

の5例の生検組織を抗IgG4抗体染色し、同様の所見を得ることを見出し、2004年と2005年に報告をした²¹³⁾。

当時、シェーグレン症候群に自己免疫性膵炎を合併することがあるといわれていた。しかしわれわれはそれを「シェーグレン症候群」ではなく、「ミクリッツ病」であろうと考えていた。2005年にわれわれは自己免疫性膵炎を合併したミクリッツ病の症例を直接経験し、詳細な検討を加え、症例報告した⁴⁾。

その後、関連施設および当院耳鼻咽喉科の水見教授らのご協力を得て、さらに症例を集積し、ミクリッツ病には、多様な合併症を認めることが判明した⁵⁾。

このことから、「ミクリッツ病」は、従来包括されていた「シェーグレン症候群」とは明らかに異なり、IgG4をキーワードとした全身疾患の一部であることがわかり、2006年に「ミクリッツ病」の疾患独立性を提唱した⁶⁾。

その後、わが国から、これらの全身性病態に対し、さまざまな疾患名が提唱された。われわれもSIPS (Systemic IgG4-related plasmacytic syndrome) という病名を提唱した。2009年に組織された厚生労働省の研究班において協議のうえ、2010年に「IgG4関連疾患 (IgG4-related disease)」という疾患名に統一され、2011年には厚生労働省のもと、包括診断基準が作成された。国際的にも徐々に認知されるようになり、とくに国際シェーグレン症候群シンポジウムでは2009年の第10回⁷⁾以降、3回連続で当科の高橋医師 (准教授) が紹介の機会を得ており、2014年の米国リウマチ学会 (ポストン) においても口演を予定している。

さらに、われわれは集積した症例をデータベース化し、さまざまな臨床的事項を検討した⁸⁾。

①さまざまなリウマチ性疾患における血清IgG4濃度を検討し、高IgG4血症は血管炎、キャッスルマン病などでも高値を示し鑑別を要する⁹⁾。

②IgG4関連疾患には悪性腫瘍の合併が多い可能性がある¹⁰⁾。

③IgG4関連疾患が再燃を呈する場合、半数は初診時とは異なる臓器病変で再燃する¹¹⁾。

④IgG4関連疾患における早期治療介入の必要性を指摘¹²⁾。

⑤治療開始前における再燃予測因子を同定¹³⁾。

われわれは検討してきたIgG4関連疾患における臨床的知見、またわが国が進めてきた病態の解析結果を、*Nature Reviews Rheumatology*にて概説している¹⁴⁾。

この疾患には、まだまだ不明な点が多く、研究を必要とする。多くの読者諸氏にこの点の解明を期待したい。

謝 辞

われわれのIgG4関連疾患の発見に関連する軌跡はこのような形になる。このあいだに、金沢医科大学血液免疫内科学元教授の菅井進先生 (日本シェーグレン症候群研究会の元代表世話人)、筑波大学内科教授の住田孝之先生 (日本シェーグレン症候群学会理事長)、北海道大学第二内科前教授の小池隆夫先生 (日本リウマチ学会元理事長)、同現教授の渥美達也先生、京都大学内科教授の千葉勉先生をはじめ、多くの先生方のご支援・ご協力をいただいた。この場をお借りして、厚く御礼申し上げたい。

文 献

- 1) 山本元久ほか：リンパ腫様の全身リンパ節と涙腺・唾液腺腫脹を呈し、ステロイドが奏効した男性シェーグレン症候群の1例。日本臨床免疫学会誌 23 : 22-29, 2000
- 2) Yamamoto M *et al*: Elevated IgG4 concentrations in serum of patients with Mikulicz's disease. *Scand J Rheumatol* 33: 432-433, 2004
- 3) Yamamoto M *et al*: Clinical and pathological differences between Mikulicz's disease and Sjögren's syndrome. *Rheumatology* (Oxford) 44 : 227-234, 2005 (山本医師の学位論文)
- 4) 山本元久ほか：ステロイド療法により耐糖能障害の改善を認めた自己免疫性膵炎合併 Mikulicz 病の1例。日本臨床免疫学会

