

## Ⅲ. 研究開発成果について

1. 事業全体の成果
2. 研究開発項目毎の成果

プログラム名 健康安心イノベーションプログラム

(中項目)細胞アレイ等による遺伝子機能の解析技術開発

---

リーダー 杉山雄一

東京大学大学院・薬学研究科

サブリーダー 三宅 淳

東京大学大学院・工学研究科・バイオエンジニアリング専攻

(現)大阪大学大学院・基礎工学研究科・機能創成専攻

## 細胞アレイ等による遺伝子機能の解析技術開発

最終目標(平成21年度末)

---

細胞応答の時間的な変動解析が可能な統合化されたターゲットバリ  
デーションシステムを構築し、ヒト臨床細胞を用いて動的なパスウェイ  
(シグナル伝達ネットワーク)構造を簡易に抽出できる方式を確立する。  
〈主に第2章〉

本方式を良く研究された既知パスウェイの解析に適用することで解析精  
度や解析速度の有効性を検証するとともに〈第2章〉、  
実際の創薬ターゲット遺伝子の探索に用い、複数種の創薬ターゲット候  
補遺伝子の同定に適用することで、創薬支援ツールとしての実用性を  
証明するとともに〈第2章、第4章〉、  
産業上有用な解析ツールとして完成させる。〈第3章、第4章〉

注)「細胞アレイ等」=ヒト細胞を用いた技術の総称として用いている

# 成果

---

新規「パスウェイ創薬技術」を創出

# 成果：新規パスウェイ創薬技術の創出

---

## 【既存ゲノム創薬技術の問題点】

がん化に係わる遺伝子は多数相互連関しており、正疑判定＝絞り込みが困難であった（ハイスループット技術の限界、創薬効率低下）

## 【問題の解決＝プロジェクトの成果】

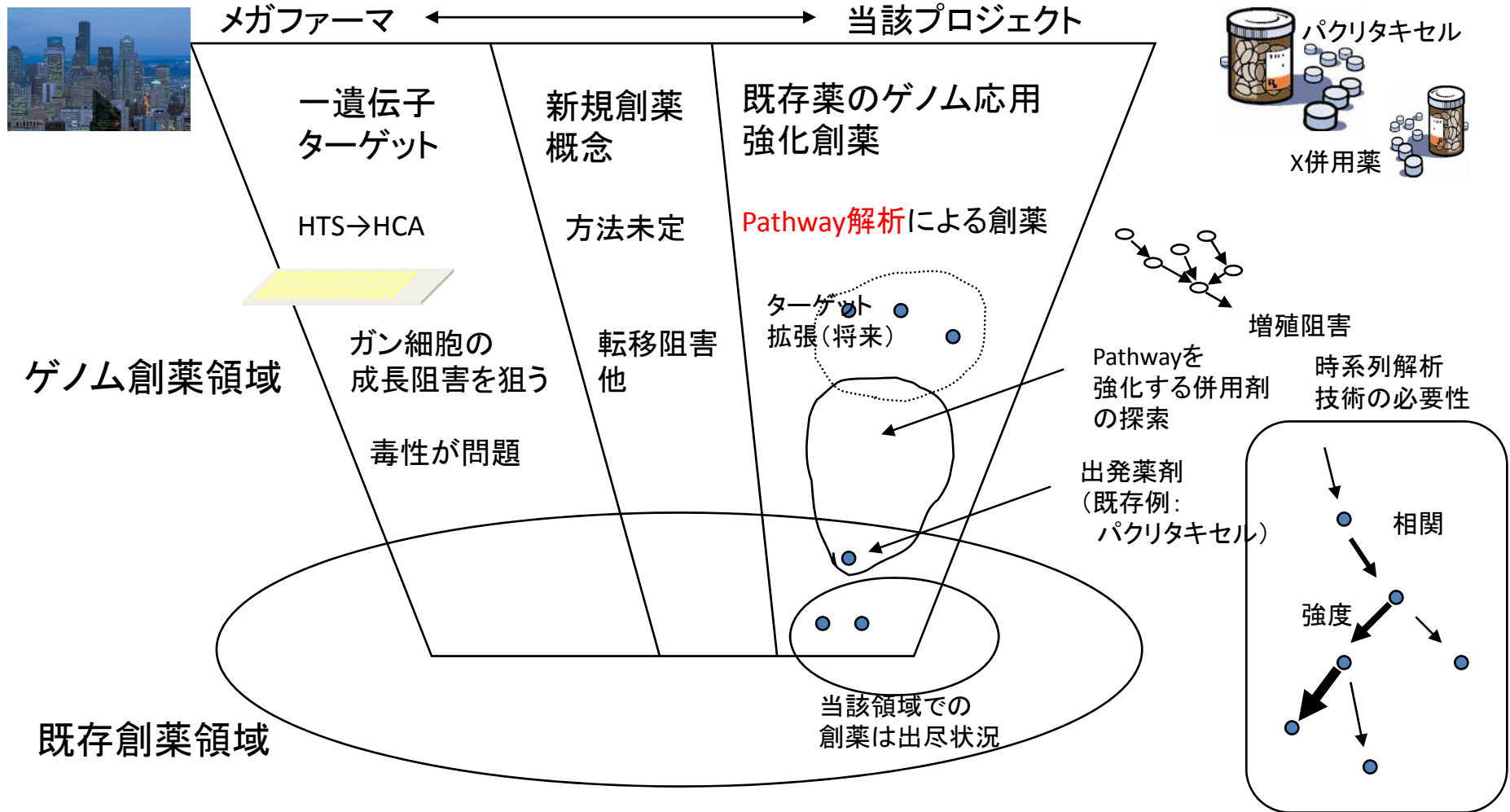
本プロジェクトでは遺伝子範囲の絞り込み方法と、遺伝子間の相互関係を解析する方法を開発した（新規「パスウェイ解析技術」の提示）

