

発がんに関わる新規長鎖非コード RNAを標的とした治療法の開発

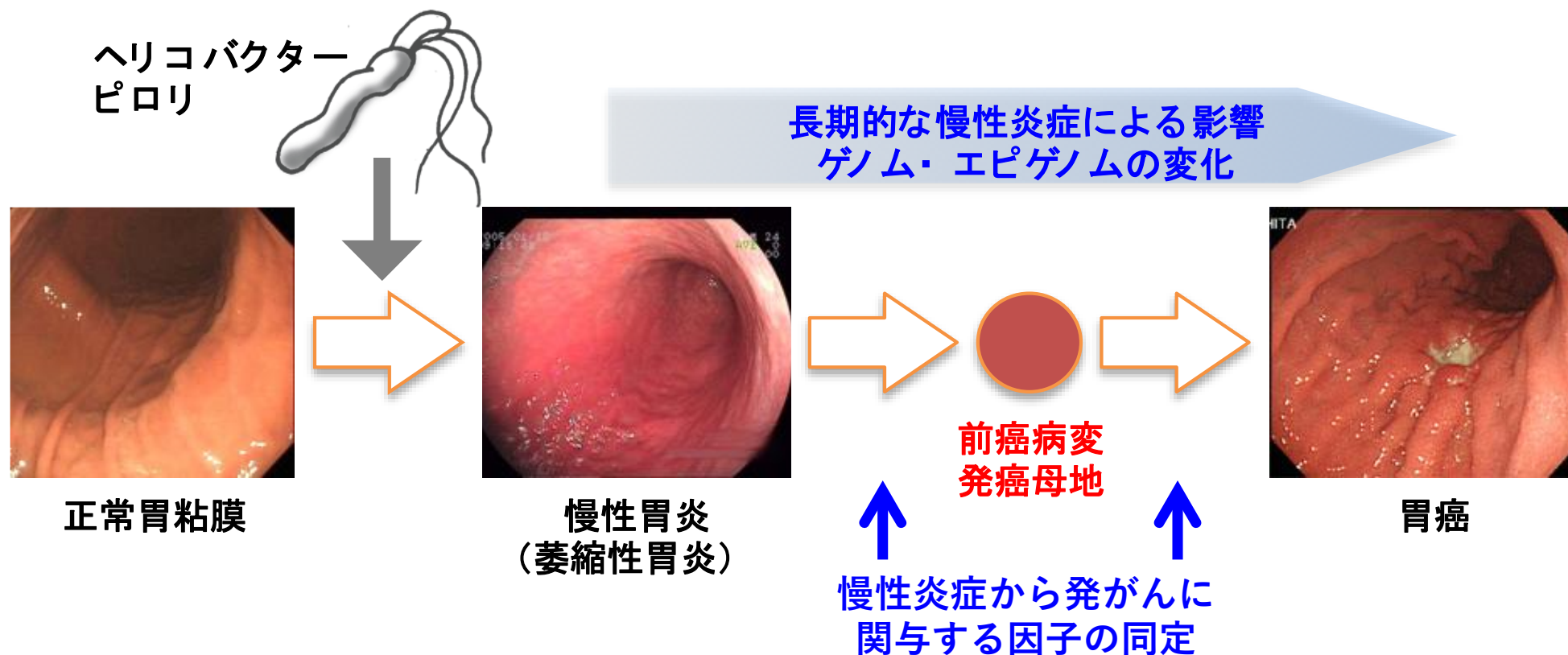
札幌医科大学 医学部 分子生物学講座

助教 北嶋 洋志

2021年11月18日

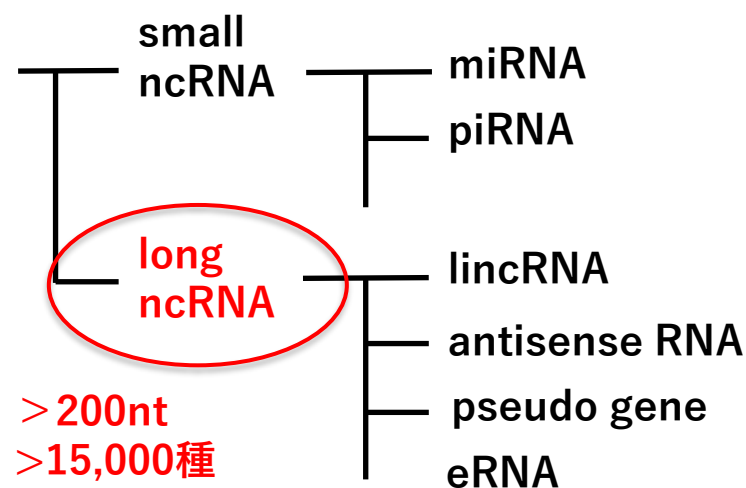
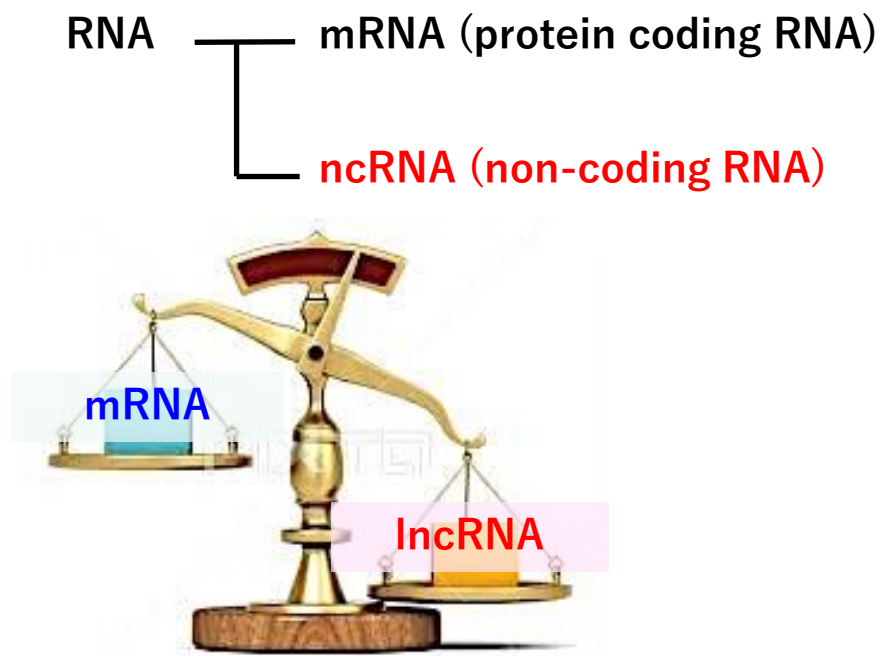
慢性炎症と発がんに関連するlncRNAの同定とその機能解明

1. ピロリ菌感染による慢性炎症は、胃発がんの素地を形成する。
2. 分子レベルの解析にあたり長鎖非コード RNA (long non-coding RNA, lncRNA)に着目した



lncRNAは生命現象に重要な役割を担う

- タンパク質に翻訳されない200塩基以上の長さをもつRNA
- 細胞分化や疾患（がん、心疾患、神経変性疾患など）など、様々な生命現象に関与
- 発現様式に組織特異性や疾患特異性が見られる
- その多くはまだ機能が不明