会誌 28 : 349-356, 2005

- 5) Yamamoto M *et al* : A case of Mikulicz's disease (IgG4-related plasmacytic disease) complicated by autoimmune hypophysitis. *Scand J Rheumatol* 35 : 410-411, 2006 (ミクリッツ病に下垂体炎を合併したはじめての症例報告)
- 6) Yamamoto M *et al* : A new conceptualization for Mikulicz's disease as an IgG4-related plasmacytic disease. *Mod Rheumatol* 16 : 335-340, 2006
- 7) Takahashi H *et al* : The birthday of a new syndrome : IgG4-related diseases constitute a clinical entity. *Autoimmun Rev* 9 : 591-594, 2010
- 8) Yamamoto M *et al* : Everyday clinical practice in IgG4-related dacryoadenitis and/or sialadenitis : results from the SMART database. *Mod Rheumatol*, 2014 [Epub ahead of print]
- 9) Yamamoto M *et al* : Value of serum IgG4 in the diagnosis of IgG4-related disease and in differentiation from rheumatic diseases and other diseases. *Mod Rheumatol* 22 : 419-425, 2012
- 10) Yamamoto M *et al* : Risk of malignancies in IgG4-related disease. *Mod Rheumatol* 22 : 414-418, 2012
- 11) Yamamoto M *et al* : Relapse patterns in IgG4-related disease. *Ann Rheum Dis* 71 : 1755, 2012
- 12) Shimizu Y *et al* : Necessity of early intervention for IgG4-related disease--delayed treatment induces fibrosis progression. *Rheumatology (Oxford)* 52 : 679-683, 2013
- 13) Yamamoto M *et al* : Identification of relapse predictors in IgG4-related disease using multivariate analysis of clinical data at the first visit and initial treatment. *Rheumatology (Oxford)*, 2014 [Epub ahead of print]
- 14) Yamamoto M *et al* : Mechanisms and assessment of IgG4-related disease : lessons for the rheumatologist. *Nat Rev Rheumatol* 10 : 148-159, 2014

実験医学

www.yodosha.co.jp/jikkenigaku/

2014 Vol.32 No.19

12

特集

原因か？ 結果か？

がんのエピゲノム異常

環境因子による発がんメカニズムの 理解からエピゲノム創薬へ

▶企画/鈴木 拓, 今井浩三

■概論—がんエピゲノム異常を理解し、応用し、そして制御するために ▶鈴木 拓, 今井浩三 ■国際ヒトエピゲノムコンソーシアム (IHEC) の展開 ▶金井弥栄, 新井恵史 ■がんエピゲノムに対する分子病理疫学的アプローチ ▶須河恭敬, 荻野周史 ■がんエピゲノムと non-coding RNA の接点 ▶丸山玲緒 ■エピゲノム診断が可能にするがんの個別化医療 ▶牛島俊和, 岸野貴賢 ■エピゲノム異常を標的としたがん治療 ▶市村典久, 近藤 豊 ■リプログラミング技術を用いたがんエピゲノム研究 ▶蟬 克憲, 山田泰広

連載

Update Review
明らかになってきたCALHMチャネルの構造と機能
私のメンター
Mark E. Ewen—若きPIの苦悩



生理学・医学賞

脳内の空間表象を司る神経細胞の発見

化学賞

超解像蛍光顕微鏡法の開発

羊土社



概論

がんエピゲノム異常を理解し、 応用し、そして制御するために

鈴木 拓, 今井浩三

発がんは、ゲノムおよびエピゲノム情報に異常が蓄積することで、段階的に進むと考えられている。近年のテクノロジーの進歩により、ヒトゲノムに続いてヒトエピゲノムの全体像も明らかにされようとしており、疾患エピゲノム研究は新たなステージに突入しつつある。エピゲノム異常の解明を通して、新たながんの予防・診断・治療戦略につなげる研究がますます重要になる。また究極的には、エピゲノムを制御し修復する技術が開発されることを期待したい。本特集では、がんエピゲノムの理解と、その応用や制御を目指した研究の最先端を紹介したい。

