

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）

(分担)研究報告書

網羅的なゲノム異常解析に基づく多段階発がん過程並びに

臨床病態の分子基盤の解明とその臨床応用に関する研究

研究分担者 稲澤謙治（東京医科歯科大学難治疾患研究所 教授）

研究要旨

各種がんにおける微細ゲノム構造異常やエピゲノム変化をゲノムワイドに検出し、これを網羅的発現解析データや特定の表現型と比較することで、新規のがん関連遺伝子を同定するとともに病態形成機構を解明し、個別化がん医療に資する診断、治療、予防の開発に資する成果を上げる。

A．研究目的

各種がんにおける微細ゲノム構造異常やエピゲノム変化をゲノムワイドに検出し、これを網羅的発現解析や特定の表現型（臨床情報、病理組織、各種がん細胞の特性など）と比較することで新規のがん関連遺伝子を同定し、さらに病態形成機構を明らかにすることにより、がんの診断、治療、予防の個別化に資する成果を上げることを目的とする。

B．研究方法

高精度ゲノム一次構造解析、エピゲノム解析、網羅的発現解析とそれらの応用技術を用いて、増殖、浸潤、転移、がん肝細胞性、さらに、上皮間葉転換（EMT）などの悪性度と密接に関わるがん特異的オミックス異常を明らかにする。特に悪性度の高い小児神経芽腫、甲状腺未分化がん、口腔がん、肝がんなどの生命予後が不良で有効な治療法が確立されていない難治がんを研究の主たる対象とする。これら難治がんにおいて、新規に見出された病型特異的な増幅や欠失、さらにがん特異的DNAメチル化などをランドマークに、がん抑制性マイクロRNAを含む新規がん関連遺伝子を同定し、がん悪性度診断のバイオマーカーや治療分子としての有用性を検討する。同定

したがん関連遺伝子の機能を解析し、その破綻によって起きるがん病態を解明し、がん個性化医療の実現に資するものとする。

（倫理面への配慮）研究は、「ヒトゲノム研究に関する基本原則」（科学技術会議生命倫理委員会）ならびに「遺伝子解析研究に付随する倫理問題等に対応するための指針」（厚生科学審議会先端医療技術評価部会）を遵守して遂行すると共に、東京医科歯科大学をはじめ共同研究施設の各機関に設置された倫理委員会の承認を得て実施されている。

C．研究結果

高精度ゲノム一次構造解析、エピゲノム解析、網羅的発現解析とそれらの応用技術に加えて、高スループットmiRNA機能アッセイ法を確立し、難治がんの統合的ゲノム・エピゲノム解析を実施することで、がん抑制性マイクロRNA（TS-miRNA）の複数を同定した。具体的には、新規TS-miRNAとして、肝がんのmiR-124, miR-203, miR-497, miR-195、子宮体がんのmiR-152、口腔癌のmiR-218などを同定した。また、400種類のmiRNAライブラリーを用いた機能アッセイより、EMT抑制性miRNAとしてmiR-655を同定した。さらに、がん関連のスト

レス応答性転写因子NRF2を標的とする4種のmiRNA (miR-507, -634, -450a, -129-5p) を同定した。それらの中で、miR-507 はNRF2関連がん化パスウェイを制御し、がん抑制に関わることを明らかにした。これらマイクロRNAは予後予測バイオマーカーやがん治療核酸薬としての応用が期待される。また、がん抑制遺伝子候補としてオートファジー関連分子LC3Av1を明らかにした。

D . 考察

今後、miRNA 研究が飛躍的に進展し、発がん・進展過程の新たな分子メカニズムの解明のみならず、miRNA の発現プロファイルやメチル化プロファイルによるがんの個別診断法や予後予測法の開発、あるいは新規抗がん剤としてのアンチセンス核酸医薬などへの臨床応用も期待される。

E . 結論

統合的ゲノム・エピゲノム解析と高スループットmiRNA 機能アッセイにより、種々の新規がん抑制マイクロRNA を同定した。がん個別化医療のバイオマーカーや分子標的治療法のシーズとして期待できる。

F . 健康危険情報

特になし

G . 研究発表

1 . 論文発表

1. Uno M, Saitoh Y, Mochida K, Tsuruyama E, Kiyono T, Imoto I, Inazawa J, Yuasa Y, Kubota T, Yamaoka S: NF- κ B Inducing Kinase, a Central Signaling Component of the Non-Canonical Pathway of NF- κ B,