胃がん患者の胃粘膜で転写活性化しているlncRNAの同定

胃がん患者と健常人の胃粘膜を対象にエピゲノム解析を行い、胃がん患者特異的なlncRNAとしてTM4SF1-AS1を同定した。

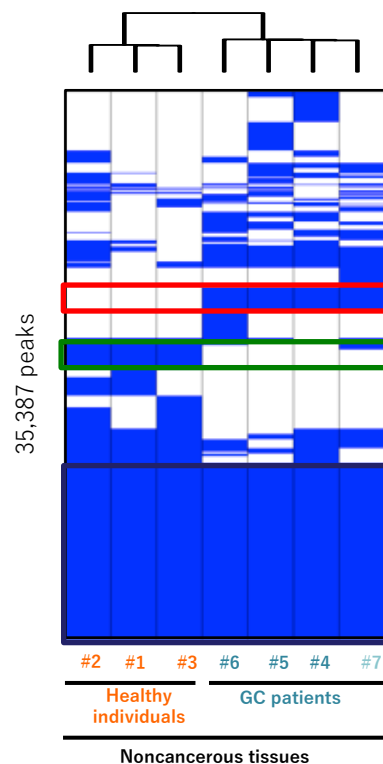
1. 健常者と癌患者の背景粘膜のヒストン修飾(H3K4me3)の比較



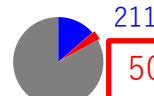
VS



2. H3K4me3 プロファイル (ChIP-Seq法)



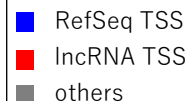
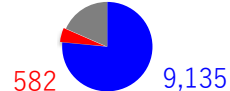
Up-regulated (1,512)



Down-regulated (3140)

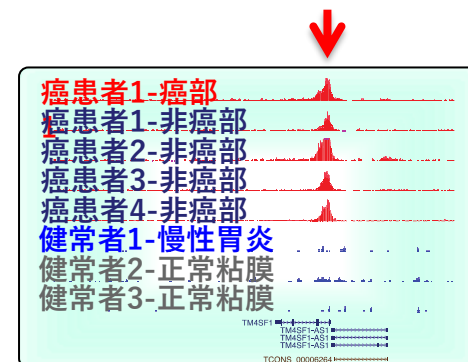


Unchanged (11,398)



3. 遺伝子アノテーション

H3K4me3による転写開始点の活性領域の一例

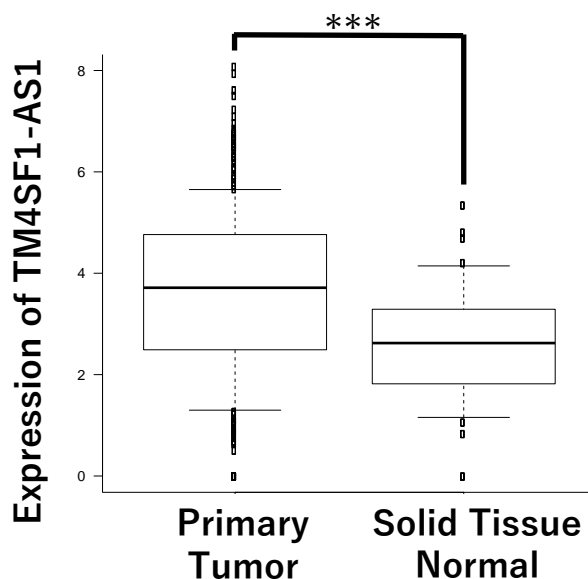


TM4SF1-AS1

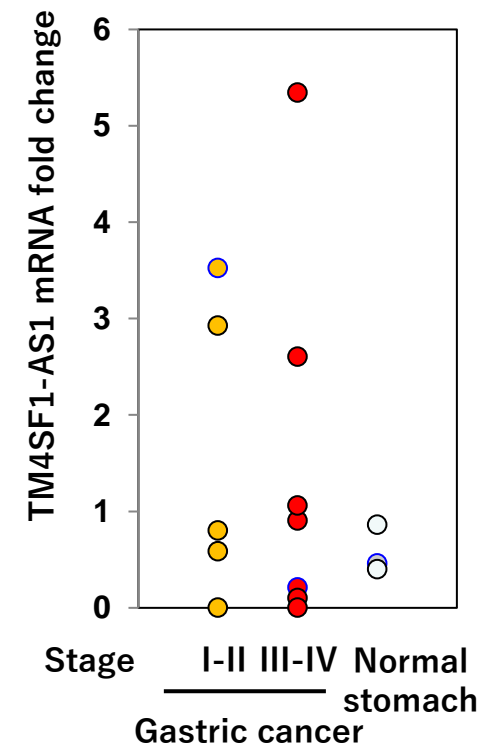
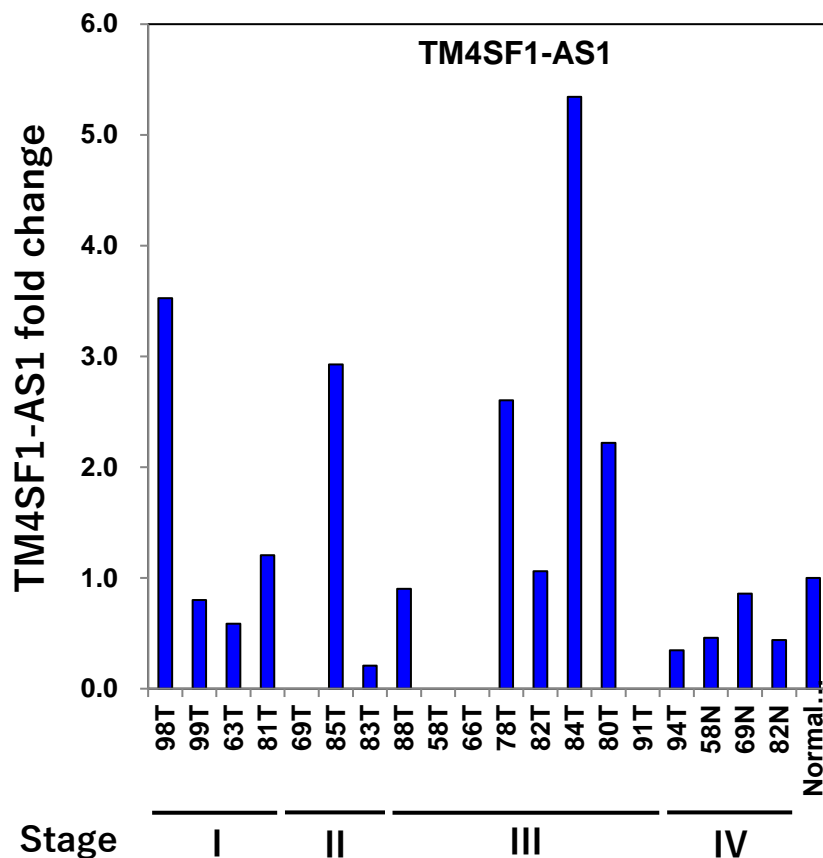
ヒストンH3K4me3 : 転写開始点の活性化マーカー

