

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：14202

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23650624

研究課題名(和文) 遺伝素因による発癌病態の解明と癌予防に向けた創薬開発

研究課題名(英文) Characterization of genetic factors that modify the risk of cancer and could be useful for the development of new cancer prevention drugs

研究代表者

醍醐 弥太郎 (DAIGO, YATARO)

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号：30345029

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円、(間接経費) 810,000円

研究成果の概要(和文)：癌は我が国において、死亡原因第一位であり、世界的にも増加している。癌の罹りやすさに関わり、新しい抗癌薬の治療標的になる遺伝的要因を見つけるために、日本人の肺癌患者でゲノムワイドの癌関連遺伝子探索を行い、肺癌の発生に関係する遺伝子を複数発見した。新薬を開発するためのスクリーニング法を構築するために、これらの遺伝子を安定的に発現する細胞を作製し、癌進行における遺伝子の機能解析を行った。これらの知見は、癌の罹りやすさに関わる遺伝的多様性を標的とした新薬の開発に貢献するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Cancer is the most common cause of death in Japan, and its incidence is increasing worldwide. To identify genetic factors that modify the risk of human cancer and could be therapeutic targets for the development of new anti-cancer drugs, we conducted a genome-wide association study in a Japanese lung cancer population and identified some susceptibility genes for lung cancer. We established cell lines stably expressing these risk factor genes and examined their mechanism in cancer progression to make a new drug screening system. The results could contribute to new drug design targeting genetic variation that may influence susceptibility to human cancer.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：腫瘍学・臨床腫瘍学

キーワード：分子標的治療

1. 研究開始当初の背景

癌は我が国において、死亡原因第一位であり、世界的にも増加している。癌の罹りやすさに関わり、新しい抗癌薬の治療標的になる遺伝的要因を見つけ、その機能を細胞レベルで詳細に解明することは、癌の罹りやすさに関わる遺伝的多様性を標的とした新薬を開発するためのスクリーニング法の構築につながるものと考えられる。

個人ゲノム情報に基づく癌の分子病態研究の急速な展開、例えば一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) を用いた各種癌の多数の患者 DNA のゲノムワイド関連解析により、これまでの手法では同定されなかった癌関連遺伝子の構造的な多様性を介した癌の遺伝素因が明らかになると期待される。

発癌研究とその成果の創薬研究においては、一塩基多型 (SNP) を用いたゲノムワイド関連解析 (GWAS) による癌関連遺伝子の探索のほか、各種マイクロアレイを用いたゲノムコピー数解析、網羅的遺伝子発現解析、質量分析器による網羅的蛋白・代謝産物解析など、癌患者個体のゲノム情報から遺伝子産物に至る分子情報を定量的かつ網羅的に把握し、さらに多数の患者情報をバイオインフォマティクスおよび遺伝統計学で統合化していく技術が発展してきた。例えば、疾患群と対照群間で遺伝子型やその発現頻度の差を遺伝統計学的、情報科学的に調べることにより「病気のかかりやすさ」や「薬効・副作用」に関わる疾患関連、薬剤感受性予測遺伝子が同定されてきている。例えば、我々は、肺癌のリスクとなる遺伝的要因を体系的に検出するために、日本人の肺癌集団の DNA サンプルについて高速大量タイピングシステムによるゲノムワイド関連解析を行い、複数の遺伝子を同定している。

一方で、これらの機能検証に必要となる遺伝子の 1 コピー、1 塩基レベルの遺伝子変化や増幅、欠失、転座等に伴うゲノム構造異常を迅速かつ正確にヒト体細胞を用いた実験系で再現できる手法は存在しない。ゆえに、これらが確立されれば、発癌機構の詳細が明らかになるのみならず、新しい抗癌薬を開発するための化合物のスクリーニング系の確立等に大いに貢献するものと期待されている。

