

2022年10月11日

記者會、記者クラブ 各位

## RAS 変異がんを標的にした マイクロ RNA 核酸医薬シーズの開発に成功

### 【本研究のポイント】

- ・ヒトの大腸がんで約 40%、膵臓がんで約 90%に RAS<sup>1)</sup> 遺伝子の変異がみられます。RAS 阻害剤は世界中で開発されているが構造上ポケットが無いいため創出は難航しています。近年、RAS の一つの変異にのみ有効な化合物が医薬品として使われるようになりましたが、その RAS 阻害剤も高頻度で薬剤耐性が獲得され一時的な効果しか見込めません。
- ・RAS による増殖シグナルはネットワークを形成しており、RAS のみを阻害しても RAS ネットワークを抑えられません。従って、複数の遺伝子の機能を抑制するマイクロ RNA<sup>2)</sup> が効果的です。
- ・我々が開発した化学修飾マイクロ RNA143 は、マウス血液中でも分解されにくく安定に存在し、RAS ネットワークを構成する複数の重要な遺伝子の発現を抑えて、RAS ネットワークを不能にしてがん細胞に細胞死を誘導しました。その効果は、それら遺伝子単独の発現抑制よりも強力でした。
- ・マウスモデルの検証においても、RAS ネットワークを抑制し腫瘍の増殖を抑制しました。腫瘍には新たな血管が形成されており、化学修飾マイクロ RNA143 の効果を増強した可能性が示されました。

### 【研究概要】

岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科 杉戸信彦 特任助教、赤尾幸博 特任教授らの研究グループは、大腸がん・膵臓がんで高頻度に変異している RAS ネットワークについて詳細にその機構を明らかにしました。さらに、そのネットワークを阻害するマイクロ RNA 核酸医薬<sup>3)</sup> シーズの開発に世界で初めて成功しました。これまでに 6 報の国際科学論文にて報告していた化学修飾マイクロ RNA143 の抗がんメカニズムの有用性について、RAS 変異がんを対象に明らかにしました。RAS 変異がんに対するマイクロ RNA 核酸医薬シーズとして期待されます。

今回の研究成果は、2022 年 9 月 22 日（木）に Molecular Therapy - Nucleic Acids 誌（インパクトファクター：10.183）のオンライン版で正式発表されました。

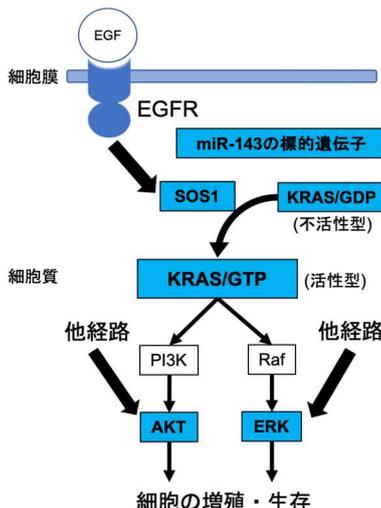


図1. miR-143#12 の RAS ネットワーク抑制メカニズム

RAS 経路は、上流 (EGFR) からの刺激を RAS を介して AKT と ERK ヘシグナルを伝えて細胞の増殖・生存に寄与します。RAS 変異がんでは、常に RAS が活性化型を維持し、AKT、ERK へのシグナルをオンにして、がん細胞の増殖・生存を促進しています。RAS を抑制しても AKT、ERK へ他経路からシグナルが伝わるため、効果は一時的で、また、AKT または ERK だけ抑制しても一方の経路が使えるため効果は弱いです。そこで、miR-143#12 で RAS ネットワーク (RAS、AKT、ERK、SOS1) を抑制することにより、がん細胞の増殖を抑制することができます。