胃がん臨床検体においてTM4SF1-AS1の発現は亢進する

1. 公共データベース (TCGA, TARGET)



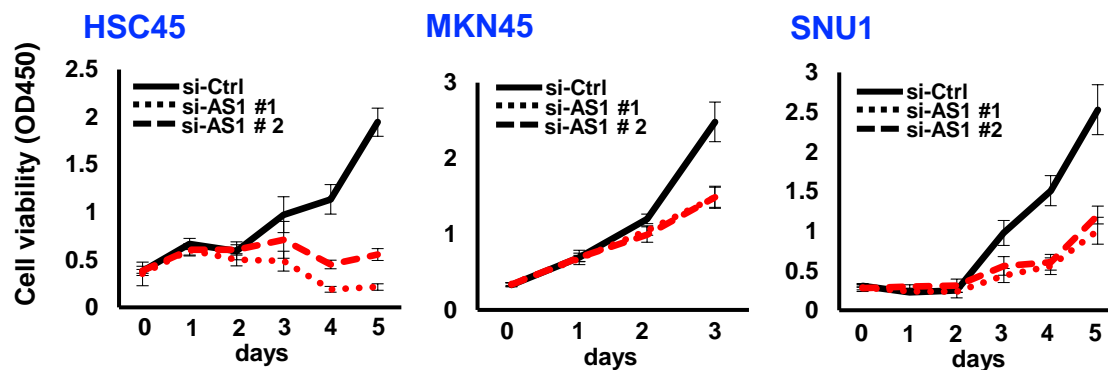
2. 臨床検体



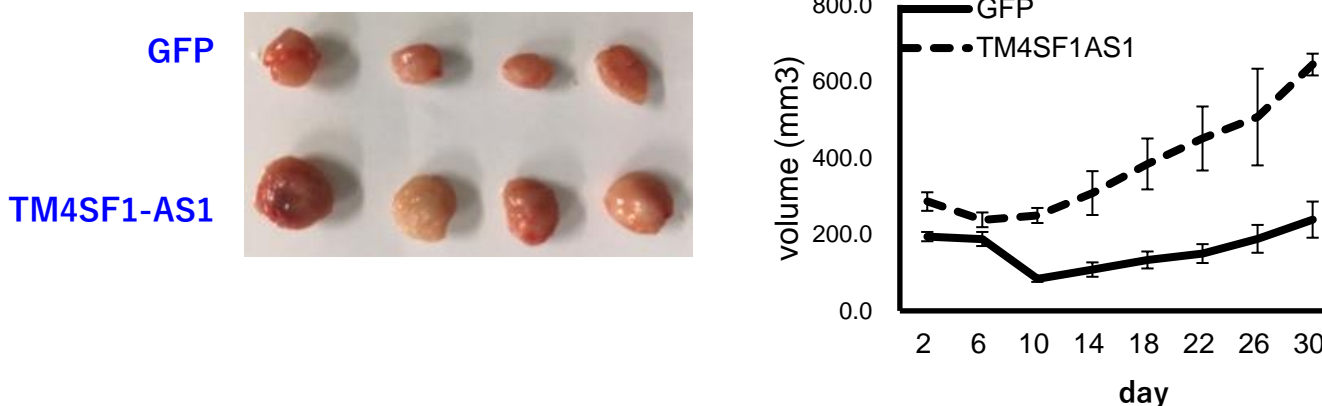
Average 1.57 2.24 0.58

TM4SF1-AS1は胃がん細胞の増殖を促進する

1. TM4SF1-AS1のノックダウンは胃がん細胞株の増殖を強く抑制する (in vitro実験)

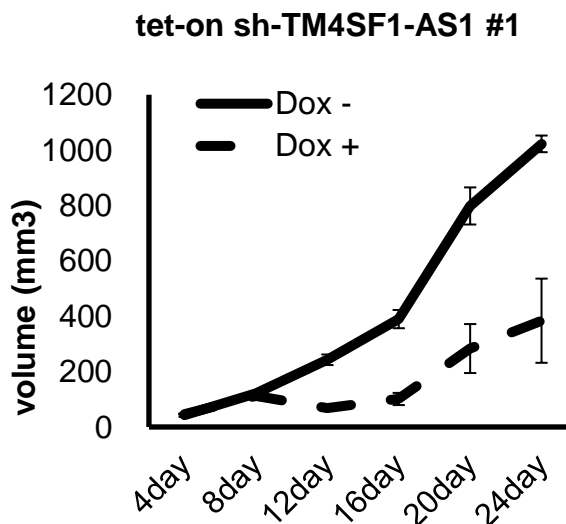
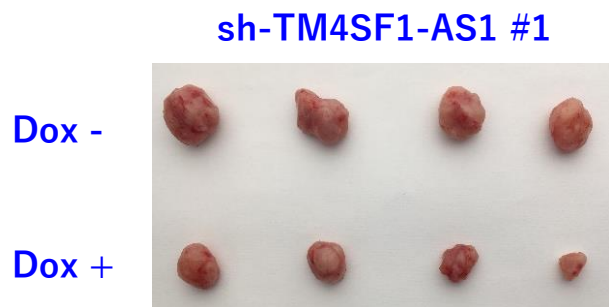


2. TM4SF1-AS1の過剰発現は胃がん細胞株のxenograft形成能を促進する (in vivo実験)

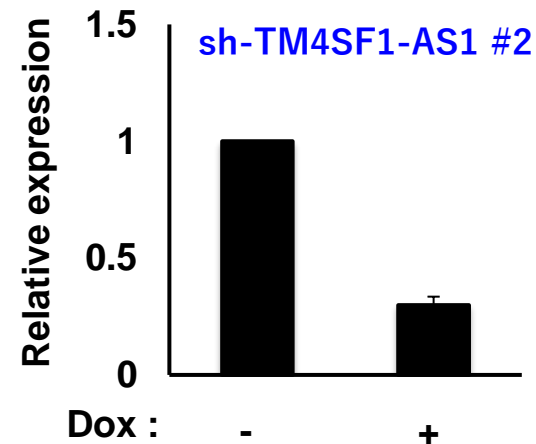
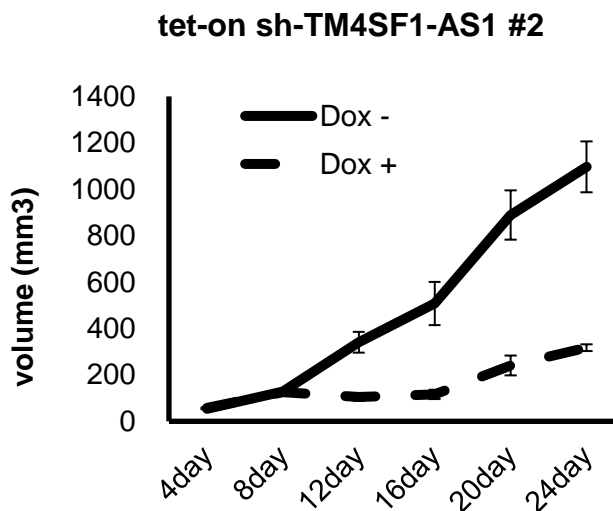
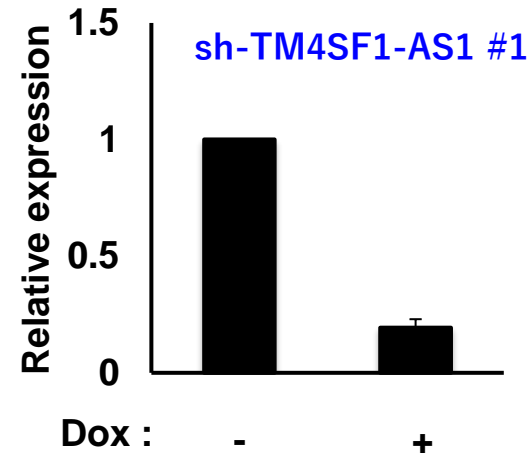