はじめに

がんは遺伝子異常の蓄積が原因で起こるとされる。これまでRasやSrcなどの多くのがん遺伝子が同定され、次いでRB、APC、p53などががん抑制遺伝子の変異が発見され、2ヒット説^{※1}や多段階発がん説^{※2}の正しさが、臨床がんおよびモデル動物の解析からほぼ証明されている。しかし一方で、ゲノムDNAの塩基配列の変化を伴わずに遺伝子発現に影響を与えるエピジェネティックな異常もまた、発がんにとって重要であることがわかってきた。当初、DNAメチル化異常の発見からはじまったがんエピジェネティクス研究も、近年ではヒストン、クロマチン、そしてnon-coding RNAとその対象範囲が広がっている。さらに近年のゲノム解析技術の進歩に伴って、がんエピゲノムの全体像を理解し、それを応用・制御するための研究が世界中で行われている。

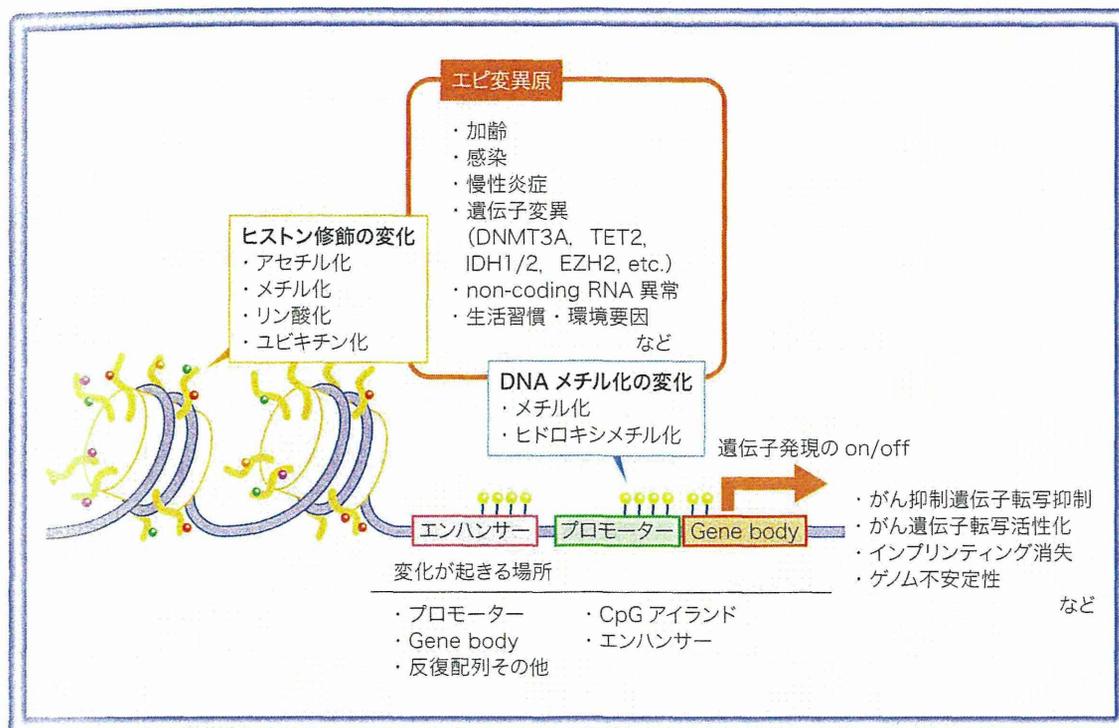
1 がんエピゲノム異常の概観 (概念図1)

① DNAメチル化異常

がんのエピゲノム異常として最も広く知られているのがDNAメチル化異常であるが、最初に発見されたのはがん細胞ゲノムにおける5-メチルシトシン量の低下、すなわちDNAの低メチル化(Hypomethylation)であった¹⁾。次いで1989年、プロモーター領域の高メチル化(Hypermethylation)によるがん抑制遺伝子の転写抑制がはじめて報告されたが、それは奇し

Unraveling the cancer epigenome for its clinical application and targeted therapy

Hiromu Suzuki¹⁾/Kohzoh Imai²⁾ : Department of Molecular Biology, Sapporo Medical University School of Medicine¹⁾/Center for Medical Innovation, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo²⁾ (札幌医科大学医学部分子生物学講座¹⁾/東京大学医科学研究所医療イノベーション推進室²⁾)



