

がん個別化医療に向けたがん幹細胞臨床診断技術の開発

鳥越 俊彦 [札幌医科大学／准教授]
廣橋 良彦 [札幌医科大学／助教]
山本 絵利 [札幌イムノダイアグノスティックラボラトリー／研究員]
中村 健治 [株式会社ホクドー／研究開発課長]

背景・目的

同じ組織型の腫瘍でもがん細胞における遺伝子発現には高い多様性がみられ、癌治療・予防の困難さの原因となっている。この多様性を説明する概念としてがん幹細胞仮説が提唱されてきた。がん幹細胞は、自己複製能、多分化能、長寿命、高い造腫瘍能力、抗がん剤耐性などの特性を持っていることから、がん再発と転移の根幹をなす細胞であると推察されている。

本研究は、最新の細胞分離技術と高精度遺伝子解析技術を用いてヒトがんの根幹細胞の分子病理学的特徴を明らかにし、患者の血液や組織からがん幹細胞を検出する臨床診断技術を開発することを目的とする。

内容・方法

(1) がん幹細胞の分離とマーカー分子の同定

乳がん、大腸がん、肺がん等の固形腫瘍を対象にがん幹細胞の分離を行う。遺伝子網羅的解析によって、それぞれのがん幹細胞の検出に有効な新規マーカー分子を同定する。分担研究者らは、次世代シーケンサーを用いて高精度の遺伝子解析を実施する。

(2) がん幹細胞検出抗体の作製と遺伝子診断の開発

新規がん幹細胞マーカー分子を検出するための単クローナル抗体を樹立する。また、血液検体を用いた遺伝子診断方法を開発する。がん幹細胞で特異的にメチル化されている遺伝子を検出するための技術開発も

実施する。

(3) がん幹細胞診断キットの作製と橋渡し臨床研究

上記单クローナル抗体または遺伝子診断を用いた検査キットを作製する。がん個別化医療のための橋渡し臨床研究としては、患者の血液検体および手術や生検で摘出されたがん組織を用いた遺伝子診断、病理組織診断を実施する。

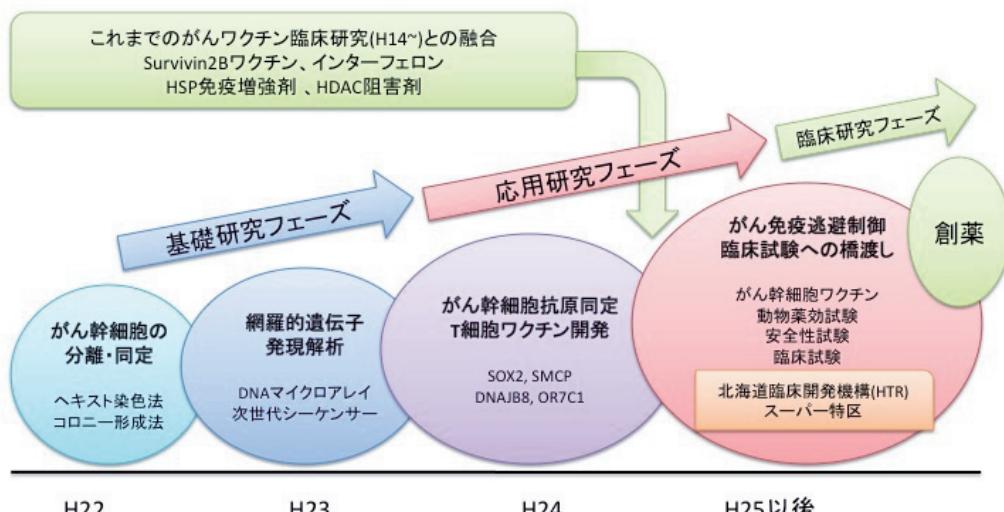
結果・成果

(1) がん幹細胞の分離と網羅的遺伝子発現解析の実施

婦人科系腫瘍の細胞株16種類(子宮頸癌6種類、子宮体癌1種類、卵巣癌8種類、総毛癌1種類)、泌尿器科系腫瘍細胞株4種類を試料として、幹細胞様のがん細胞集団を分離同定することに成功した。ALDEFLUOR アッセイを用い、子宮体癌(HEC-1)、卵巣癌(MCAS, HTBoA)、前立腺癌(22Rv1)の各細胞中に、約5~10%の頻度で ALDH1 活性の高い細胞集団を確認した。ALDH1活性の高い細胞と低い細胞とをセルソーターで分離回収し NOD/SCID マウスに移植した結果、いずれも ALDH1活性の高い細胞集団は優位に高い造腫瘍能を有していた。RT-PCRにおいて、ALDH1活性の高い細胞集団は、SOX-2, CD133などの幹細胞マーカーを優位に発現していた。がん幹細胞群に高発現する遺伝子を DNAマイクロアレイでスクリーニングし、さらに RT-PCR で検討した結果、特異的に高発現を示す遺伝子を同定することに成功した。現在はこれら分子の機能解析を進めている。

(2) 次世代シーケンサーを用いたがん幹細胞特的メチル化遺伝子の同定

上記の実験によって分離回収されたがん幹細胞のゲノムを対象に、次世代シーケンサーを用いて網羅的に遺伝子メチル化解析を実施した。その結果、がん幹細胞特異的にメチル化されている遺伝子、脱メチル化されている遺伝子を同定することに成功した。現在、これら遺伝子の発現解析を実施中である。メチル化を



指標とした遺伝子診断技術の開発を実施中である。

(3) がん幹細胞マーカーに対する单クローニング抗体の作製

がん幹細胞マーカー遺伝子の1つ、OR7C1に対する单クローニング抗体の作製を実施。マウスへの免疫を終え、ハイブリドーマの作製を実施中である。別のがん幹細胞マーカーである DNAJB8 に関しては、すでに单クローニング抗体樹立を完了し、がん幹細胞診断に向けた有用性の評価を実施している。血液検査を専門とする試薬メーカーと提携し、血液中のがん幹細胞を検出する技術開発を行っている。

今後の展望

研究用試薬として札幌 IDL 社及び株ホクドーから商品化し、国際的試薬企業と提携して、世界市場で販売予定。

さらに、製品を GMP キット化し、がん個別化医療の適応診断としての臨床試験を実施し、厚生労働省の認可を得ることを目指す。

本研究の成果は、国民の保健・医療・福祉の向上に大きく貢献し、厚生労働行政や日本の社会に広く貢献することは間違いないと確信する。

本研究によって発見したがん幹細胞マーカーは、がん幹細胞をねらい打ちする分子標的治療にも応用可能であり、大日本住友製薬との共同研究としてがん幹細胞標的治療薬の開発につなげる。