TM4SF1-AS1のノックダウンはin vivoにおいて腫瘍形成を抑制する

Tet-onによるshRNA誘導を行い、in vivoでTM4SF1-AS1をノックダウンした。

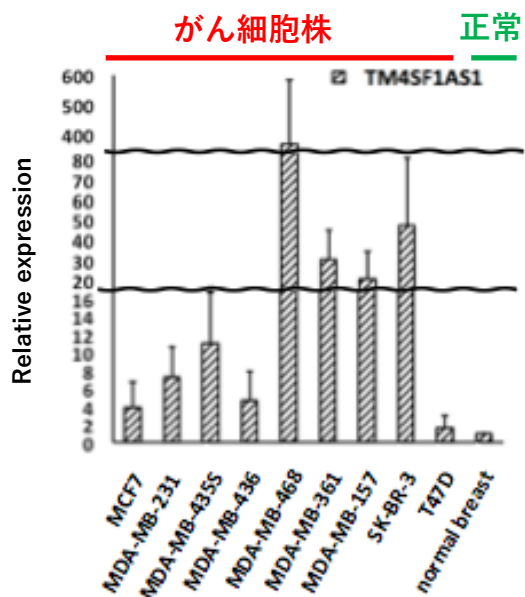


Mouse xenograftでのTM4SF1-AS1ノックダウン効率

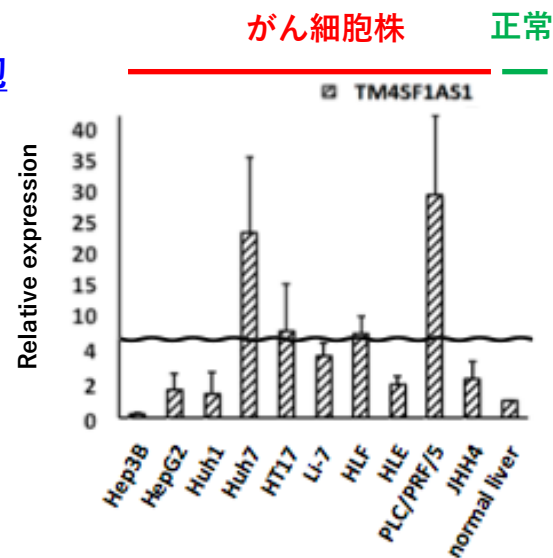


他のがん細胞においてTM4SF1-AS1の発現が亢進する

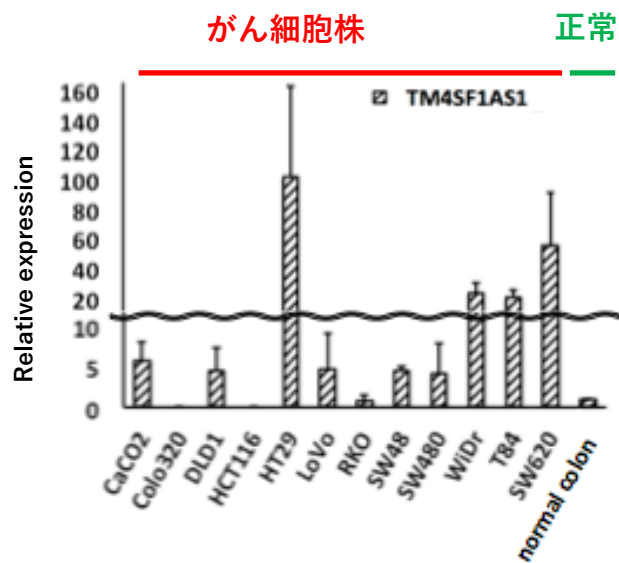
乳がん細胞



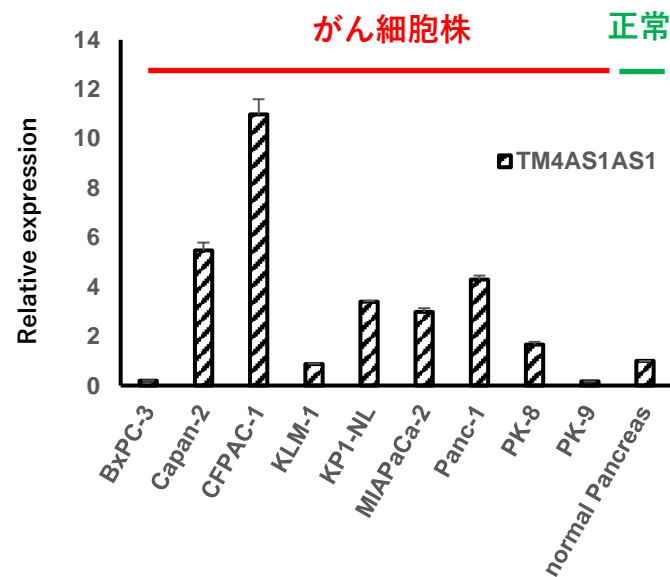
肝がん細胞



大腸がん細胞

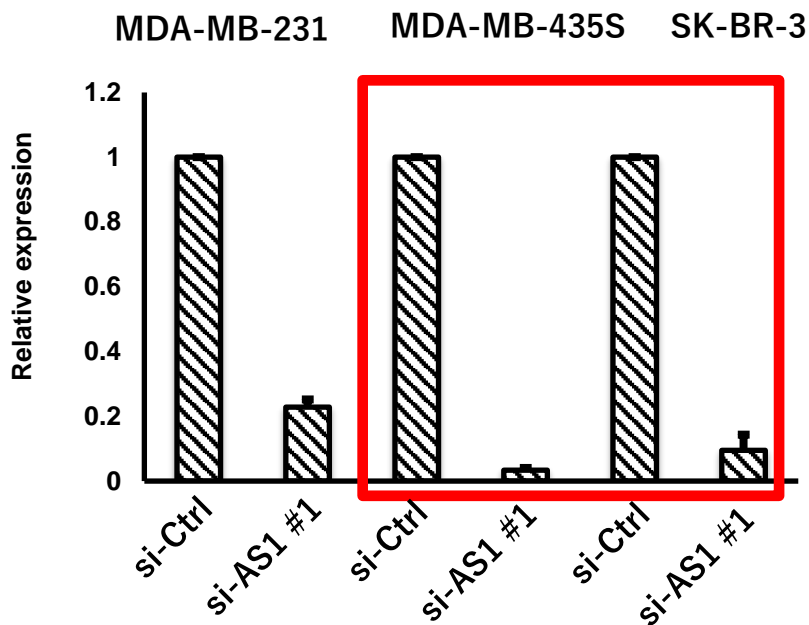