概念図1 がん細胞におけるエピゲノム異常

エピゲノム異常発生には多くの要因が関与すると考えられており、それがDNAメチル化やヒストン修飾などに多様な変化をひき起こす。それが遺伝子発現制御の異常のみならず、ゲノム不安定性にもつながる。

くも最初に同定されたがん抑制遺伝子RBの網膜芽細胞腫におけるメチル化であった。以後、p16、E-cadherin、MLH1など、がん抑制遺伝子のプロモーター領域におけるCpGアイランド高メチル化が次々と発見され、2ヒット説におけるがん抑制遺伝子不活性化のメカニズムの一つとして広く知られるようになった。その後の網羅的なDNAメチル化解析法の発達に伴い、がん細胞では数百あるいはそれ以上のCpGアイランドが高メチル化されることが明らかにされた。現在がんのDNAメチル化異常には、ゲノムワイドな低メチル化と、CpGアイランド領域の局所的な高メチル化の二面性があることがわかっている。低メチル化はインプリンティング遺伝子や組織特異的遺伝子、レトロトランスポゾンなど、本来メチル化によって発現抑制されるべき領域の転写を活性化することで、がん遺伝子の活性化や染色体不安定性を誘発すると考えられている。CpGアイランドの高メチル化も、ほぼあらゆる臓器の腫瘍に

※1 2ヒット説

発がんには、がん抑制遺伝子の対立遺伝子の両方が変異あるいは欠失などにより機能を失う必要があるとする説。Knudsonにより提唱され、網膜芽細胞腫の原因遺伝子RBの発見によって証明された。

※2 多段階発がん説

発がんは、複数の遺伝子が順次異常を起こすことで段階的に発生するとする説。よく知られている大腸がんのモデルでは、APC変異、KRAS変異、p53変異と遺伝子異常が蓄積することで、腺腫、早期がん、進行がんと段階的に進むとされる。

みられる現象であるが、特に CpG アイランドメチル化を多発する一群がさまざまながん種で確認され、CpG island methylator phenotype (CIMP) とよばれている。

DNAメチル化異常の発生要因として、加齢および慢性炎症が多くの研究者により指摘されており、例えばヘリコバクターピロリ胃炎やB型・C型肝炎など、前がん状態となりうる慢性炎症ではDNAメチル化異常がしばしばみられる。また近年、TETファミリーがメチル化シトシンをヒドロキシメチル化シトシンに変換することでDNA脱メチル化酵素として機能することが明らかになり、さらに骨髄系腫瘍における *TET2* 遺伝子変異が相次いで報告されたことから大きく注目を集めた²⁾。またグリオーマでは、変異型のIDH (NADP依存性イソクエン酸脱水素酵素)により産生される2-ヒドロキシグルタル酸がTETファミリーを阻害することで、CIMP獲得につながることを示された³⁾。他のがん種におけるTETおよびヒドロキシメチル化の役割についても多くの研究者が注目しており、精力的に研究が進められている。また、DNAメチル基転移酵素3A型(DNMT3A)が血液腫瘍において高頻度に変異することが知られており、最近ではDNMT3A変異が低メチル化の原因となりうるという実験結果が報告されている⁴⁾。

