Press Release

MAKE NEW STANDARDS. 東海国立大学機構 | 岐阜大学

国立大学法人 東京医科歯科大学 TOKYO MEDICAL AND DENTAL UNIVERSITY

2023 年 8 月 25 日

記者会、記者クラブ 各位

犬悪性黒色腫症例に対する 合成マイクロ RNA-634 を用いた新規治療法の開発

【本研究のポイント】

・ヒトと同様に犬の悪性黒色腫（メラノーマ）[#1] は極めて予後の悪いがんであり、有効な治療法の開発が求められています。両種間で腫瘍生物学的な性質が似ていることから、犬を対象とした研究成果は、ヒト臨床応用にもつながることが期待できます。

・ヒトがん抑制型マイクロ RNA（miRNA）[#2] の 1 種であるマイクロ RNA-634（miR-634）[#3] は、犬悪性黒色腫へ導入することにより、ヒト標的遺伝子のオルソログ[#4] である犬の標的遺伝子の発現抑制を介して、顕著に細胞死を誘導することを見出しました。

・さらに、ペット犬に自然発症した悪性黒色腫に対する合成 miR-634 の腫瘍内局所投与による臨床試験において、7 症例中 4 症例で明確な抗腫瘍効果が認められました。

【研究概要】

東海国立大学機構 岐阜大学応用生物科学部 森 崇教授、同附属動物病院 吉川 竜太郎、東京医科歯科大学・難治疾患研究所 井上 純准教授（研究当時）と同・リサーチコアセンター長の 稲澤譲治特任教授らの研究グループは、ペット犬自然発症悪性黒色腫に対して、合成 miR-634 の腫瘍内局所投与は、抗腫瘍効果を示すことを明らかにしました。犬の悪性黒色腫は難治性疾患であり、有効な治療法が確立されておりません。本成果は、合成 miR-634 を用いたマイクロ RNA 核酸抗がん薬は、犬及びヒト悪性黒色腫の新たな治療モダリティとなることが期待できます。

本研究成果は、日本時間 2023 年 8 月 8 日に Cancer Gene Therapy 誌のオンライン版で発表されました。

【研究背景】

犬の口腔内に発生する悪性黒色腫は極めて予後の悪いがんであり、局所治療法として外科切除や放射線治療が実施されるものの、早期に肺や全身への転移病変が形成され死に至ることから、化学療法の全身治療が必要とされています。しかし、未だ犬悪性黒色腫に対する有効な全身治療法は開発されておらず新規治療法の開発が急務とされています。

miRNA は 20～24 塩基対からなる二本鎖 RNA であり、複数の標的遺伝子メッセンジャーRNA に直接結合することで、その発現を負に制御します。研究者らのグループでは、これまでにがん抑制型 miRNA の 1 種である miR-634 は、悪性黒色腫を含む様々なヒトがん細胞株において、顕著な細胞死誘導効果を示すことを明らかとしてきました。そこで、miR-634 が犬悪性黒色腫に対する新規治療モダリティとなり得るのではないかとの着想から、今回我々は、ヒトへの橋渡し研究も視野に入れて、犬悪性黒色腫の細胞株及びペット犬自然発症例に対する miR-634 の抗腫瘍効果の検証を行うこととしま

した。

【研究成果】

これまでに、悪性黒色腫細胞株を含めた様々なヒトがん細胞株への miR-634 の導入は、ASCT2（グルタミントランスポーター）、NRF2（抗酸化作用に関連する転写因子）、Survivin（抗アポトーシス作用）などのがん関連遺伝子 mRNA に直接結合し、遺伝子発現を抑制することで、顕著な抗がん作用を引き起こすことを明らかにしてきました。本研究において、犬悪性黒色腫細胞株への miR-634 の導入は、ヒトにおける miR-634 の標的遺伝子の犬オルソログの標的遺伝子（Asct2, Nrf2, Survivin）の発現抑制を介して、アポトーシスによる細胞死を誘導することを明らかにしました。（図 1）また、*In silico* 解析により、各標的遺伝子の配列内に miR-634 の結合配列を特定しました。これらの結果は、miR-634 は、ヒトと同様に犬悪性黒色腫細胞株においても、顕著な抗腫瘍効果を有することを示唆しています。

さらに、ペット犬悪性黒色腫自然発症例の評価で計 8 病変（口腔内原発病変 7 ヶ所、肺転移病変 1 ヶ所）が組み入れられ、治療反応は 3 病変で部分寛解（PR）、2 病変で維持病変（SD）、3 病変で進行病変（PD）でした。miR-634 の投与期間中央値は 53 日（範囲; 23-652 日）、投与回数中央値は 7 回（4-76 回）であり全例で血液検査に副反応と考えられるような所見は認められませんでした。（図 2, 表 1）

miR-634 の腫瘍内局所投与治療を受けた 1 頭（症例番号 1）では、原発病変および肺転移病変において顕著な腫瘍縮小効果が認められ、岐阜大学動物病院での通院外来治療により 2 年余りを飼い主のもとで暮らすことができました。