膵がん細胞



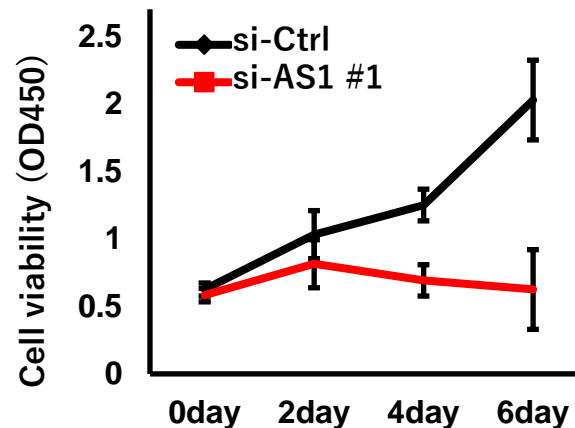
乳がん細胞でのTM4SF1-AS1のノックダウンは細胞増殖を抑制する

1. 乳がん細胞株でのTM4SF1-AS1のノックダウン効率

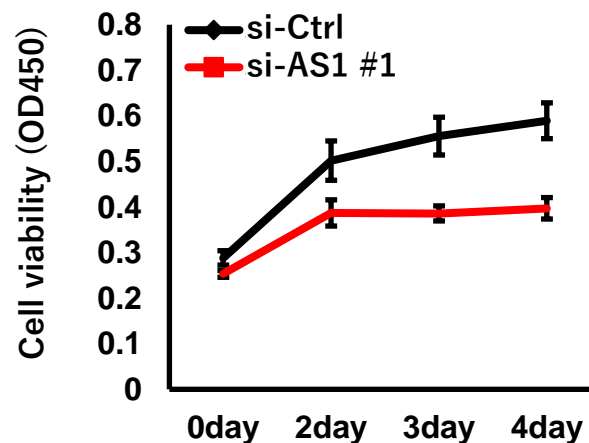


2. TM4SF1-AS1 ノックダウンによる細胞増殖能への影響

(1) SK-BR-3

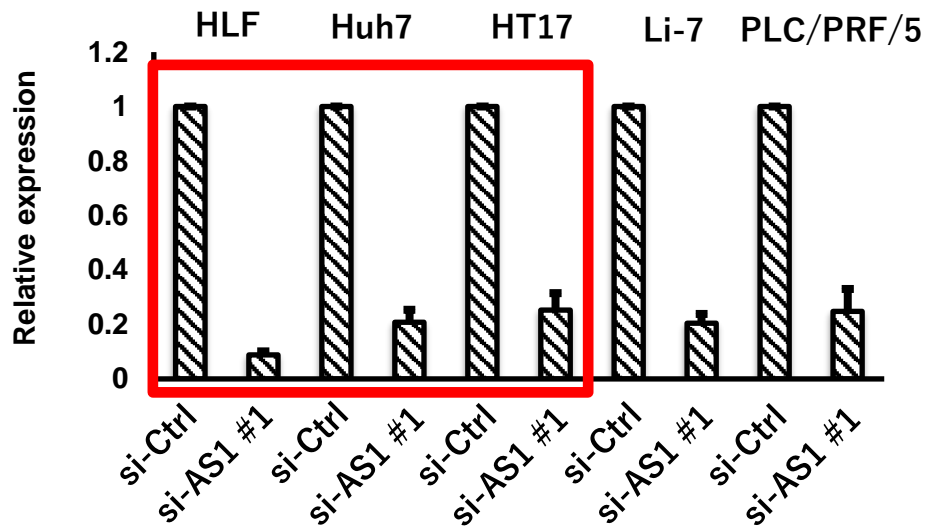


(2) MDA-MB-435S



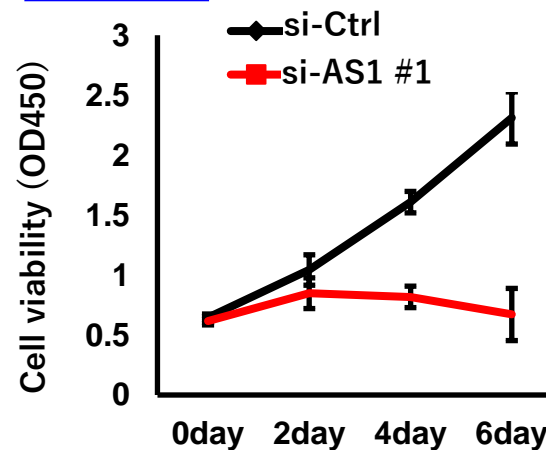
肝がん細胞でのTM4SF1-AS1のノックダウンは細胞増殖を抑制する

