹教授（大阪大学）および筆者、右が井上裕博士、鈴木陽三君。

治療に難渋するがんを克服する

抗がん剤は歴史的に兵器開発と関連性が深いとされています。最初の抗がん剤の発見は第二次世界大戦頃のナイトロジェンマスタードとされ、前駆物質マスタードガスは化学兵器であり、第一次世界大戦のイープル戦線で初めて使われました。治がん薬としての最初の使用に関する正確なところは明らかではありませんが、この抗がん剤としての研究は第二次世界大戦中に米国で始められたようです。このような物質は基本的に細胞毒ですから毒を持ってがんを退治しようとしているわけです。がん細胞の固まりの95%以上はこのような毒由来の物質で殺せますが残りの5%が残ってしまう。この遺残したがん細胞が後日に転移・再発を来たしてしまう。この治療に難渋するがん細胞が重要なわけです。この難治性細胞の性質を取り出して調べると、各組織の元となる幹細胞に似た性質がわかることがわかり、がん幹細胞と呼ばれています。このがん幹細胞に対する薬を創ることが重要とされ、世界の研究室が鎬を削っています。

がんの親玉「がん幹細胞」を調べ尽くす

私達はがん幹細胞を最新の高感度の方法で調べ上げると、特殊なエネルギープラントを装備していることを見いだしました。それはがんに特異的な代謝です。全ての細胞は糖類やアミノ酸の代謝からエネルギーを得ていますから、がん細胞、特にがん幹細胞

に特異的な代謝様式を究明して、創薬展開することはがん幹細胞の特効薬を開発できる可能性を秘めています。そのために私達は、東京大学宮野悟教授の研究班に加えていただき、正確な計測に基づくビッグデータから数理的統計的解析技術を駆使して、高精度に調べ上げる研究を進めています。

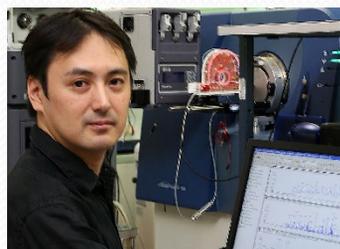
「がん幹細胞」創薬を早期に実現するために

最新の技術では細胞の営みを極めて高精度に計測できるようになってきました。個々の細胞は小さいですがそこから得られる数値データ量は膨大であり、また異なった属性のデータ(DNA, RNA, 蛋白質, 代謝など)が複合していてそれらの相互の連関を把握しながら細胞全体をシミュレーションすることが求められます。私達は数理的統計的解析技術により、がん幹細胞の動力源を探り当てて、ピンポイントの創薬展開を進めています。画期的な創薬に向けて大阪大学ではアカデミア創薬の活動を始動させています。現在までに、研究を加速するためにがん幹細胞を蛍光物質で発色させる系を構築しました。最新の細胞分取機(セルソーター)で細胞を集めてプロファイリングしました。その結果、糖代謝、アミノ酸(グルタミン)代謝に加えて、ポリアミン代謝の重要性が明らかになりました。そこで焦点を絞ってこの代謝系を特異的に制御する化合物のスクリーニングを進めています。この化合物群の中に未来医療の特効薬に繋がる種が含まれていると期待しています。

次世代定量プロテオミクスによる 発がんネットワーク同定

松本 雅記

九州大学 生体防御医学研究所・トランスオミクス医学研究センター 准教授



がん細胞は一般には周囲との調和を無視した無限増殖状態に陥った細胞であると考えられていますが、活発な増殖状態が即、がん化を意味するわけではありません。細胞のがん化には活発な増殖状態に加えて、様々な細胞機能の変化が関与していることが知られています。例えば、古くからがん細胞において解糖の著しい亢進が知られており(発見者の名にちなんでWarburg効果と呼ばれる)、この性質はPET(positron emission tomography)によるがん診断で応用されています。さらに、近年の大規模ゲノムシーケンス技術の発展によってがんと密接に関連する多数の遺伝子変異(ドライバー変異)の存在が明らかになってきました。このようながんにおける遺伝子変異の多様性はがん化機構が予想を超えて極めて複雑であることを示しています。こらがん関連遺伝子の変異に端を発するがん化シグナルは、代謝経路を始めとする様々なパスウェイに働きかけ、最