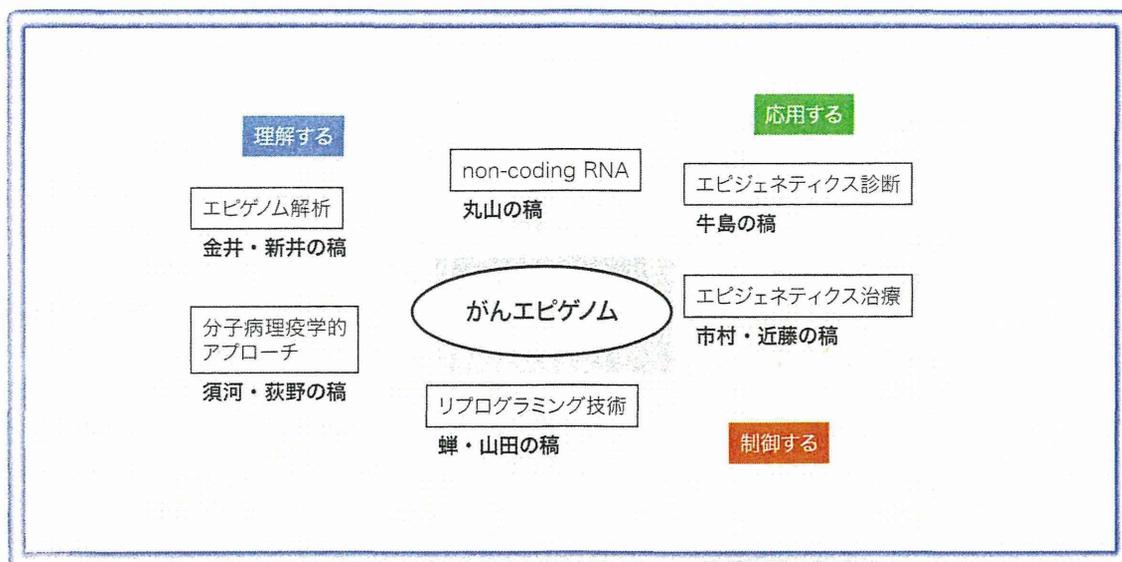
② ヒストン修飾異常

アセチル化、メチル化、リン酸化、ユビキチン化など多彩な修飾を受けるヒストンもまた、がんエピゲノム異常における重要なファクターである⁵⁾。ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害剤の抗腫瘍作用はよく知られており、またメチル化したCpGアイランドではヒストンが脱アセチル化されてヘテロクロマチン状態となること、そしてDNMT阻害剤とHDAC阻害剤が相乗的にCpGアイランドメチル化による遺伝子サイレンシングを解除することが知られている。さらに近年では、ヒストンの特定の化学修飾が遺伝子転写制御のマークとして機能するというヒストンコード説が提唱され、がんヒストンコード異常とのかかわりが大きくクローズアップされた。例えば転写抑制のマークであるヒストンH3リジン9(H3K9)やH3K27のメチル化はがん関連遺伝子のサイレンシングに重要であり、CpGアイランドメチル化ともかかわることが明らかにされている。H3K27メチル化酵素であるEZH2はさまざまながんにおいて過剰発現しており、後述のように重要な治療標的候補である。また近年、ヒストンバリエントが遺伝子発現制御に重要な役割を担うというヒストンバーコード説が提唱されており、最近では小児グリオーマにおいて、ヒストンH3.3の遺伝子変異がゲノム全体のH3K27メチル化を大きく低下させるという知見も報告されている⁶⁾。

2 がんエピゲノムを理解する(概念図2)

① エピゲノムマッピング

疾患エピゲノム研究では標準エピゲノム情報の整備が必要不可欠であるが、エピゲノムがカバーする範囲はDNAメチル化やさまざまなヒストン修飾など多岐にわたり、しかも臓器や細胞系列ごとに多様であるため、その全容を明らかにするには膨大な労力を要する。現在、国際ヒトエピゲノムコンソーシアム(IHEC)により標準ヒトエピゲノムマッピングの作業が進められており、これによりがんエピゲノム研究は新たな段階に入るであろう。ゲノム・エピゲノム・トランスクリプトームなどの多層オミクス解析による研究の加速が期待される(金井・新井の稿)。



概念図2 がんエピゲノム研究の展開

② 分子病理疫学的アプローチ

がんにおいてエピゲノム異常を来たす遺伝子はきわめて多種多様であり、たとえば CpG アイランドメチル化を受ける遺伝子は一つのがん細胞あたり数百以上に及ぶ。それらエピゲノム異常の臨床病理学的な意味を明らかにすることが臨床応用にとって重要である。例えば、大腸がんは大きく分けて染色体不安定性を示す群と、マイクロサテライト不安定性 (MSI) を示す群に分けられ、CIMP 陽性がんは MSI 陽性群と大きくオーバーラップする。また CIMP 陽性かつ MSI 陽性の大腸がんは、BRAF 変異を高率に示すことが知られている。一般に、MSI 陽性がんは大腸がんのなかでも比較的予後良好とされる一方で、BRAF 変異は大腸がんの予後不良因子として知られる。では CIMP 陽性がんの予後はというと、研究者によっては異なる結果が報告されている。分子メカニズムの解明が最も進んでいるとされる大腸がんでは、臨床病理学的因子との相関はクリアカットではないことが多く、大規模な分子病理疫学的 (MPE) アプローチによる研究が重要となる (須河・荻野の稿)。