1. 肝がん細胞株でのTM4SF1-AS1のノックダウン効率

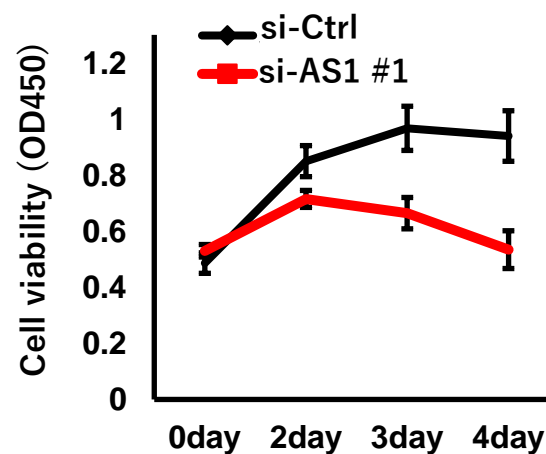


2. TM4SF1-AS1 ノックダウンによる細胞増殖能への影響

(1) Huh7

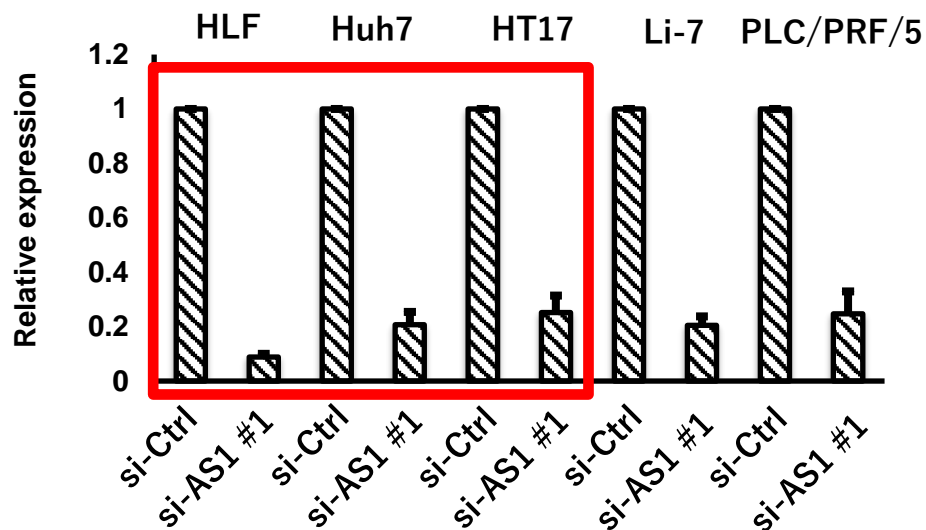


(2) HT17



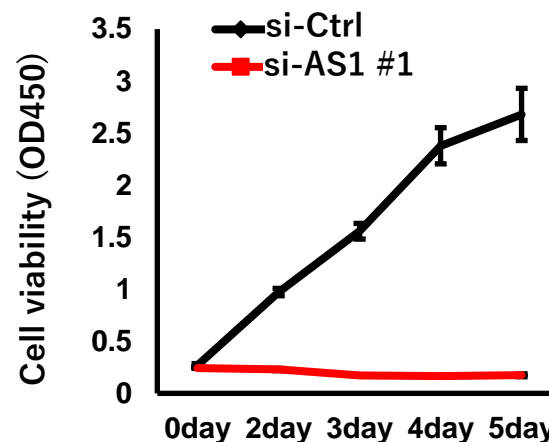
肝がん細胞でのTM4SF1-AS1のノックダウンは細胞増殖を抑制する

1. 肝がん細胞株でのTM4SF1-AS1のノックダウン効率



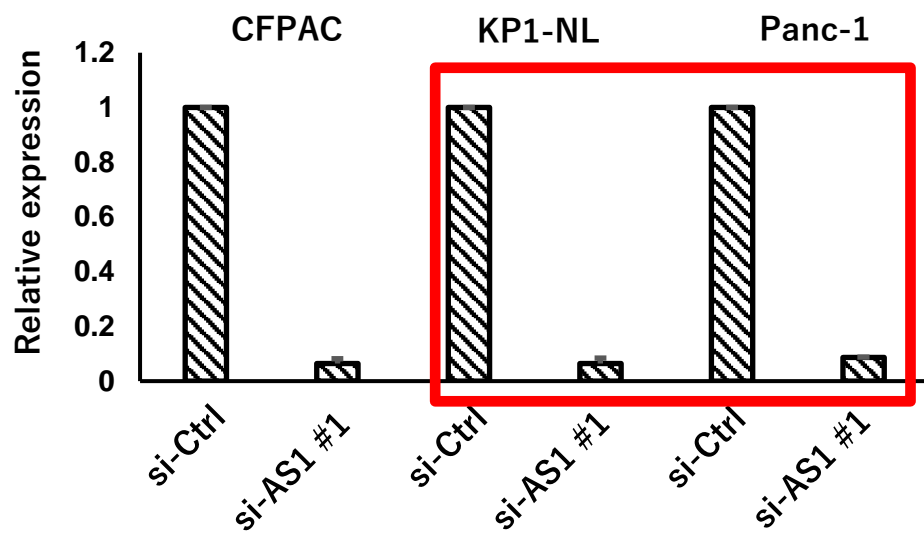
2. TM4SF1-AS1 ノックダウンによる細胞増殖能への影響

(3) HLF