それにより、既存薬を補強し、高度な薬効を有する併用薬の開発が可能となった（パクリタキセルの高度化の道が開けた）

機能性化粧品の開発にも応用が開始されている（皮膚がん予防効果：企業での実用化研究開始）

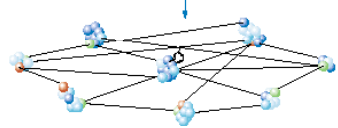
がん転移メカニズム解明の手法を開発した（転移＝がん死第1原因）

# ゲノム創薬の方法と当該プロジェクトの指向ポイント(案)



単純なネットワーク議論ではなく、細胞内の分子状態を統合的に表現する方法を探索する。細胞の物理的予測評価技術への発展を将来的に引き続き検討する。

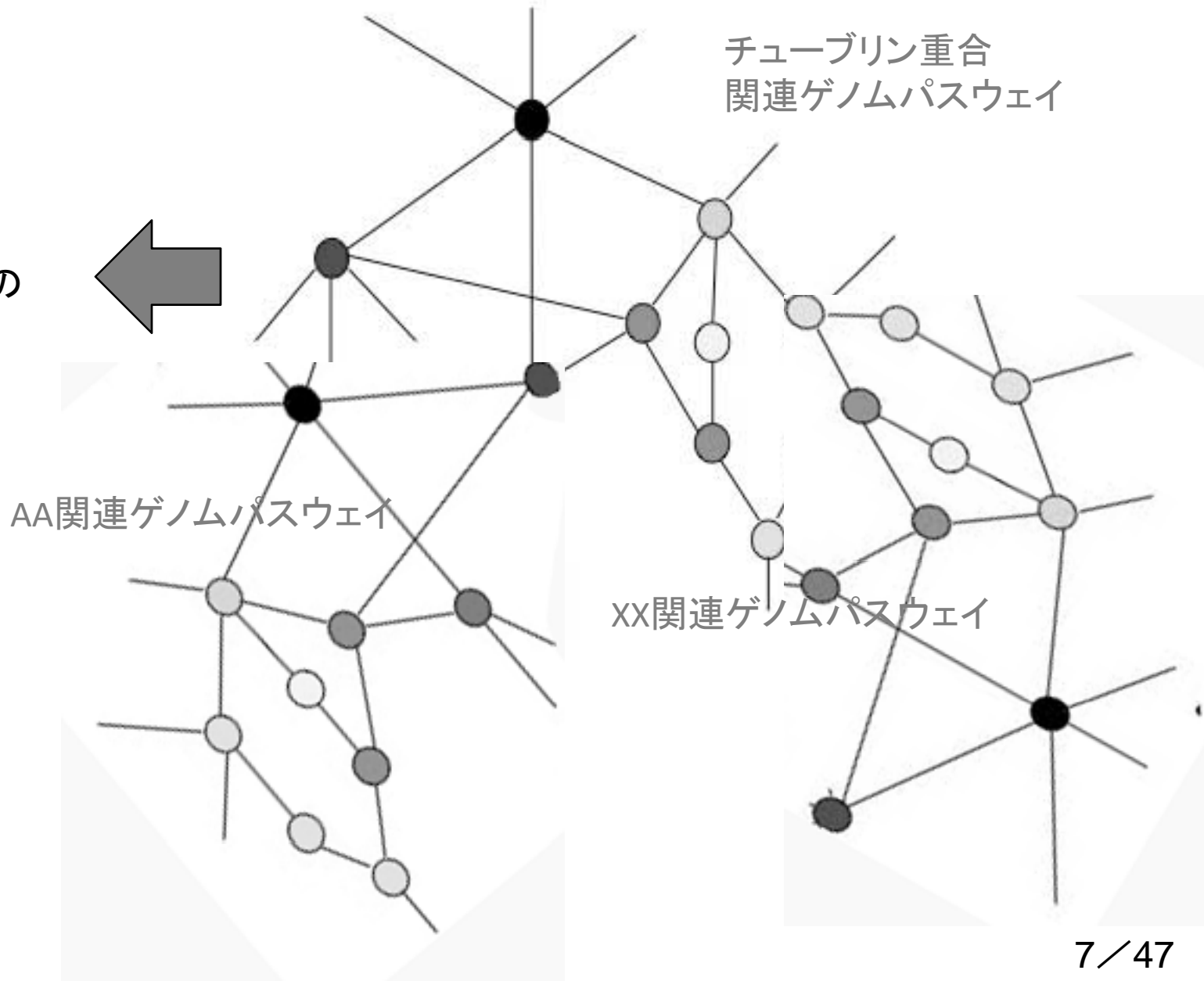
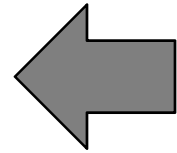
N次元要素(遺伝子、パスウェイ、時間)からなる状態