③ non-coding RNA とがんエピゲノム

近年、タンパク質をコードしない RNA (non-coding RNA) が、生理的および病的に重要な役割を担っていることが明らかにされつつある。特に研究が進んでいるのが microRNA (miRNA) である。がん細胞では miRNA 発現プロファイルが大きく変化しており、がん遺伝子あるいはがん抑制遺伝子的に機能する miRNA が多数存在することがわかっている。がんエピゲノム異常にかかわる miRNA も報告されており、例えば EZH2 を標的とする miR-101 をコードする遺伝子は前立腺がんにおいて高頻度に欠失しており、EZH2 過剰発現の原因となる⁷⁾。また近年では、長鎖非コード RNA (long non-coding RNA : lncRNA) とエpiジェネティクスのリンクがクローズアップされてきた。クロマチン制御因子や転写因子と結合することで、標的遺伝子をエpiジェネティックに制御する lncRNA が複数発見されており、がんエピゲノム異常メカニズムの解明や新たな治療戦略につながることを期待される分野である (丸山の稿)。

3 がんエピゲノムを応用し、制御する (概念図2)

① エピゲノム情報に基づくがん診断

エピゲノム異常、特にDNAメチル化は、バイオマーカーとしていくつもの利点がある。まず、変異と比べて影響を受ける遺伝子が多種多様であり、前述のように数百あるいはそれ以上の遺伝子がDNAメチル化異常を受けうる。そのため、発がんリスク予測、早期発見、予後予測、治療感受性予測など、それぞれに適した遺伝子を用いることで幅広い応用が期待される。またDNAメチル化異常は遺伝子発現と比べて変動が少なく、かつ化学的に安定していることから、再現性が高いと考えられる。しかしmethylation-specific PCR (MSP) やバイサルファイトシークエンス法など、現在広く行われている解析法には、バイサルファイト (重亜硫酸ナトリウム) による化学処理が必要であるなど、技術面やコスト面において解決しなくてはならない課題も残されている。DNAメチル化の診断応用を目指した研究報告は盛んに行われており、検査キットとして実用化されたものもある。今後のさらなる発展や改良が期待される (牛島・岸野の稿)。

② エピゲノムを標的としたがん治療

ゲノム異常とエピゲノム異常の最も大きな違いの一つはエピゲノムの可塑性であり、DNMT阻害剤やHDAC阻害剤の血液腫瘍などへの有用性が確認されている。また新たなエピジェネティック薬剤も世界中で開発が進められている。例えばEZH2は前立腺がんや乳がんなど多くのがんで発現亢進がみられ、最近ではびまん性大細胞型B細胞性リンパ腫において活性型の変異が発見されたことから、世界中でEZH2を標的とする治療薬の開発が進められている。またヒストンコード説に基づく転写制御では、コードを書き込むwriter (ヒストンアセチル化酵素やメチル化酵素など)、コードを消去するeraser (ヒストン脱アセチル化酵素や脱メチル化酵素など) の他に、コードを認識するreaderの三者が重要である。近年、アセチル化ヒストンのreaderであるBET (bromodomain and extra C-terminal domain) ファミリータンパク質に対する特異的阻害剤が、新たなエピゲノム治療薬として注目されている (市村・近藤の稿)。

③ がんエピゲノムと幹細胞エピゲノム

がん細胞のエピゲノムと、幹細胞のエピゲノムには興味深いつながりがあることが知られている。胚性幹細胞 (ES細胞) では、分化に重要な遺伝子のプロモーターは転写活性型のヒストン修飾であるH3K4トリメチル化と、転写抑制型の修飾であるH3K27トリメチル化が同時にみられる、いわゆるバイバレントな状態にある。ES細胞においてH3K27トリメチル化を受けうる遺伝子、なかでもバイバレントな遺伝子は、がん細胞においてCpGアイランドメチル化を受けやすいことから、ES細胞のヒストン修飾が、がん化過程におけるDNAメチル化異常の目印となっている可能性が示されている⁸⁾。また近年では、iPS細胞で培われたリプログラミング技術をがん細胞に応用する試みや、リプログラミング技術を応用した発がんモデルの研究から興味深い結果が報告されている。これらの研究が発展すれば、エピゲノムのリプログラミングによるがん予防や治療が可能になるかもしれない (蟬・山田の稿)。