## 【研究背景】

RAS 変異は最上位のドライバー癌遺伝子<sup>4)</sup>であり、これまでのがんゲノム解析からヒトのがんの約 30% に RAS 遺伝子の変異が観察されています。特に、ヒトの大腸がんで約 40%、膵臓がんで約 90%に観察され、悪性度に寄与しています。RAS は 10 をこえる下流のシグナルを制御することで膨大なネットワークを形成しています。特に、PI3K/AKT と MAPK/ERK シグナルは細胞の増殖・生存に関する遺伝子の転写を誘導する重要なシグナル伝達経路となっています（図 1）。そこで、RAS 阻害剤の開発が世界規模で 30 年以上にわたり行われてきました。近年、ようやく RAS の一つの変異にのみ有効な化合物が医薬品として使われるようになりましたが、その RAS 阻害剤も高頻度で薬剤耐性が獲得されることが報告され、一時的な効果しか見込めません。RAS のみ阻害しても増殖抑制は一時的であり、RAS ネットワークにより代償性シグナル<sup>5)</sup>が活性化され、即時にその阻害はキャンセルされます。そのため、RAS 単独を標的にしても RAS 変異がんを排除することは困難です。

## 【研究経緯】

赤尾幸博 特任教授は RAS 及び RAS ネットワークを包括的に抑制する microRNA (miRNA) の研究を 2006 年から開始しました。その結果、RAS システムを破綻させる主要な miRNA が miR-143 であることを明らかにしました。miR-143 は、多くのがんにおいてその発現が正常組織と比較して低下しているがん抑制 miRNA です。miR-143 は RAS のみならずその下流の増殖を誘導するシグナル系(エフェクターシグナル)PI3K/AKT と MAPK/ERK の AKT 及び ERK を標的にし、相乗的にこれらのシグナルを抑制することが分かりました。しかしながら、市販の miR-143 では活性が弱く、臨床応用を見据えた化学修飾 miR-143 の開発が必要でした。

## 【研究成果】

近年、杉戸信彦 特任助教、赤尾幸博 特任教授らは化学修飾を施した miR-143#12 の開発に成功しました。100 をこえる miR-143 誘導体から最もヌクレアーゼ耐性で、抗がん活性はヒト大腸癌細胞株 DLD-1 において市販の miR-143 の数十倍でした。miR-143#12 はガイド鎖<sup>6)</sup>に様々な化学修飾をしており、多くの miR-143 誘導体の中で卓越した活性を有していました（図 2）。

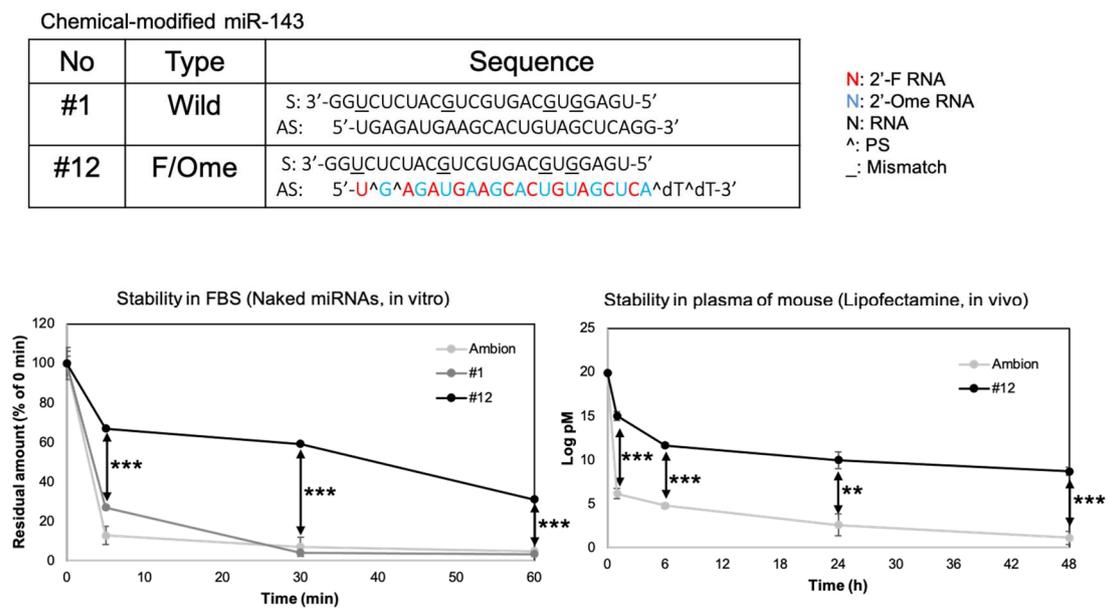


図 2. 化学修飾 miR-143#12 の配列とヌクレアーゼ耐性実験

化学修飾 miR-143#12 の配列（上段）は、片方の RNA にのみ化学修飾を施しています。miR-143#12 はウシ血清中（下段左）及びマウス血液中（下段右）において、分解されにくく安定に存在しました。