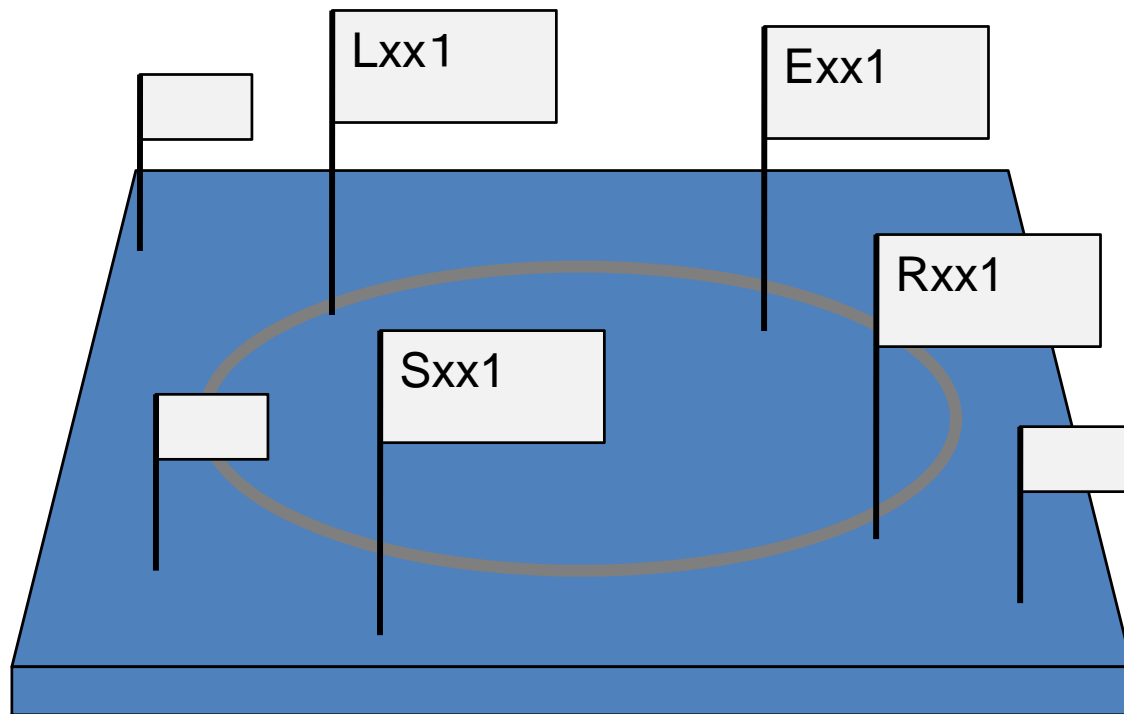
多次元的な解析による高次元細胞像の理解

# 遺伝子ネットワークの解析技術

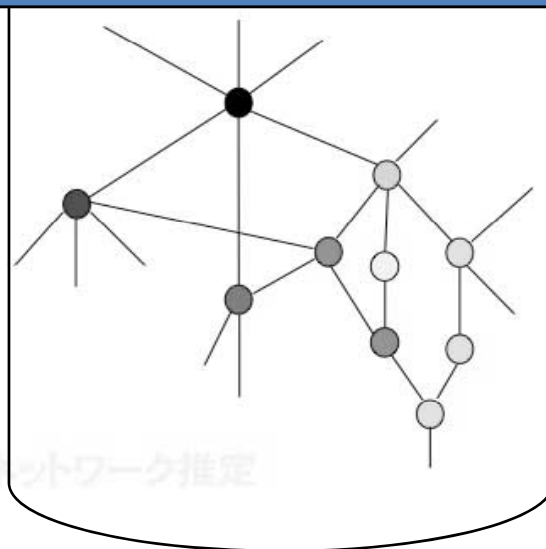
さらに  
ネットワークの  
時系列変化  
が生じる



# 解析方法(1)範囲の限定



パクリタキセルにかかわる  
ゲノムネットワークが想定  
されるおおよその範囲推  
定技術(Combination  
Therapyの基本)をがん研  
が発(患者データから抽  
出)



チューブリン重合  
関連ゲノムパスウェイ

ネットワークの太さ・方向を測  
る技術をCBRCが開発  
(主要な群の把握)



# 解析方法(2) ネットワークの構造と時系列特性の解析

## 従来法

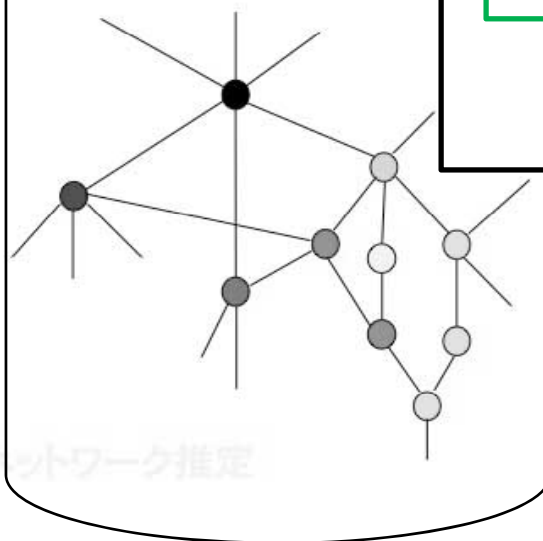
- 誤差関数

$$E = \sum_{t=1}^T \left| \frac{X_{1,t}^s - X_{1,t}^m}{X_{1,t}^m} \right|$$

## 新規開発法(記号・数値最適化)

$$E' = \alpha \sum_{t=1}^T \left| \frac{X_{1,t}^s - X_{1,t}^m}{X_{1,t}^m} \right|$$

$$+ (1-\alpha) \sum_{t=1}^T (|C_1| + |C_2| + |C_3| + |C_4|)$$



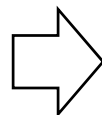
ネットワークの太さ・方向を測る技術をCBRCが開発  
(主要な群の把握)

# Pathway解析による創薬の基盤確立

公開

## 問題点

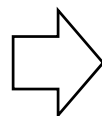
従来、分子を標的として探索  
一方、生体分子は分子間相互作用により「機能」を発揮



## 解決方針(パラダイムシフト)

標的分子探索から標的パスウェイ探索へ転換  
(ハイスループット探索による創薬には限界)

