

令和 4 年 5 月 20 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07884

研究課題名(和文)最新機器を用いた肺がんの高感度診断マーカーの確立、治療標的分子の同定

研究課題名(英文)Identification of biomarker and therapeutic target for lung cancer

研究代表者

高野 淳 (Takano, Atsushi)

東京大学・医科学研究所・特任講師

研究者番号：50582607

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：バイオマーカーとして、Exosomeの中に含まれる核酸をDigital PCRを用いて検出しえた。血中自己抗体：ガン細胞由来の微量タンパクに対して産生される自己抗体を、ELISAで抽出しえた。治療標的分子の探索、臨床応用：がんに特異的に発現する候補タンパクを同定し、siRNA、Flow cytometry, live cell imagingなどで機能解析を行い、論文、学会での報告を行った。URST1は、肺がんで高発現し、URST1発現が予後不良に関係した。URST1の阻害剤ががん細胞の増殖を抑制した。別の候補OASEP1も肺がんの有望な治療標的分子であり、そのレセプターを同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

エキソソーム中などに含まれる核酸や血中自己抗体を用いて、がんを早期に検出することは、治癒可能な早期に肺がんを発見可能とし、予後改善につながってくる。一方、がんに特異的な発現をし、正常組織での発現が少なければ、有望ながんの治療標的分子候補となり得る。このような治療標的分子を阻害剤で抑制しても、正常組織への影響は少なく、特異的にがんの増殖を抑制することが可能であり、有望な治療法となりうる。がんの治療は、初回、2回目の治療までは一定の効果はあるが、再発も多く、正常組織への影響の少ない治療薬を長く使用できるようにすることはがん患者の予後改善に有用であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We detected target nucleotides in exosome by digital PCR and autoantibody against target protein by ELISA.

We select candidate genes that were aberrantly expressed in cancers, but barely expressed in various normal organs. We confirmed the expression of targets in cancer cells and tissues by real-time quantitative PCR, Western blotting, and immunocytochemical staining analyses. Immunohistochemical analysis confirmed the differences in survival times among cancer patient with or without candidate protein. We confirmed that target protein is essential for cell growth or motility of cancer cells by inhibiting candidate protein expression using siRNAs. Morphological changes of siRNAs-transfected cells by live-cell imaging using time-lapse microscopy were detected. Small compounds against target protein inhibit the growth of cancer cells.

研究分野：がんのバイオマーカー、治療標的分子の探索

キーワード：腫瘍学

#### 1. 研究開始当初の背景

2018年度の国立がん研究センターの統計で肺がんは日本でがん死の第1位であり、年々増加している。肺がんは約50%が手術不可能な進行期肺がんで見られる。肺がんの中で比較的治癒率が高いのは非小細胞肺がんの病期IA期で、病期の進行に伴い5年生存率は大幅に低下する。(5年生存率: pStage I期71.2%, II期40.8%, III期20.1%, IV期4.7%、がん白書2021より引用) 肺がんをstage I, IIの段階で早期発見し、治療を行うことが重要である。一方、手術以外に、抗がん剤治療、分子標的治療、放射線治療、免疫チェックポイント阻害剤の登場により生存期間の延長を示しているが、ターゲット遺伝子、特定のタンパク発現を認める患者のみで著効し、治療に難渋する例も多く認められ、予後マーカーで必要な治療強度を評価し、適切な治療が望まれる。

#### 2. 研究の目的

早期肺がんの検出として、血中バイオマーカーは、容易に繰り返し行えLiquid biopsyの一手法として注目されている。我々は独自の遺伝子発現解析データより肺がんの新規血清診断マーカーに関する研究を報告してきており、これまでの研究成果を最新の機器で検出、評価することで新たな手法の開発を目的としている。具体的にはシングルセル解析、次世代シーケンサーやDigital PCR、エキソソームやBioplex、自己抗体、miRNAを用いて早期肺がんの血清診断技術の開発を試みている。また、同時に独自に抽出したがん特異的な治療標的に対して細胞内に効率よく抗体などを運搬可能なペプチドを用いて抗体などを導入する肺がんの治療開発も行う。

#### 3. 研究の方法

独自の遺伝子発現プロファイルを用いて、候補遺伝子を抽出し、候補遺伝子、候補タンパクの発現を、リアルタイムPCR、Western blotting, 100-300症例のがん患者の組織からなるTissuemicroarrayを用いて、免疫染色を行い、がん細胞、がん組織での高発現することを確認する。一方、高感度ELISAや、少量の血清(exosome中のタンパク)で同時に大量にマーカーの有用性を検討可能なBioplexを用いて、がん患者で高レベルに検出されるマーカー、自己抗体も検討する。

一方、治療標的分子の探索を目的として、がんを高発現している遺伝子、候補タンパクについては、siRNA, Flowcytometry, live cell imagingなどでがんの増殖に与える影響や、その機能解析を行い、阻害剤、抗体でがんの増殖抑制効果を確認し、臨床応用へつなげる。