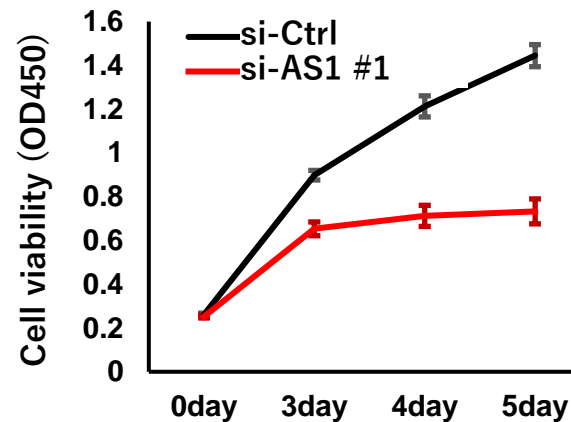
膵がん細胞でのTM4SF1-AS1のノックダウンは細胞増殖を抑制する

1. 膵がん細胞株でのTM4SF1-AS1のノックダウン効率

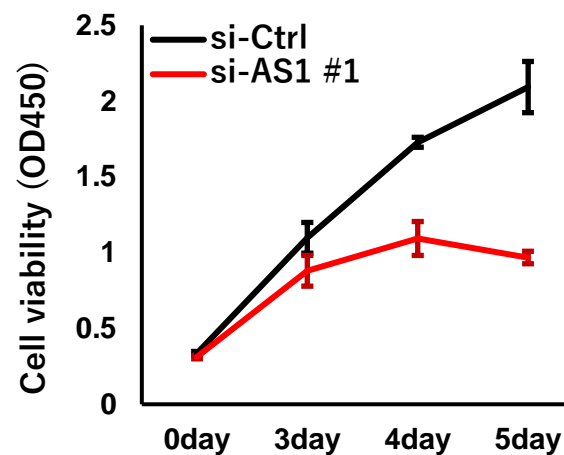


2. TM4SF1-AS1ノックダウンによる細胞増殖能への影響

(1) KP1-NL

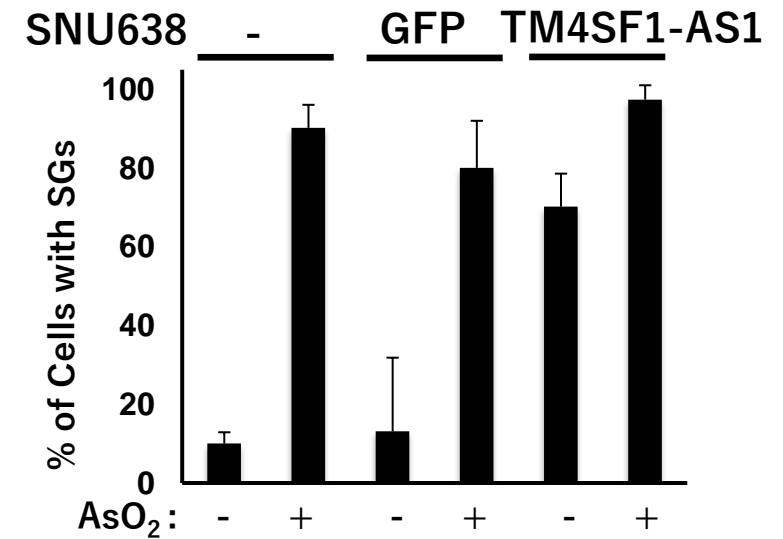
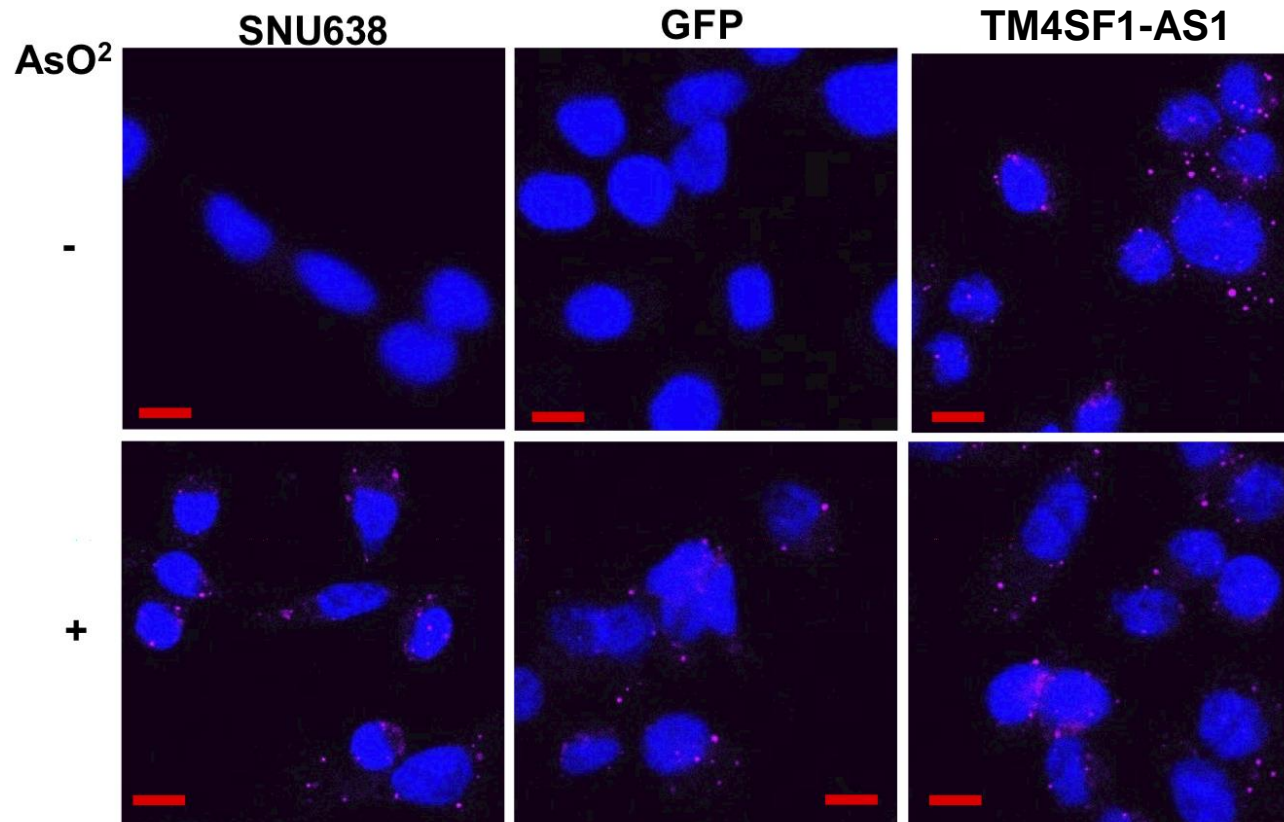


(2) Panc-1



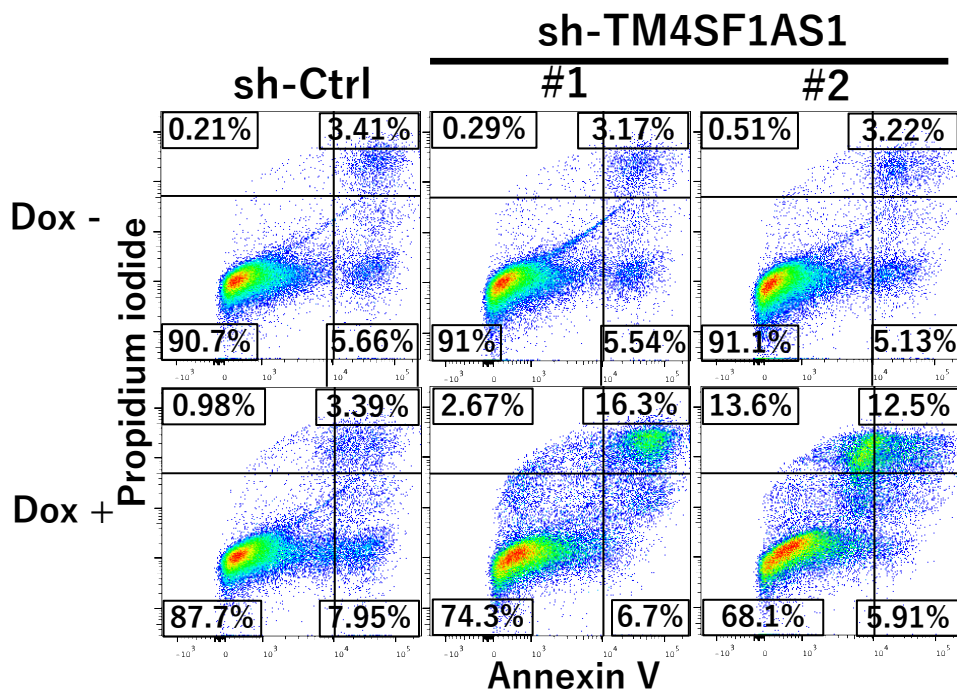
TM4SF1AS1の過剰発現はストレス顆粒の形成を促進する

免疫蛍光染色 (G3BP2, ストレス顆粒 marker)