従来、一時点もしくは時間を無視して細胞状態を探索  
一方、生細胞は時間変化に応じて「機能」を変化

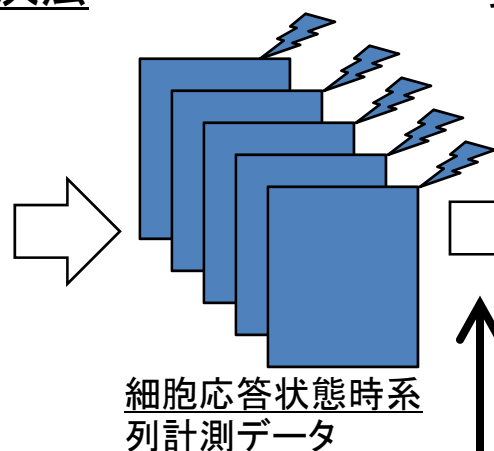


単純な遺伝子探索から時系列パスウェイ解析へ転換  
(分子から分子集合(パスウェイ)の動的状態把握へ転換)

## 解決法

多元動的状態解析→探索空間の絞り技術との連携により、高度動態解析や多次元ポテンシャル空間表現

対象疾患



細胞応答状態時系列計測データ



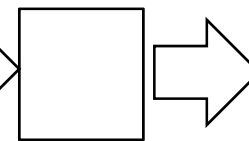
特異的パスウェイ候補

特異的相関の推定



特異的パスウェイ構成分子時系列データ

相関時間変化の計測



主要パス候補

相関強度の推定

パスウェイ制御方法

“Network Screening”(CBRC・堀本)  
ネットワーク補完(京大・阿久津)

生細胞時系列計測

高精度パラメータ推定

# 高速化、精密化、大規模性、絞り込み、に関する状況

公開

高速化と大規模性は可能であれば有用

現状は精密さと大規模性は必ずしも同行しない

絞り込み：選択方法が科学的に確立していることが求められる

パスウェイ解析：精密計測技術が必要

パスウェイに関するより深い科学的理解が必要

遺伝子発現の測定は細胞内状態についてどのような理解を提供するか

システムバイオロジーの発展と共に理解が深まると考えられる

数的な把握が必須。単純な相関ではなく、細胞内の分子の挙動が形成する(あるいは従う)独自の数的関係の理解が必要

細胞を用いる条件：

細胞の特性が体内にあるときの状態を正しく維持するか

変化したとしても体内における状態へ換算できる様な理解があるか

それとも少なくともマウスの実験よりは信頼できるデータが得られるか

# 高速化、精密化、大規模性、絞り込み、に関する状況

公開

高速化と大規模性は可能であれば有用  
現状は精密さと大規模性は必ずしも同行しない

絞り込み: 選択方法が科学的に確立していることが求められる

パスウェイ解析: 精密計測技術が必要  
パスウェイに関するより深い科学的理解が必要

遺伝子発現の測定は細胞内状態についてどのような理解を提供するか  
システムバイオロジーの発展と共に理解が深まると考えられる  
数的な把握が必須。単純な相関ではなく、細胞内の分子の挙動が  
形成する(あるいは従う)独自の数的関係の理解が必要

細胞を用いる条件:  
細胞の特性が体内にあるときの状態を正しく維持するか  
変化したとしても体内における状態へ換算できる様な理解があるか  
それとも少なくともマウスの実験よりは信頼できるデータが得られるか

当プロジェクトは応用技術を目指すものであるが、上記の大きな技術発展の一部でもあり、創薬技術の将来方向をデータと技術開発をもって示す役割になっていると考える

## 第2章

---

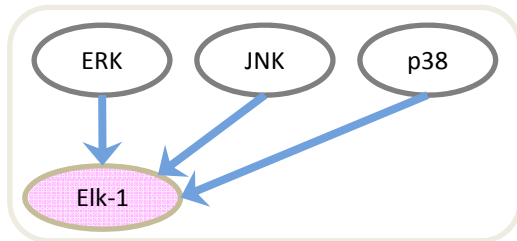
# 時系列解析技術開発

# CBRC、東大、RICEつくば

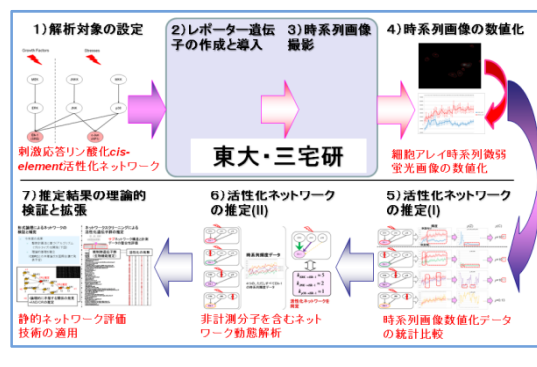
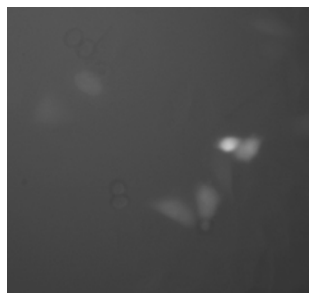
刺激応答リン酸化cis-elementに関して、生きた細胞内で活性化ネットワークの同定を可能にする新技術を開発した。