Contributes to Ovarian Cancer Progression. PLoS One. 9:e88347. 2014

2. Takemura K, Kawachi H, Eishi Y, Kitagaki K, Negi M, Kobayashi M, Uchida K, Inoue J, Inazawa J, Kawano T, Board PG: γ -Glutamylcyclotransferase as a novel immunohistochemical biomarker for the malignancy of esophageal squamous tumors. Hum Pathol. 45:331-41. 2014
3. Dobashi Y, Sato E, Oda Y, Inazawa J, Ooi A: Significance of Akt activation and AKT gene increases in soft tissue tumors. Hum Pathol. 45:127-36. 2014
4. Yamamoto S, Inoue J, Kawano T, Kozaki K, Omura K, Inazawa J: The impact of miRNA-based molecular diagnostics and treatment of NRF2-stabilized tumors. Mol Cancer Res. 12:58-68. 2014
5. Low SK, Takahashi A, Ashikawa K, Inazawa J, Miki Y, Kubo M, Nakamura Y, Katagiri T: Genome-wide association study of breast cancer in the Japanese population. PLoS One. 8:e76463. 2013
6. Yamamoto Y, Konishi H, Ichikawa D, Arita T, Shoda K, Komatsu S, Shiozaki A, Ikoma H, Fujiwara H, Okamoto K, Ochiai T, Inoue J, Inazawa J, Otsuji E: Significance of GSTP1 for predicting the prognosis and chemotherapeutic efficacy in esophageal squamous cell carcinoma. Oncol Rep. 30:1687-94. 2013
7. Harazono Y, Muramatsu T, Endo H, Uzawa N, Kawano T, Harada K, Inazawa J, Kozaki K: miR-655 is an EMT-suppressive microRNA targeting ZEB1 and TGFBR2. PLoS One. 8:e62757. 2013

8. Furuta M, Kozaki K, Tanimoto K, Tanaka S, Arii S, Shimamura T, Niida A, Miyano S, Inazawa J: The tumor-suppressive miR-497-195 cluster targets multiple cell-cycle regulators in hepatocellular carcinoma. PLoS One. 8:e60155. 2013
2. 学会発表
1. 永田啓明、小崎健一、谷本幸介、藤原直人、井元清哉、市川大輔、宮野悟、河野辰幸、大辻英吾、稲澤譲治：食道扁平上皮癌におけるリンパ節転移予測マーカー同定を目指した網羅的 DNA メチル化探索 .第 72 回日本癌学会学術総会 .パシフィコ横浜 . 神奈川 . 2013 年 10 月 3 日
 2. 岩館怜子、井上純、青木大輔、稲澤譲治：オートファジー障害を持つ癌細胞における化合物スクリーニング .第 72 回日本癌学会学術総会 .パシフィコ横浜 .神奈川 . 2013 年 10 月 3 日
 3. 山本信祐、井上純、河野辰幸、小崎健一、小村健、稲澤譲治：NRF2 活性化癌に対する MicroRNA を基盤とした診断・治療 .第 72 回日本癌学会学術総会 .パシフィコ横浜 . 神奈川 . 2013 年 10 月 4 日
 4. Michelle Nuylan、井上純、河野辰幸、稲澤譲治：食道癌における LAPTM5 遺伝子の発現低下 .第 72 回日本癌学会学術総会 .パシフィコ横浜 . 神奈川 . 2013 年 10 月 4 日
 5. 山本正樹、西村純一、林深、大屋敷一馬、安藤潔、野地秀義、北村邦朗、衛藤徹也、安藤寿彦、増子正義、七島勉、柴山浩彦、長谷昌知、稲澤譲治、木下タロウ、金倉讓：Inherent resistance to eculizumab in PNH. 第 75 回日本血液学会学術総会 .さっぽろ芸文館北海道 2013 年 10 月 13 日
 6. 森田圭一、松川祥、原田浩之、島本裕彰、富岡寛文、田中香衣、林深、小崎健一、稲澤譲治、小村健：口腔扁平上皮癌患者のゲノム構造異常解析による治療抵抗性予測 . 第 51 回日本癌治療学会学術集会 . 国立京都国際会館 . 京都 . 2013 年 10 月 24 日
 7. Daniela Tiaki Uehara、林深、井本逸勢、蒔田芳男、羽田明、稲澤譲治：SNP arrays analysis of 432 patients with intellectual disability and multiple congenital anomalies of unknown etiology. 日本人類遺伝学会第 58 回大会 .江陽グランドホテル . 宮城 . 2013 年 11 月 22 日
 8. 林深、岡本伸彦、高梨潤一、稲澤譲治：小脳脳幹部低形成(MICPCH)の原因となる多彩な病態の探索 . 日本人類遺伝学会第 58 回大会 .江陽グランドホテル .宮城 . 2013 年 11 月 23 日
- (国内：ポスター)
1. 森田圭一、松川祥、原田浩之、中島雄介、島本裕彰、富岡寛文、田中香衣、林深、小崎健一、稲澤譲治、小村 健：口腔扁平上皮癌患者のゲノム構造異常解析による治療抵抗性予測 .第 37 回日本頭頸部癌学会 . 京王プラザホテル . 東京 . 2013 年 6 月 14 日
 2. 土橋洋、小田義直、稲澤譲治、大井章史：骨軟部腫瘍における Akt の活性化と遺伝子増加の意義 .第 72 回日本癌学会学術総会 .パシフィコ横浜 . 神奈川 . 2013 年 10 月 3 日
 3. 村松智輝、小崎健一、井元清哉、山口類、宮野悟、稲澤譲治：口腔がん細胞株に認められた 19 番染色体の増幅領域に座位する遺伝子は、Rho シグナル経路を介して転移に寄与している可能性がある . 第