強力な抗がん活性をもつ miR-143#12 を用いることで不活性型 RAS/GDP から活性型 RAS/GTP に変換する SOS1 も標的にしていること、さらに RAS エフェクターシグナルの標的遺伝子が RAS 自身であること、つまり RAS 正の制御回路の存在が明らかになりました。RAS 変異大腸癌では EGFR や AKT、MAPK に対する分子標的薬の効果は代償性のカスケードが働くため一過性であり期待出来ません。miR-143#12 はこれまで明らかにできなかった詳細な miR-143/RAS カスケードを明らかにしました (図 3)。

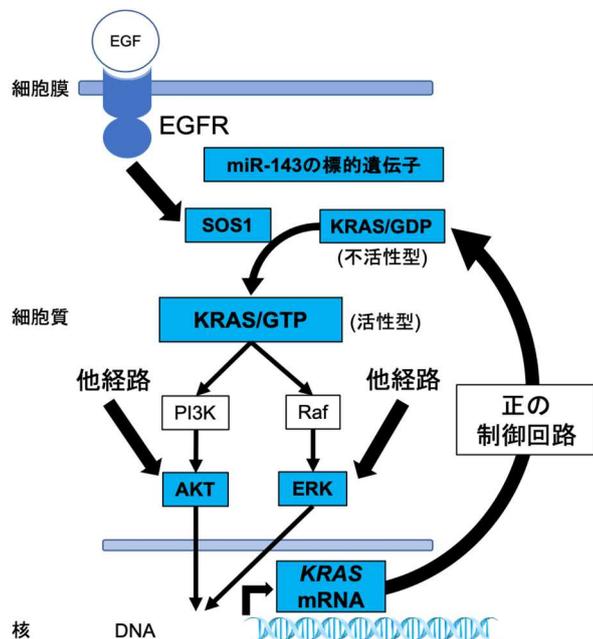


図 3. RAS ネットワークの全貌

AKT、ERK 下流で、RAS mRNA を発現させて上流の RAS を補充する、RAS の正の制御回路が存在することが明らかになりました。RAS の正の制御回路が存在することで、RAS を阻害しても一時的に阻害されるだけでエフェクターシグナルの AKT、ERK から新しい RAS を供給されてしまいます。

ヒト大腸がん細胞を皮下に移植したヌードマウスに miR-143#12 を局所投与した結果、低用量で顕著な腫瘍増殖抑制が示されました。投与されたマウス腫瘍サンプルにおけるタンパク発現では、RAS ネットワーク (RAS、AKT、ERK、SOS1) の発現が低下していました。in vitro (試験管内) 実験での miR-143#12 の効果は動物実験でも実証されました。さらに、新たな知見として、血管のマーカである CD31 で腫瘍サンプルを染色すると、miR-143#12 の浸透したであろう部位で顕著に染色が確認されました。つまり、miR-143#12 は正常な血管新生を誘導し、自身の効果を増強した可能性が示唆されました (図 4)。