## Input

対象ネットワークの設定



細胞アレイ(well)による撮像

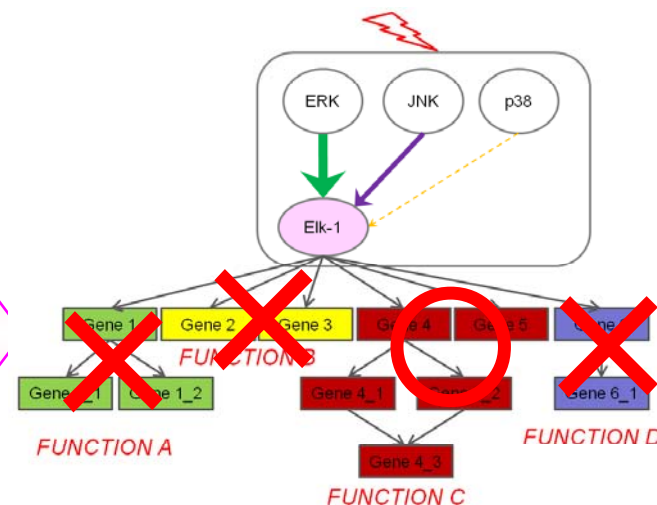


## Software

新技術

- ◆ 微弱蛍光画像の数値化
- ◆ 非計測分子を含むネットワーク動態解析
- ◆ 静的ネットワーク評価解析

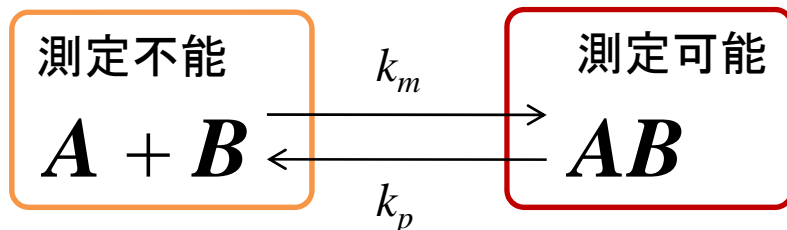
## Output



生細胞内の活性化ネットワークを同定・検証・拡張

### 3. 非計測分子を含むネットワーク動態解析技術

#### 結合と解離

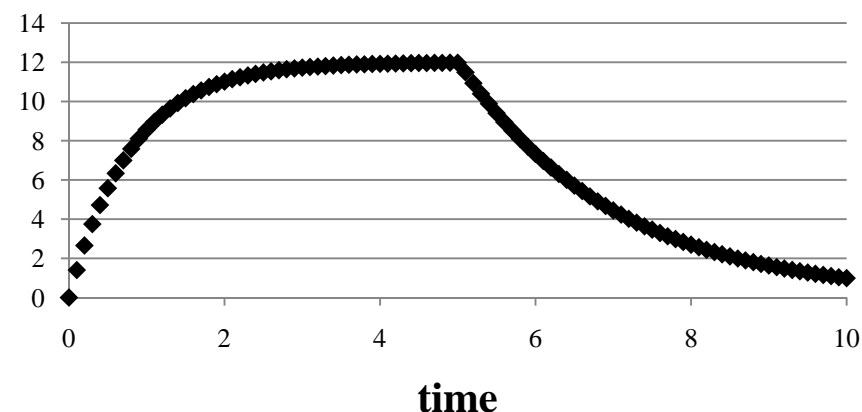


$$\begin{cases} \frac{d[B]}{dt} = k_m[AB] - k_p[A][B] \\ \frac{d[AB]}{dt} = k_p[A][B] - k_m[AB], \end{cases}$$

where  $\begin{cases} [A] = a & \text{if } t \leq t_c \\ [A] = 0 & \text{otherwise} \end{cases}$

事業原簿 40頁

Reference Curve for [AB]