終的な細胞がん化状態を生み出していると考えられますが、その実体は未だ十分に理解されておられません。

細胞がん化のようにゲノム上に生じた変異が細胞システムにどのような影響を与えるのかを分子レベルで追跡するためには生命現象の実行因子であるタンパク質の量的あるいは質的变化を定量的に計測する必要があります。このような目的のためには、ゲノム情報基盤と質量分析計を用いたプロテオミクス技術は極めて有効です。特に、近年の質量分析計の高感度化、高性能化は目を見張るものがあり、最新の装置では大腸菌や酵母などの比較的遺伝子数が少ない生物においてはほぼ全てのタンパク質の発現を捉えることが可能になりつつあります。一方、哺乳類などの高等真核細胞においては、現状のプロテオミクス技術によって検出され得るタンパク質の

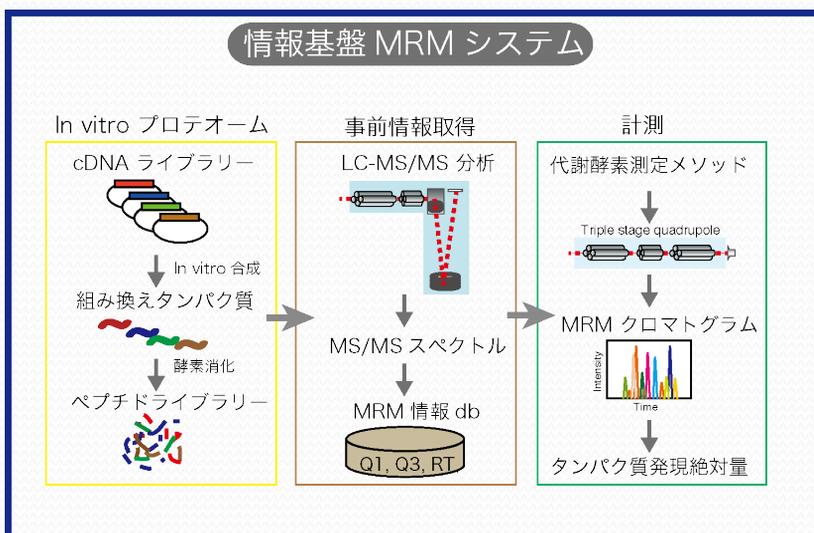


図1

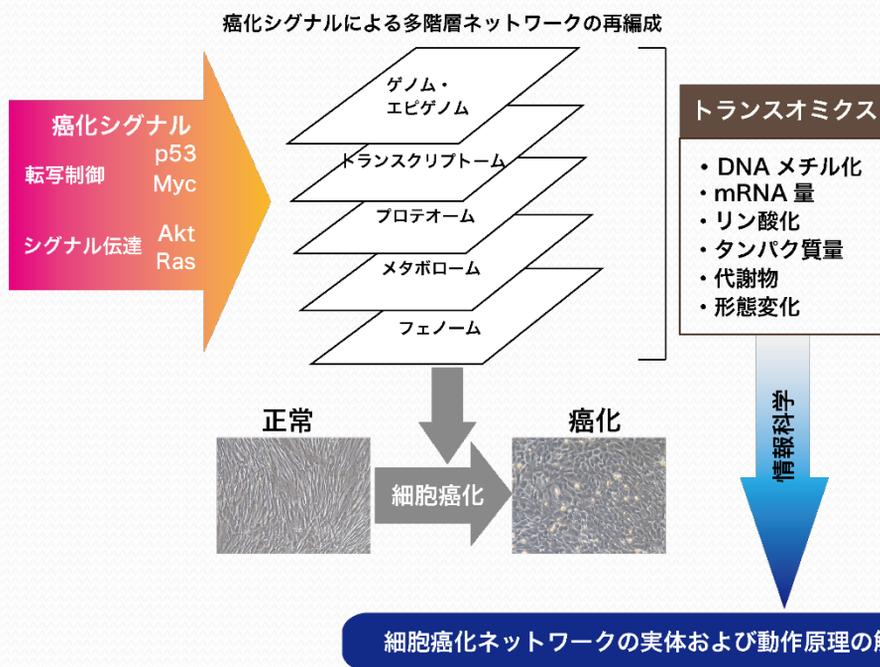


図2

数は限られており、その網羅性はいまだ不十分です。さらに、タンパク質の発現量を正確に絶対定量することが、計測結果を用いた数理モデリング等のシステム生物学的アプローチを行う上で極めて重要ですが、精度と網羅性を兼ね備えた技術は存在しませんでした。

わたくしたちは質量分析計を使用した超高感度定量技術であるMRM (Multiple Reaction Monitoring) 法とヒト組み換えタンパク質リソース (25,000タンパク質)とを組み合わせることで、微量タンパク質を含むあらゆるタンパク質の絶対定量を可能とする画期的なプロテオーム解析システムである情報基盤多重反応モニタリング法(略称:情報基盤MRM法)を構築しました。現行のシステムでは、わずか200 ngのタンパク質試料(約1000細胞相当)から1時間で100種類のタンパク質を正確に絶対定量することが可能であり、感度および定量精度ともに従来法と比べて圧