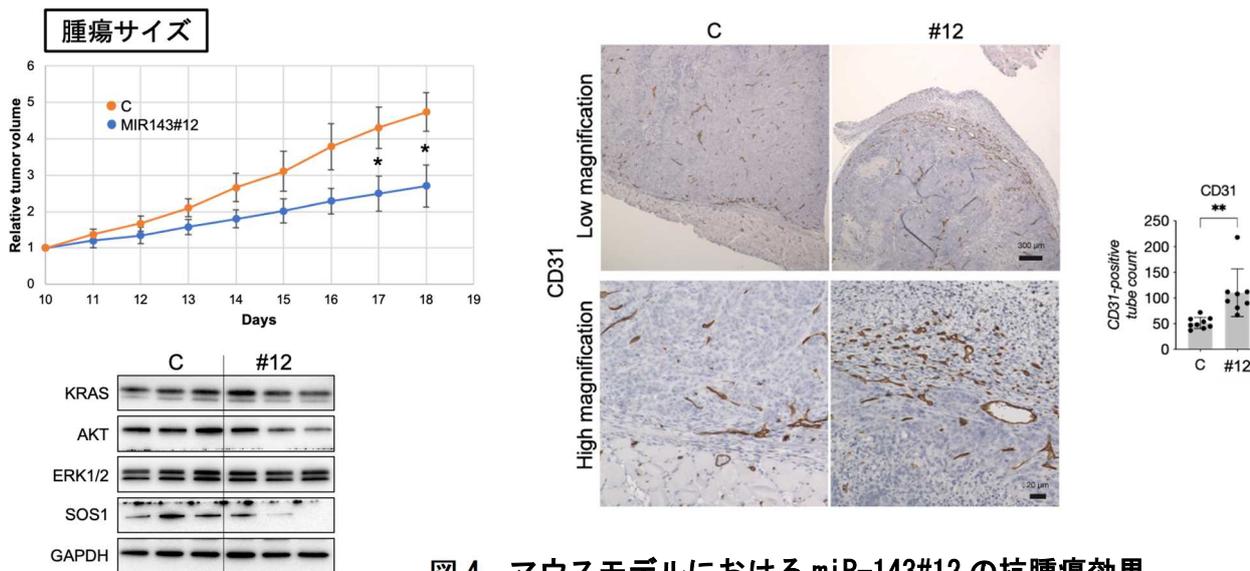


図 4. マウスモデルにおける miR-143#12 の抗腫瘍効果

(左上) miR-143#12 投与における腫瘍サイズの経時的変化を確認し、コントロールに比べ miR-143#12 投与群でサイズの増大を抑制しています。(左下) 腫瘍サンプルにおいて、RAS ネットワークに関わるタンパクの量を確認したところ、miR-143#12 投与で発現が抑制されていました。(右) CD31 染色により、miR-143#12 投与群で、血管新生を確認しました。

## 【今後の展開】

がん化に最も重要な役割を果たしているドライバー遺伝子であるRASの変異を有するがんの根治には、RAS、AKT、ERK それぞれを単独阻害しても不十分であり、我々が開発した化学修飾 miR-143#12 による複合的な RAS ネットワークの抑制が最適であることが明らかになりました。さらに、マウスモデルにおいて血管新生が観察され、それに伴った低濃度での抗腫瘍効果が示されました。今後、miR-143#12 の効果が全身投与で反映される薬剤送達システムの開発が望まれます。

## 【論文情報】

雑誌名 : Molecular Therapy - Nucleic Acids

タイトル : Chemically-modified MIR143-3p exhibited anti-cancer effects by impairing the RAS network in colorectal cancer cells (化学修飾された MIR143-3p は、大腸がん細胞の RAS ネットワークを阻害することにより抗がん作用を示した)

著者 : Nobuhiko Sugito, Kazuki Heishima, Yukihiro Akao (杉戸信彦、平島一輝、赤尾幸博)

DOI 番号 : 10.1016/j.omtn.2022.09.001

論文公開 URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2162253122002396>

## 各種 RAS 変異がんに対する効果を報告したこれまでの国際科学論文 (References)

### 大腸がん (Colon cancer)

Impairment of RAS signaling networks and increased efficacy of epidermal growth factor receptor inhibitors by a novel synthetic miR-143. Akao Y, Kumazaki M, Shinohara H, Sugito N, Kuranaga Y, Tsujino T, Yoshikawa Y, Kitade Y. *Cancer Sci.* 2018 May;109(5):1455-1467. doi: 10.1111/cas.13559. Epub 2018 Apr 14.

### 膀胱がん (Bladder cancer)

Anti-cancer Effects of a Chemically Modified miR-143 on Bladder Cancer by Either Systemic or Intravesical Treatment. Yoshikawa Y, Taniguchi K, Tsujino T, Heishima K, Inamoto T, Takai T, Minami K, Azuma H, Miyata K, Hayashi K, Kataoka K, Akao Y. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2019 Feb 20;13:290-302. doi: 10.1016/j.omtm.2019.02.005. eCollection 2019 Jun 14.