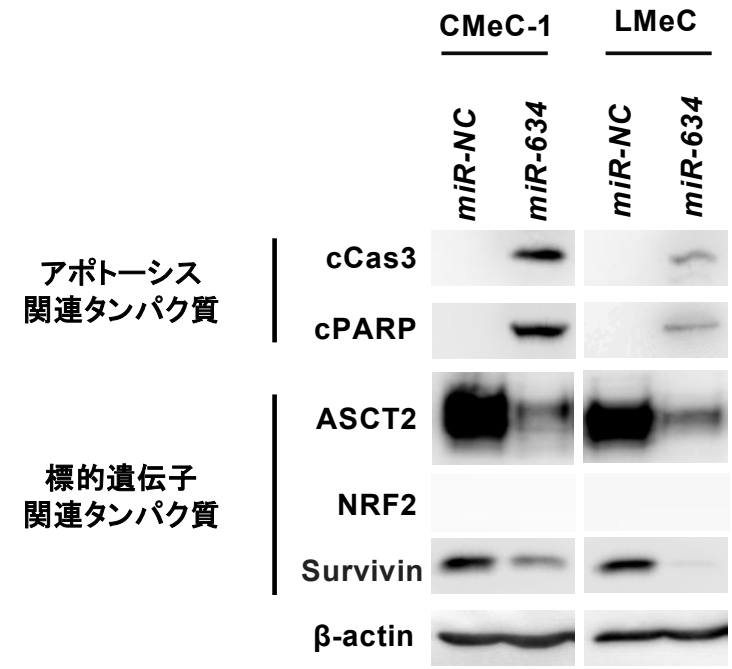

図 1 アポトーシス関連タンパク質と標的遺伝子関連タンパク質のウエスタンブロット結果

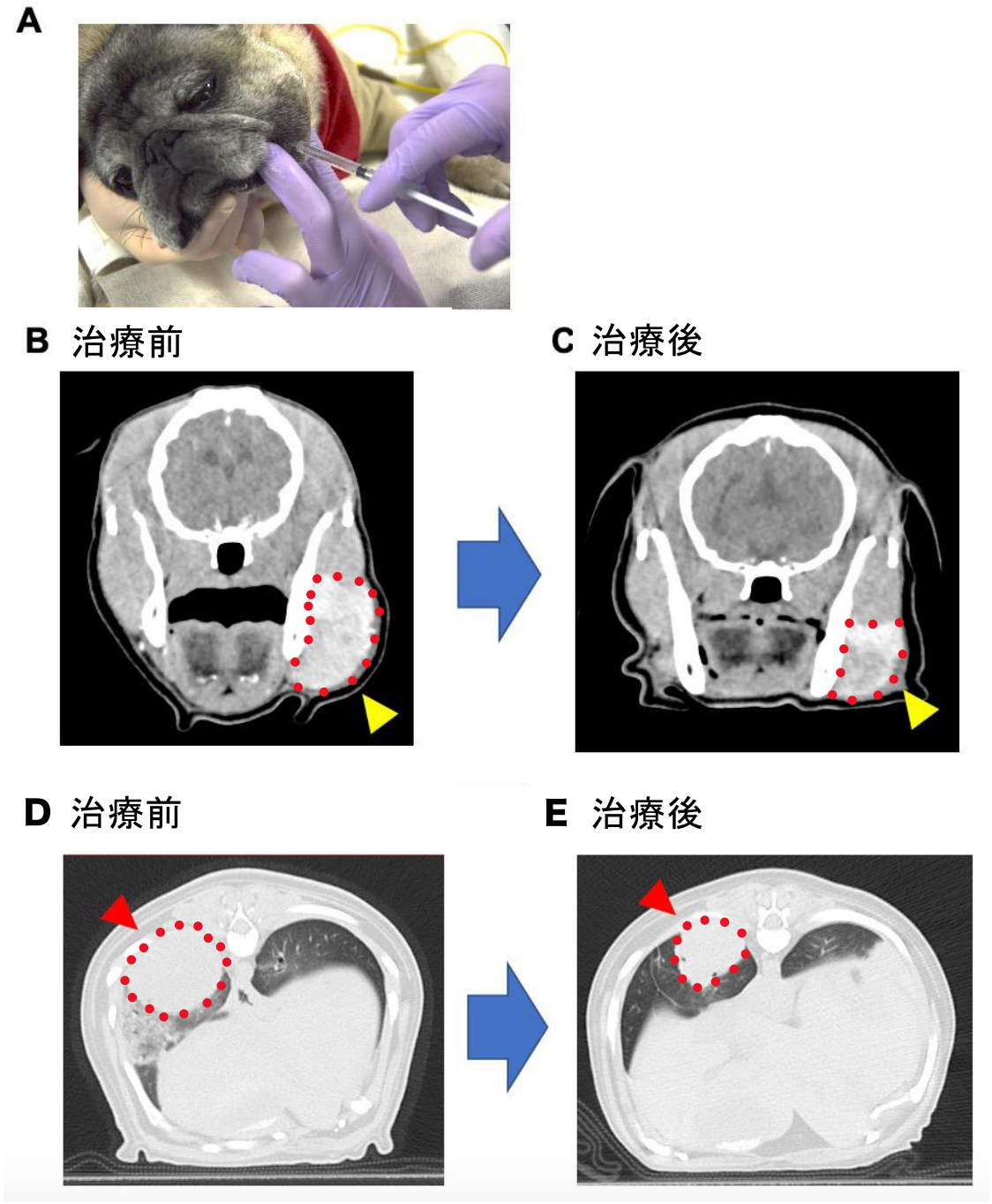

図 2 犬悪性黒色腫自然発症例における miR-634 の抗腫瘍効果
A. miR-634 の腫瘍内局所投与の様子。口腔内原発病変を目視下で局所投与した。
B. miR-634 投与前の口腔内腫瘍（黄色矢印）の造影 CT 画像。
C. miR-634 投与開始 582 日後の同じ病変。
D. miR-634 投与前の肺転移病変（赤矢印）の造影 CT 画像。
E. miR-634 投与開始 148 日後の同じ病変。

表 1 犬悪性黒色自然発症例(7 症例)における miR-634 の局所投与効果

症例番号	標的病変	投与期間（日）	投与回数（回）	効果	副反応	1回あたりのmiRNA投与量（nmol）
1	PL	652	76	PR	なし	2-8
	LML	239	34	PR		
2	PL	24	4	PD	なし	4-6
3	PL	23	4	PR	なし	8
4	PL	29	5	PD	なし	4-8
5	PL	43	7	SD	なし	2
6	PL	53	5	PD	なし	2-4
7	PL	226	30	SD	なし	2-10

LML,肺転移病変; PD,進行病変; PL, 口腔内原発病変; PR, 部分寛解; SD, 維持病変

【今後の展開】

我々は本研究において、合成 miR-634 の局所注入が犬の悪性黒色腫自然発症例における口腔内原発病変や肺転移病変に対して抗腫瘍効果を発揮することを明らかにしました。さらに、最大 652 日間にわたる長期的な miR-634 の投与においても、明らかな有害事象は認められませんでした。

これらの結果は、合成 miR-634 を用いた核酸抗がん薬は、犬の悪性黒色腫に対する新たな治療モダリティとなる可能性を示唆しています。将来的に、転移病巣を標的とした全身投与用の合成 miR-634 核酸抗がん薬の開発にもつながることが期待されます。

【用語解説】