#### 4. 研究成果

バイオマーカー: エキソソームをがん細胞の培養上清から抽出し、超遠心分離したExosomeの中に含まれる核酸は、極めて微量であり、1コピーからの検出が可能なDigital PCRを用いて、高感度に検出しえた。現在、血中Exosomeに含まれる核酸の検討を行っている。血中自己抗体: ガン細胞由来の微量タンパクに対して産生される自己抗体を、ELISAやarrayキットで抽出し、早期診断や治療効果予測可能なことが示唆された。シングルセル解析: 不均一ながんでの評価のために特定のタンパクの検出が困難となっている。機器の導入は終わり予備検討に進んでいる。

治療標的分子の探索、臨床応用: がん(特に肺がん、乳がん、口腔がん)に特異的で正常組織での発現が少ない候補タンパクを中心に解析を行った。siRNA, Flow cytometry, live cell imagingなどで機能解析を行い、論文での報告を行った。肺がんではURST1を同定し、がんでの高発現を確認し、URST1発現が予後マーカーであることが分かった。URST1

の阻害剤による肺がん細胞の増殖抑制効果を確認した。また、OASEP1も肺がんの有望な治療標的分子であった。また、OASEP1は、分泌タンパクであり、早期診断マーカーとしての可能性も示唆されたが、OASEP1のレセプターも同定し、autocrine/paracrineを介して、増殖に影響を与えることが判明した。乳がんではKIF20Aが高発現し、KIF20A発現が予後マーカーであることが分かった。KIF20Aの阻害剤であるPaprotinで乳がんの増殖抑制効果を確認しており、臨床応用へつながっていくものと考えられる。口腔がんについては、OIP5, HJURPがsiRNAで候補タンパクの発現を阻害することで、がん細胞の増殖が抑制された。いずれも口腔がんの予後マーカーであることがわかった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Nakamura M, Takano A, Thang PM, Tsevegjav B, Zhu M, Yokose T, Yamashita T, Miyagi Y, Daigo Y.	4. 巻 57
2. 論文標題 Characterization of KIF20A as a prognostic biomarker and therapeutic target for different subtypes of breast cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Oncol.	6. 最初と最後の頁 277-288
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/ijo.2020.5060.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Sumimoto H, Takano A, Teramoto K, Daigo Y.	4. 巻 476
2. 論文標題 Detection of neoantigen-reactive T cell clones based on the clonal expansion using next-generation sequencing of T cell receptor complementarity-determining region 3.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Immunol Methods.	6. 最初と最後の頁 112679
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jim.2019.112679.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Endo H, Hama N, Baghdadi M, Ishikawa K, Otsuka R, Wada H, Asano H, Endo D, Konno Y, Kato T, Watari H, Tozawa A, Suzuki N, Yokose T, Takano A, Kato H, Miyagi Y, Daigo Y, Seino KI.	4. 巻 32(3)
2. 論文標題 Interleukin-34 expression in ovarian cancer: a possible correlation with disease progression.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int Immunol.	6. 最初と最後の頁 175-186
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/intimm/dxz074.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kobayashi T, Baghdadi M, Han N, Murata T, Hama N, Otsuka R, Wada H, Shiozawa M, Yokose T, Miyagi Y, Takano A, Daigo Y, Seino KI.	4. 巻 42(4)
2. 論文標題 Prognostic value of IL-34 in colorectal cancer patients.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Immunol Med.	6. 最初と最後の頁 169-175
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/25785826.2019.1691429.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Matsumura Y, Ito Y, Mezawa Y, Sulidan K, Daigo Y, Hiraga T, Mogushi K, Wali N, Suzuki H, Itoh T, Miyagi Y, Yokose T, Shimizu S, Takano A, Terao Y, Saeki H, Ozawa M, Abe M, Takeda S, Okumura K, Habu S, Hino O, Takeda K, Hamada M, Orimo A.	4. 巻 2(4)
2. 論文標題 Stromal fibroblasts induce metastatic tumor cell clusters via epithelial-mesenchymal plasticity.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Life Sci Alliance.	6. 最初と最後の頁 e201900425
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.26508/lisa.201900425.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mezawa Y, Daigo Y, Takano A, Miyagi Y, Yokose T, Yamashita T, Morimoto C, Hino O, Orimo A.	4. 巻 8(8)
2. 論文標題 CD26 expression is attenuated by TGF- and SDF-1 autocrine signaling on stromal myofibroblasts in human breast cancers.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Med.	6. 最初と最後の頁 3936-3948
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.2249.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mochizuki M, Nakamura M, Sibuya R, Okazaki T, Abe J, Nakagawa T, Takahashi S, Yamazaki T, Imai T, Takano A, Ito H, Yokose T, Miyagi Y, Daigo Y, Sato I, Satoh K, Sugamura K, Yamaguchi K, Tamai K.	4. 巻 260
2. 論文標題 Maternal undernutrition during early pregnancy inhibits postnatal growth of the tibia in the female offspring of rats by alteration of chondrogenesis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Gen Comp Endocrinol.	6. 最初と最後の頁 58-66
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41374-019-0246-5.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tsevegjav B, Takano A, Zhu M, Yoshitake Y, Shinohara M and Daigo Y:	4. 巻 60(3)26
2. 論文標題 Holliday junction recognition protein as a prognostic biomarker and therapeutic target for oral cancer.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2022.5316	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Zhu M, Takano A, Tsevegjav B, Yoshitake Y, Shinohara M and Daigo Y	4. 巻 60(3)27
2. 論文標題 Characterization of Opa interacting protein 5 as a new biomarker and therapeutic target for oral cancer.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijco.2022.5317.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計15件(うち招待講演 0件/うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Atsushi Takano, Yohei Miyagi, Yataro Daigo
2. 発表標題 Characterization of URST1 as a cancer biomarker and therapeutic target for lung cancer
3. 学会等名 AACR meeting 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高野 淳、寺本 晃治、住本 秀敏、醍醐 弥太郎
2. 発表標題 大病院でのがん薬物療法レジメン運用における診療の質向上とリスク管理に関する後方視研究
3. 学会等名 第117回 日本内科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Atsushi Takano, Yoshihiro Yoshitake, Masanori Shinohara, Yataro Daigo
2. 発表標題 Identification of OASEP1 as a biomarker and therapeutic target for oral cancer
3. 学会等名 第65回 日本人類遺伝学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Atsushi Takano, Yohei Miyagi, Yataro Daigo
2. 発表標題 Characterization of URST1 as a biomarker and therapeutic target for lung cancer
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Atsushi Takano, Yoshihiro Yoshitake, Masanori Shinohara, Yataro Daigo
2. 発表標題 Characterization of URST1 as a biomarker and therapeutic target for oral cancer
3. 学会等名 第18回日本臨床腫瘍学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高野 淳, 住本 秀敏, 寺本 晃治, 醍醐 弥太郎
2. 発表標題 大学病院での診療の質向上にむけたがん薬物療法レジメン管理の後方視研究
3. 学会等名 第116回日本内科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Atsushi Takano, Yoshihiro Yoshitake, Masanori Shinohara, Yataro Daigo
2. 発表標題 New target OASEP1 as a biomarker and therapeutic target for oral cancer
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Atsushi Takano, Yoshihiro Yoshitake, Masanori Shinohara, Yataro Daigo
2. 発表標題 Characterization of cytokinesis-related protein, URST1 as a cancer biomarker and therapeutic target for oral cancer.
3. 学会等名 第64回 日本人類遺伝学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Atsushi Takano, Yoshihiro Yoshitake, Masanori Shinohara, Yataro Daigo,
2. 発表標題 Identification of OASEP1 as a biomarker and therapeutic target for oral cancer
3. 学会等名 2019 臨床腫瘍学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Atsushi Takano, Yohei Miyagi, Yataro Daigo
2. 発表標題 Characterization of URST1 as a biomarker and therapeutic target for precision medicine of lung cancer
3. 学会等名 2019 AACR meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Atsushi Takano, Yoshihiro Yoshitake, Masanori Shinohara, Yataro Daigo
2. 発表標題 Characterization of OASEP1 as a biomarker and therapeutic target for oral cancer
3. 学会等名 2022 臨床腫瘍学会総会
4. 発表年 2022年