倒的なパフォーマンスを誇ります。また、以前からタンパク質リン酸化の定量解析技術やタンパク質間相互作用の定量技術の開発を行っており、いずれも実用化を達成しております。

本研究ではこれら私達が独自に開発したプロテオーム解析技術を用いて細胞がん化プロセスの実体解明を目指します。がん化プロセスを理解しやすくするためヒト正常細胞株を各種がん原遺伝子でトランスフォームすることでがん化モデルを構築しこれらを解析対象とします。まず、細胞がん化に伴う細胞内プロテオームネットワークの変遷を定量的に記述します。さらに、トランスクリプトーム解析やメタボローム解析も併用(トランスオミクス計測)することで、多階層に跨って存在するがん特異的多階層ネットワーク構造を同定し、その性質や特徴を数理モデリングによって明らかにすることを目指します。

腫瘍微小環境の システムの統合理解に基づく治療法の開発

大澤 毅

東京大学 先端科学技術研究センターシステム生物医学 特任助教



がん細胞を取り巻く環境、すなわち“腫瘍微小環境”は、がん細胞の増殖や転移、抗がん剤に対する抵抗性などががんの悪性化に深く関わっています。腫瘍組織は、がん細胞、免疫細胞、血管やリンパ管など様々な細胞集団から構成されており、がんの増殖を助ける環境を構成しています。このことから、腫瘍微小環境を理解することが新しいがんの治療法につながるかと考えています。がん細胞の増殖には酸素と栄養の供給が必須で、血管新生という血管網の構築が重要な役割を果たします。血管新生は、栄養や酸素が必要な時に、がん細胞が血管内皮細胞増殖因子(VEGF)因子を分泌し、血管細胞の受容体(VEGFR)の増殖シグナルにより血管が増殖・伸長します。がんが血管を呼び寄せる機構がいわゆる「腫瘍血管新生」と呼ばれます。

がん細胞が一定(2mm³)の大きさを超えるには新生血管からの栄養供給が必要です。「酸素濃度が低くなるとがん細胞から血管内皮増殖因子VEGFが分泌される」と考えられています。しかし、我々の研究から、酸素だけではなく栄養も血管新生に深く関係していて、この両方で血管新生因子が発現することを見出しています。この血管新生を阻害することで、がんの栄養と酸素の供給を遮断する“兵糧攻め”が可能で、現在、血管新生阻害剤は、大きく分類して2種類あります。1つは、アバスタチンなどの抗VEGF中和抗体で、VEGFを阻害するもの。もう1つは受容体のシグナル伝達を阻害するもので、ソラフェニブ、スニチニブなどの低分子化合物が臨床で実際のがん治療薬として認可されており、実際はこの経路

以外にも血管新生に重要な経路が存在し盛んに研究され新薬へ向けての臨床研究が行われております。

現在の血管新生阻害剤は、個人差はありますが、ある程度有効であることが知られています。しかし、がんを完全に根治するのは難しいというのが現状です。我々は、血管新生阻害療法の効果が限定される場合に、がん細胞自体はどういう反応をするのかに焦点を当てて研究しています。すなわち、がん細胞と周りの環境を含めたがん組織が抗がん剤や血管新生阻害療法に対して耐性を獲得する機構を理解し、そこを標的にした新しい治療法を追究したいと考えています。これには、がん細胞の環境適応反応による悪性化機構の解明や、DNAの塩基配列情報(ゲノム)や、ゲノムに施されたそれ以外の情報(エピゲノム)のみならず、がん代謝など各階層の情報を統合的に理解することが必要だと考えられます(図1)。

がんの悪性化には様々な要因があり、がん幹細胞という一部のがん細胞が悪性化に寄与することが知られています。我々の研究から栄養と酸素が枯渇した状態で生き延びるがん細胞というのは、実は、がん幹細胞を増やし悪性化することがわかってきました。このような過酷な環境に晒されたて生き残ることができたがん細胞は、ある種の選別をされて、抗がん剤や血管新生阻害剤に対する抵抗性やがんの再発や悪性化に関連している可能性があると考えています。これにはどのようながんの環境適応反応があるのでしょうか？