2. 研究の目的

(1) 複数の遺伝子異常の同時解析に利用可能な正常細胞における遺伝子組み換え技術を開発して、ゲノム構造異常や遺伝子多型 (遺伝素因) に起因する癌発生機構の解明を行うこと。

(2) この技術を応用して、新規癌関連遺伝子を標的とした癌予防に向けた創薬開発手法を確立することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

(1) 第 1~3 段階の解析を通して遺伝素因と発癌機序の関係を解明する。第 1 段階で最良の技術開発を目指す一方で、第 2 段階の肺癌関連遺伝子のリスク多型を持つ肺由来細胞の樹立を同時進行で進め、両者の移行を円滑に進める。また第 1 段階の進捗が前後する可能性を念頭に置いた研究計画を以下のとおり進める。

(2) 第 1 段階として、解析基盤 (技術・試料) の確立を行う。これまで蓄積した遺伝子導入技術の広範な細胞株や各種遺伝子異常への適用を念頭においた検討を行う。これには各種のヒトの肺由来細胞の遺伝子導入条件の検討とそれに影響を与える genetic background の検証、細胞ストレス応答下の蛋白・遺伝子の発現プロファイルの作成が含まれる。

(3) 第 2 段階として肺癌関連遺伝子等を導入した細胞を作製して、発癌病態の解明と創薬モデル構築の基盤を確立する。

(4) 第 3 段階として、作成した細胞を用いて細胞の表現型について野生型細胞と比較しながら継時的に解析し、創薬スクリーニング系の探索基盤となる情報を取得する。

4. 研究成果

(1) 解析基盤 (技術・試料) の確立を行うため、複数の細胞株やヒトの肺由来の正常細胞 (気道上皮) における肺癌関連遺伝子の遺伝子多型を確認した上で、遺伝子導入条件を検討した。あわせて遺伝子導入に影響を与える genetic background の検証を行うため、細胞ストレス下での肺癌関連蛋白・遺伝子や DNA 修復に関わる蛋白・遺伝子の発現を検討した。これにより複数の遺伝子導入株候補を選定した。

(2) これらの細胞株を用いて肺癌関連遺伝子等のリスク多型をもたない複数の細胞株に当該遺伝子を導入した細胞を作製して、癌の遺伝素因に起因する発癌病態の解明と癌予防に向けた創薬モデル構築の基盤を確立した。

(3) 作成した細胞を用いて細胞の形態、増殖、浸潤能について野生型細胞と比較しながら継時的に解析した。これらの知見から肺癌関連分子に起因する発癌分子経路を標的とした創薬スクリーニング系の探索基盤となる情報を取得した。

本研究で得られた技術的発展と知見は今後のゲノム創薬の基盤技術・情報として重要な役割を果たすとともに、癌研究のみならず疾患研究、分子生物学研究に普及し、近年、本邦において同定されている数多くの疾患関連遺伝子 (遺伝素因) に基づく分子病態の

解明に利用可能になると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計9件)

Fujitomo T, Daigo Y, Matsuda K, Ueda K, Nakamura Y. Identification of a nuclear protein, LRR42, involved in lung carcinogenesis. *Int J Oncol* 査読有 45:147-156, 2014.
DOI: 10.3892/ijo.2014.2418.

Daigo Y, Takano A, Teramoto K, Chung S, Nakamura Y. A Systematic Approach to the Development of Novel Therapeutics for Lung Cancer using Genomic Analyses. *Clin Pharmacol Ther* 査読有 94: 218-223, 2013.
DOI: 10.1038/clpt.2013.90.