### 胃がん (Gastric cancer)

Synthetic miR-143 Inhibits Growth of HER2-Positive Gastric Cancer Cells by Suppressing RAS Networks Including DDX6 RNA Helicase. Tokumaru Y, Tajirika T, Sugito N, Kuranaga Y, Shinohara H, Tsujino T, Matsubashi N, Futamura M, Akao Y, Yoshida K. *Int J Mol Sci.* 2019 Apr 5;20(7):1697. doi: 10.3390/ijms20071697.

### 腎がん (kidney cancer)

Synthetic miR-143 Exhibited an Anti-Cancer Effect via the Downregulation of RAS Networks of Renal Cell Cancer Cells In Vitro and In Vivo. Takai T, Tsujino T, Yoshikawa Y, Inamoto T, Sugito N, Kuranaga Y, Heishima K, Soga T, Hayashi K, Miyata K, Kataoka K, Azuma H, Akao Y. *Mol Ther.* 2019 May 8;27(5):1017-1027. doi: 10.1016/j.ymthe.2019.03.004. Epub 2019 Mar 13.

### 横紋筋肉腫 (Rhabdomyosarcoma)

Synthetic MIR143-3p Suppresses Cell Growth in Rhabdomyosarcoma Cells by Interrupting RAS Pathways Including PAX3-FOXO1. Sugito N, Heishima K, Ito Y, Akao Y. Cancers (Basel). 2020 Nov 10;12(11):3312. doi: 10.3390/cancers12113312.

#### 【用語解説】

- 1) RAS : がんの中で最も頻度が高く異常を示すがんドライバー遺伝子、その異常は多岐にわたる。
- 2) マイクロ RNA : 21-25 塩基の 2 本鎖 RNA で複数のメッセンジャーRNA (遺伝子) に結合してその翻訳を負に調節している。
- 3) 核酸医薬 : DNA, RNA を用いた医薬品
- 4) ドライバー癌遺伝子 : がん細胞の増殖に関与する責任遺伝子
- 5) 代償性シグナル : 主経路が障害されたときに機能する代替シグナル系
- 6) ガイド鎖 : マイクロ RNA 2 本鎖のうち、標的の遺伝子に結合する RNA 鎖

#### 【研究支援】

本研究は、AMED の P-CREATE (JP21cm0106202) の支援を受けました。

#### 【研究者プロフィール】

杉戸 信彦 (すぎと のぶひこ)

岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科 特任助教

<略歴>

2014 年 3 月 岐阜大学工学部生命工学科 卒業

2014 年 4 月 岐阜大学大学院工学研究科生命工学専攻 入学

2016 年 3 月 岐阜大学大学院工学研究科生命工学専攻 修了

2016 年 4 月 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科創薬科学専攻 入学

2019 年 3 月 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科創薬科学専攻 修了 博士 (薬科学)

2019 年 4 月 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科 AMED 研究員

2022 年 4 月 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科 特任助教



#### 【研究者プロフィール】

赤尾 幸博 (あかお ゆきひろ)

岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科 特任教授

<略歴>

1978 年 3 月 大阪医科大学卒業

1978 年 4 月 名古屋第一赤十字病院内科 (骨髄移植)

1984 年 4 月 名古屋大学医学部第一内科、分院内科 (医学博士取得)

1988 年 9 月 米国ウイスター研究所 (Dr. Calro Croce)

1990 年 9 月 名古屋大学医学部分院内科

1991 年 4 月 愛知県がんセンター研究所 (化学療法部) 主任研究員

1993 年 9 月 大阪医科大学 助教授

1996 年 7 月 岐阜県国際バイオ研究所 部長

2009 年 4 月 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科 教授

2018 年 4 月 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科 特任教授



**【問い合わせ先】**

＜研究に関すること＞

岐阜大学連合創薬医療情報研究科 特任教授 赤尾 幸博

電話：058-230-7607

E-mail：yakao@gifu-u.ac.jp

＜報道に関すること＞

岐阜大学総務部総務課広報グループ

電話：058-293-3377

E-mail：kohositu@gifu-u.ac.jp

＜AMED 事業に関する問い合わせ＞

国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）

創薬事業部 医薬品研究開発課

次世代がん医療創生研究事業（P-CREATE）

TEL：03-6870-2311

E-mail：cancer@amed.go.jp