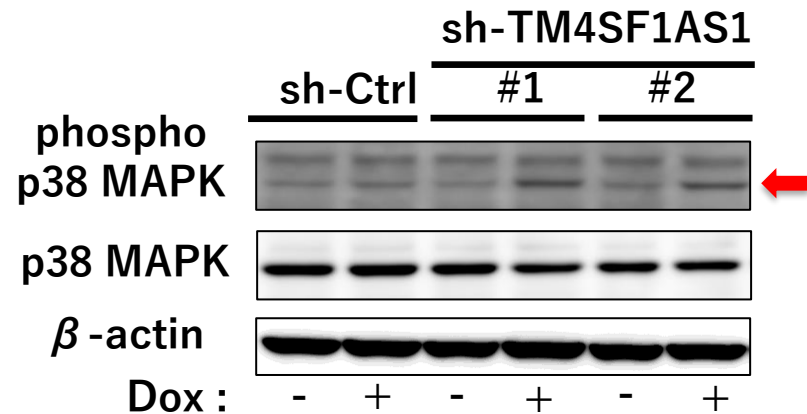


TM4SF1AS1のノックダウンはアポトーシスを誘導する

1. TM4SF1AS1ノックダウンによるアポトーシスへの影響

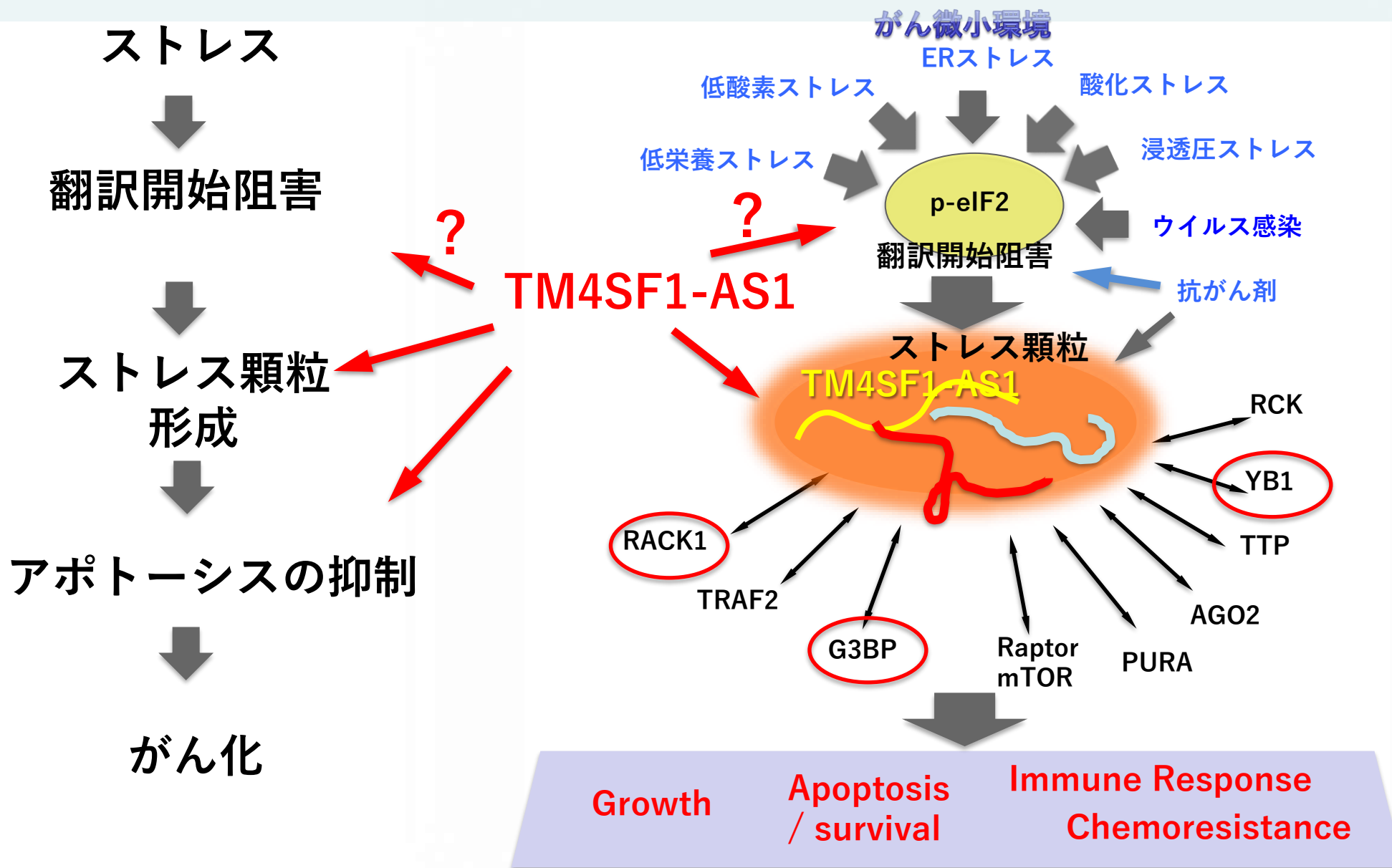


2. TM4SF1AS1ノックダウンによるストレス応答MAPKへの影響



TM4SF1AS1ノックダウンはアポトーシスやストレス応答MAPK p38のリン酸化を亢進することが示唆された。

作業仮説



まとめ

1. TM4SF1-AS1は、発がんリスクのある胃粘膜とがん細胞で活性化している。
2. TM4SF1-AS1の高発現により腫瘍形成が促進することから、lncRNAとしてTM4SF1-AS1が胃がんの新規治療標的になる可能性がある。
3. TM4SF1-AS1は胃がんのみならず乳がん、肝がんや膵がんにおいても高発現し、がん遺伝子的に機能することが示唆された。
4. TM4SF1-AS1はストレス顆粒の形成促進に関与する。
5. TM4SF1-AS1は、ストレス応答性MAPK p38のリン酸化やアポトーシスを抑制する可能性が示唆された。

TM4SF1-AS1の有用性

がんで過剰発現する遺伝子を阻害することで、がん細胞の増殖を抑制できる例は多数報告されている。

これまでの解析から、TM4SF1-AS1はそれのみにとどまらず、細胞のストレス応答や免疫応答を制御している可能性があることから、新たながん治療戦略の開発につながる可能性がある。

さらに、TM4SF1-AS1と相互作用するタンパク質を複数同定している。それらの中にはYB1など、がん遺伝子としての機能が報告されているものもある。TM4SF1-AS1はストレス顆粒を介してそれらのタンパク質に作用すると考えられることから、TM4SF1-AS1を阻害することで、複数のがん遺伝子の働きを抑える効果が期待される。

想定される用途

胃がん、肝がん、乳がん、膵がんを対象
とした核酸医薬や分子標的治療法の開発

実用化に向けた課題

TM4SF1-AS1を阻害する核酸の最適化とターゲットに対し安定的に核酸を送達できるドラッグデリバリーシステムの開発の必要性。

企業への期待

- 機能性核酸のデザイン・最適化技術・評価

TM4SF1-AS1を効率的に阻害する核酸のスクリーニング、最適化および阻害効果の評価などの支援・提供

- 独自のDDS技術の開発・保有

核酸を搭載するDDSシステムの提供、in vivo試験の結果に基づく改良などの技術支援

- DDS技術を応用した医薬品開発

以上の技術や実績のある企業のご協力を求めています。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 長鎖ノンコーディングRNAを標的とするがん治療剤およびがん診断方法
- 出願番号 : 特願2018-067701
- 出願人 : 札幌医科大学
- 発明者 : 北嶋洋志、丸山玲緒、山本英一郎、鈴木拓

お問い合わせ先

札幌医科大学附属産学・地域連携センター
産学連携コーディネーター
特任准教授 板垣史郎

T E L 011-611-2111 (21570)

F A X 011-611-2185

e-mail itagaki@sapmed.ac.jp