#1 悪性黒色腫:メラニン色素を作る細胞(メラノサイト)ががん化して発生する悪性腫瘍のこと。犬の悪性黒色腫は口腔粘膜や皮膚に発生することが多く、特に口腔粘膜から発生するものは非常に予後が悪い。

#2 マイクロ RNA:全長 20-25 塩基ほどの小分子 RNA であり、標的遺伝子の転写産物に結合することで遺伝子発現を調節している。

#3 miR-634:がん抑制型 miRNA の 1 種であり、がん細胞内へ導入することでアポトーシス誘導による細胞死を引き起こす。

#4 オルソログ(ortholog):複数の種、例えばヒトと犬において相同遺伝子が存在し、それらが同じ機能をもっている場合をオルソログ(ortholog)という。

【論文情報】

雑誌名:Cancer Gene Therapy
論文タイトル:Therapeutic applications of local injection of hsa-miR-634 into canine spontaneous malignant melanoma tumors
著者:Ryutaro Yoshikawa, Jun Inoue, Ryota Iwasaki, Mitsuhiko Terauchi, Yuji fujii, Maya Ohta, Tomomi Hasegawa, Rui Mizuno, Takashi Mori, Johji Inazawa
DOI: https://doi.org/10.1038/s41417-023-00656-5

Press Release

【問い合わせ先】
＜研究に関すること＞
東海国立大学機構 岐阜大学応用生物科学部共同獣医学科 教授 森 崇
電話: 058-293-2962
E-mail: mori.takashi.v3@f.gifu-u.ac.jp

＜報道に関すること＞
東海国立大学機構 岐阜大学 総務部広報課広報グループ
電話：058-293-3377
E-mail：kohositu@t.gifu-u.ac.jp

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係
電話：03-5803-5833
E-mail：kouhou.adm@tmd.ac.jp