- 72 回日本癌学会学術総会 . パシフィコ横浜 . 神奈川 . 2013 年 10 月 3 日
- 2010-035447
(海外)
4. 藤原直人、井上純、河野辰幸、小崎健一、稲澤讓治 : 複数癌腫における、MicroRNA-634 による細胞死誘導機構 . 第 72 回日本癌学会学術総会 . パシフィコ横浜 . 神奈川 . 2013 年 10 月 5 日
 5. 森田圭一、谷本幸介、林深、小崎健一、稲澤讓治、小村健 : 次世代シーケンサーを用いた Gorlin 症候群患者における hedgehog pathway のゲノム解析 . 第 58 回日本口腔外科学会学術総会 . 福岡国際会議場・マリノメッセ福岡 . 福岡 . 2013 年 10 月 12 日
 6. 森田圭一、谷本幸介、林深、小崎健一、稲澤讓治、小村健 : 次世代シーケンサーを用いた Gorlin 症候群患者における hedgehog pathway のゲノム解析 . 日本人類遺伝学会第 58 回大会 . 江陽グランドホテル . 宮城 . 2013 年 11 月 22 日
1. 2013/11/27 特許第 2253720 号 ; 発明者、稲澤讓治、井本逸勢、小松周平、小崎健一、津田均 ; 特許名、食道癌の検出方法及び抑制方法 ; 2010/3/25 出願番号 10157735.1 ; 出願人、東京医科歯科大学、富士フイルム株式会社 ; 特許公開 EP2253720
 2. 2013/7/17 ZL200980130226.0 ; 発明者、稲澤讓治、井本逸勢、林深、会津善紀 ; 特許名、先天性異常症の染色体欠失の検出方法 ; 2009/7/30 出願番号 PCT/JP2009/063900 ; 出願人、東京医科歯科大学、株式会社ビー・エム・エル、富士フイルム株式会社 ; 特許公開 WO2010/013842
- 2 . 実用新案登録
 - 3 . その他

G . 知的財産権の出願・登録状況

1 . 特許取得

(国内)

1. 2013/6/14 特許第 5288456 号 ; 発明者、稲澤讓治、井本逸勢、中村恵理奈、津田均 ; 特許名、口腔扁平上皮癌の検出方法 ; 2008/8/8 特願 2008-205138 ; 出願人、東京医科歯科大学、富士フイルム株式会社 ; 特許公開 2010-035525
2. 2013/8/2 特許第 5331404 号 ; 発明者、稲澤讓治、井本逸勢、林深、会津善紀 ; 特許名、先天性異常症の染色体欠失の検出方法 ; 2008/8/1 特願 2008-199541 ; 出願人、東京医科歯科大学、株式会社ビー・エム・エル、富士フイルム株式会社 ; 特許公開