Oshita H, Nishino R, Takano A, Fujitomo T, Aragaki M, Kato T, Akiyama H, Tsuchiya E, Kohno N, Nakamura Y, Daigo Y. RASEF is a novel diagnostic biomarker and a therapeutic target for lung cancer. *Mol Cancer Res* 査読有 11: 937-951, 2013.
DOI:10.1158/1541-7786.MCR-12-0685-T

Kogurea M, Takawa M, Cho HS, Toyokawa G, Hayashi K, Tsunoda T, Kobayashi T, Daigo Y, Sugiyama M, Atomi Y, Nakamura Y, Hamamoto R. Deregulation of the histone demethylase JMJD2A is involved in human carcinogenesis through regulation of the G1/S transition. *Cancer Lett* 査読有 336: 76-84, 2013.
DOI: 10.1016/j.canlet.2013.04.009

Shiraishi K, Kunitoh H, Daigo Y, Takahashi A, Goto K, Sakamoto H, Ohnami S, Shimada Y, Ashikawa K, Saito A, Watanabe S, Tsuta K, Kamatani N, Yoshida T, Nakamura Y, Yokota J, Kubo M, Kohno T. A genome-wide association study identifies two new susceptibility loci for lung adenocarcinoma in the Japanese population. *Nature Genetics* 査読有 44: 900-903, 2012.
DOI: 10.1038/ng.2353.

Fujitomo T, Daigo Y, Matsuda K, Ueda K, Nakamura Y. Critical function for nuclear envelope protein TMEM209 in human pulmonary carcinogenesis. *Cancer Res* 査読有 72:4110-4118, 2012.

DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0159.

Cho HS, Shimazu T, Toyokawa G, Daigo Y, Maehara Y, Hayami S, Ito A, Masuda K, Ikawa N, Field HI, Tsuchiya E, Ohnuma S, Ponder BA, Yoshida M, Nakamura Y, Hamamoto R. Enhanced HSP70 lysine methylation promotes proliferation of cancer cells through activation of Aurora kinase B. *Nature Communications* 査読有 3: 1072, 2012.
DOI: 10.1038/ncomms2074.

Nguyen MH, Ueda K, Nakamura Y, Daigo Y. Identification of a novel oncogene, MMS22L, involved in lung and esophageal carcinogenesis. *Int J Oncol* 査読有 41: 1285-1296, 2012.
DOI: 10.3892/ijo.2012.1589.

Tanikawa C, Espinosa M, Suzuki A, Masuda K, Yamamoto K, Tsuchiya E, Ueda K, Daigo Y, Nakamura Y, Matsuda K. Regulation of histone modification and chromatin structure by the p53-PADI4 pathway. *Nature Communications* 査読有 3: 676, 2012.
DOI: 10.1038/ncomms1676.

[学会発表](計4件)

醍醐 弥太郎、がんの分子病態研究に基づいた個別化医療開発、第761回千葉県がんセンター集談会(特別招演)、2013年12月17日、千葉

Yataro Daigo, Daiki Miki, Yusuke Nakamura. Genome-wide association study of lung cancer: Variation in TP63 gene confers the risk of lung adenocarcinoma. 103th AACR Annual meeting, 2012年04月02日~2012年04月02日、McCormick Place Convention Center (Chicago, USA)

Yataro Daigo, Yusuke Nakamura. VARIATION IN TP63 GENE CONFERS THE RISK OF LUNG ADENOCARCINOMA IN THE EAST ASIAN POPULATION. THE U.S.-JAPAN COOPERATIVE CANCER RESEARCH PROGRAM WORKSHOP (招待講演) 2011年10月25日、京都

Yataro Daigo, Yusuke Nakamura. Genome-wide association study of lung cancer: Association of variation in TP63 with lung adenocarcinoma susceptibility. 日本癌学会第70回総会(招待講演) 2011年10月5日 2011年10月5日、名古屋

〔図書〕(計3件)

醍醐 弥太郎、呼吸研究、呼吸、2013、
106

醍醐 弥太郎、日本臨床社、日本臨床、
2012、180

醍醐 弥太郎、ライフメディコム社、カ
レントセラピー 2011 90

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

醍醐 弥太郎 (DAIGO, Yataro)
滋賀医科大学・医学部・教授
研究者番号： 30345029

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：