■ おわりに

がん抑制遺伝子の CpG アイランドメチル化が発見され、CIMP が提唱された 1990 年代後半、メチル化異常がなぜ起こるのかという問いにわれわれはほとんど答えを持ち合わせていなかった。しかし今、がんのオミクス研究の進展に伴い、エピゲノム異常のメカニズムを分子レベルで語るができる時代に突入したといえる。がん細胞においてゲノムとエピゲノムは合わせ鏡のようであり、お互いに密接な関係にある。遺伝子変異がしばしばエピゲノム異常の引き金となり、また逆にエピゲノム異常がゲノム不安定性を促すことが明らかにされてきた。翻って、エピゲノムの診断・治療への応用はまだはじまったばかりであり、実用化に向けてさらなる基礎研究およびトランスレーショナル研究が必要である。本特集では、これらの課題に第一線で取り組む研究者に寄稿をいただくことができた。また究極の目標であるエピゲノム制御についても、non-coding RNA やリプログラミング研究から新たな展開が期待されるところである。

文献

- 1) Feinberg AP & Tycko B : Nat Rev Cancer, 4 : 143-153, 2004
- 2) Shih AH, et al : Nat Rev Cancer, 12 : 599-612, 2012
- 3) Turcan S, et al : Nature, 483 : 479-483, 2012
- 4) Russler-Germain DA, et al : Cancer Cell, 25 : 442-454, 2014
- 5) Dawson MA & Kouzarides T : Cell, 150 : 12-27, 2012
- 6) Lewis PW, et al : Science, 340 : 857-861, 2013
- 7) Varambally S, et al : Science, 322 : 1695-1699, 2008
- 8) Ohm JE, et al : Nat Genet, 39 : 237-242, 2007

参考図書

- 「エピゲノムの本質はヒストンバリエーションにあった！」(胡桃坂仁志/企画), 実験医学 Vol.32 No.11, 2014
 「個別化医療を拓くがんゲノム研究」(柴田龍弘/編集), 実験医学増刊号 Vol.32 No.12, 2014

Profile

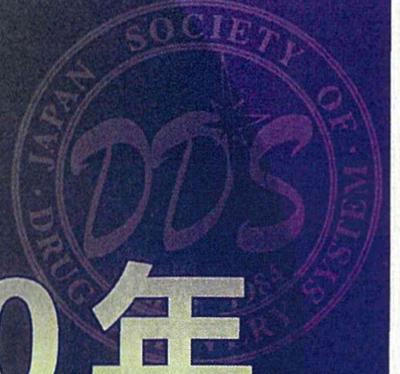
著者プロフィール

鈴木 拓：1995年、札幌医科大学卒業。2000年、博士（医学）。その後 Johns Hopkins 大学 Sydney Kimmel Comprehensive Cancer Center (Stephen Baylin 教授) に留学。'04年より札幌医科大学医学部公衆衛生学講座助手、同内科学第一講座助教。同分子生物学講座助教を経て、'11年より同教授。がんエピジェネティクスを通して基礎と臨床をつなぐ研究を目指している。

今井浩三：1976年、札幌医科大学大学院修了。米国 NIH、英国ケンブリッジ大留学を経て、'94年に同第一内科教授。2004年、札幌医科大学学長、'07年より同学長・理事長。'10年、東京大学医科学研究所病院長。'14年より現職（東京大学医科学研究所医療イノベーション推進室室長）。一貫してがん免疫およびがん分子異常について研究、新しい診断・治療を追究している。

PHARM TECH
JAPAN

Vol.31 No.2 2015 臨時増刊号



DDS 研究 30 年

日本 DDS 学会編

温
故
知
新

日本 DDS 学会創立 30 周年記念出版

30TH ANNIVERSARY EDITION OF
THE JAPAN SOCIETY OF
DRUG DELIVERY SYSTEM

じほう