1. 発表者名 Atsushi Takano, Yoshihiro Yoshitake, Masanori Shinohara, Yataro Daigo
2. 発表標題 Characterization of URST1 as a new prognostic biomarker and therapeutic target for oral cancer
3. 学会等名 第66回 日本人類遺伝学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高野 淳、寺本 晃治、住本 秀敏、醍醐 弥太郎
2. 発表標題 大学病院でのがん薬物療法レジメン運用とリスク管理に関する後方視研究
3. 学会等名 第118回 日本内科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Atsushi Takano, Yohei Miyagi, Yataro Daigo
2. 発表標題 Characterization of URST1 and its downstream pathways involved in malignant potential of lung cancer
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Atsushi Takano, Yohei Miyagi, Yataro Daigo
2. 発表標題 Identification of URST1 as a biomarker and a therapeutic target for lung cancer
3. 学会等名 2020 AACR meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 日本臨床腫瘍学会	4. 発行年 2020年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 335
3. 書名 入門臨床腫瘍内科学	

1. 著者名 81名(著/文)技術情報協会(編集)	4. 発行年 2022年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 530
3. 書名 疾患原因遺伝子・タンパク質の 解析技術と創薬/診断技術への応用	

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	醍醐 弥太郎  (Daigo Yataro)  (30345029)	東京大学・医科学研究所・特任教授    (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------