がん細胞において特徴的なのが「代謝経路の変化」です。がん細胞で代謝のシフトが起こると発表したのは、ドイツのオットー・ワールグという人です。当時（1956年頃）、「がん細胞は正常細胞と違う代謝経路を持っているというのが、「ワールグ・エフェクト」説でした。我々は新しい代謝経路が栄養と酸素の枯渇状態で起こることを見出しており、このような腫瘍微小環境が、どのようにがんの代謝を変化させるかという観点から慶応大学先端生命科学研究所の曾我朋義教授のグループと共同で研究を行っております。

環境が極端な状態になったときにがん細胞が悪性化し、環境が戻れば元の状態に復する。これには可逆的なエピゲノム修飾状態が変わる可能性が考えられます。低栄養や低酸素の状態でがんの悪性化を制御している可能性があるエピゲノム因子を発見しており、現在はその解析を進めているところです。が

ん細胞の低酸素、低栄養の反応の研究においては既に、酸素がない状態の研究、栄養がない状態の研究、代謝のシフトの研究、それぞれ盛んに研究されています。中でも、我々は酸素と栄養の両方がない状態に晒されたがん細胞ががんの悪性化に重要だと考えており、東京大学医科学研究所の宮野悟教授のグループ（連携研究者：島村徹平）と共同で、がんの環境におけるゲノム、エピゲノム、代謝という各階層の情報を統合し、がんの悪性化や治療抵抗性に重要な新しいがんの治療標的を見出すための研究を行っております（図1）。幸いなことに私が所属する東京大学先端科学技術研究センター（連携研究者：神吉康晴、辻真吾）は、エピゲノム研究を戦略的に行っていますので、エピゲノム、トランスクリプトームの解析を中心とした展開から、がんの診断や治療につながる研究をしたいと考えています。

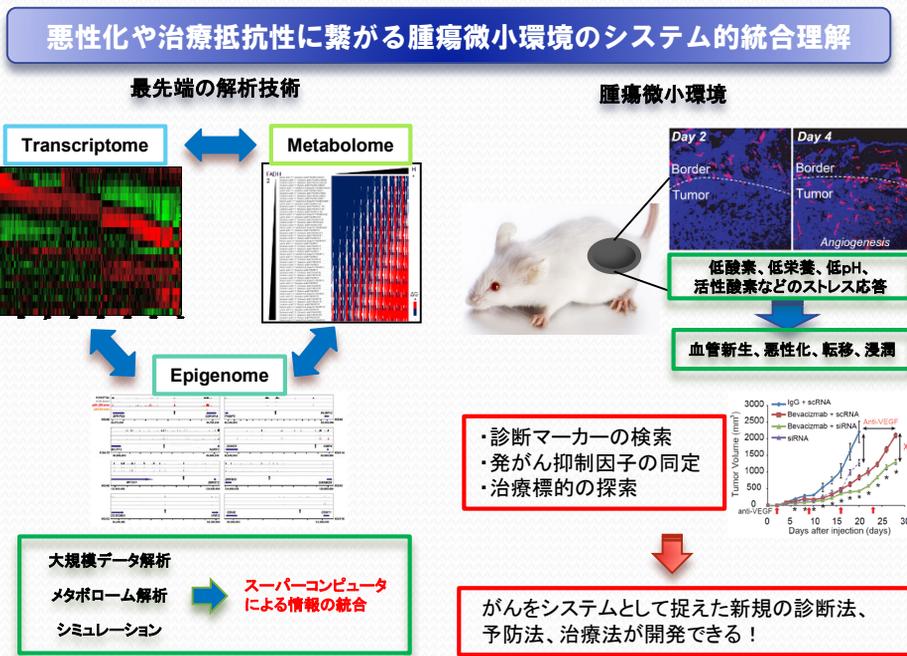


図1 微小環境は腫瘍の増殖、転移に重要な役割を果たす。本研究は、がん微小環境をシステム生物学的なアプローチによって拓く新たながん研究のパラダイムの構築を目指す。がん微小環境の理解には、従来型のアプローチのがん研究だけでは迫りきれない。具体的には、低酸素・低栄養などががん微小環境において特異的かつ重要な、条件下におけるトランスクリプトーム、エピゲノム、メタボロームといった各階層のネットワーク解析をスーパーコンピューターを駆使した大規模データ解析にネットワークの推定や、メタボロームの動的モデリングとシミュレーション及び実験的検証を統合行う。このことによりがんの微小環境やという複雑なシステムの統合的な理解が可能となり、がんの新しい診断法や治療法の開発が可能になることが期待される。



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
の先端的診断、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

新学術領域研究「システムがん」ニュースレター No.9

発行日★平成26年1月24日(初版)

発行★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
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