反応パラメータ

$$k_p = 0.05, k_m = 0.5, t_c = 5.0$$

初期値

$$A(0)=15.0, B(0)=20.0, \\ AB(0)=0.0$$

実数値遺伝的アルゴリズム(UNDX + MGG)

終了条件

許容誤差 : 1.0%

最大世代数 : 20,000

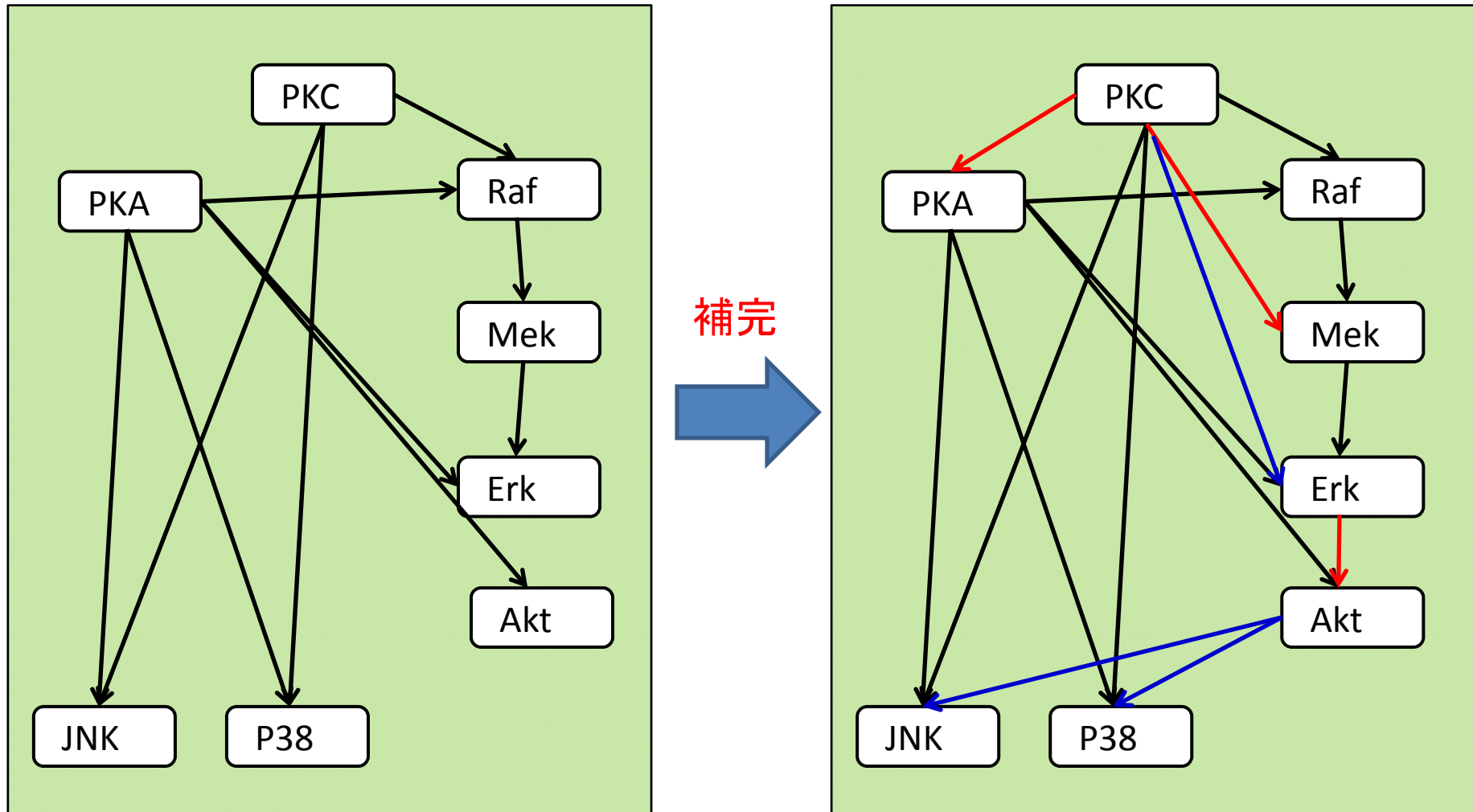
試行回数 : 200

$\alpha=0.1$

最適化対象の反応パラメータ:  $k_p, k_m$

# 5. ネットワーク補完技術

## シグナル伝達ネットワークへの適用

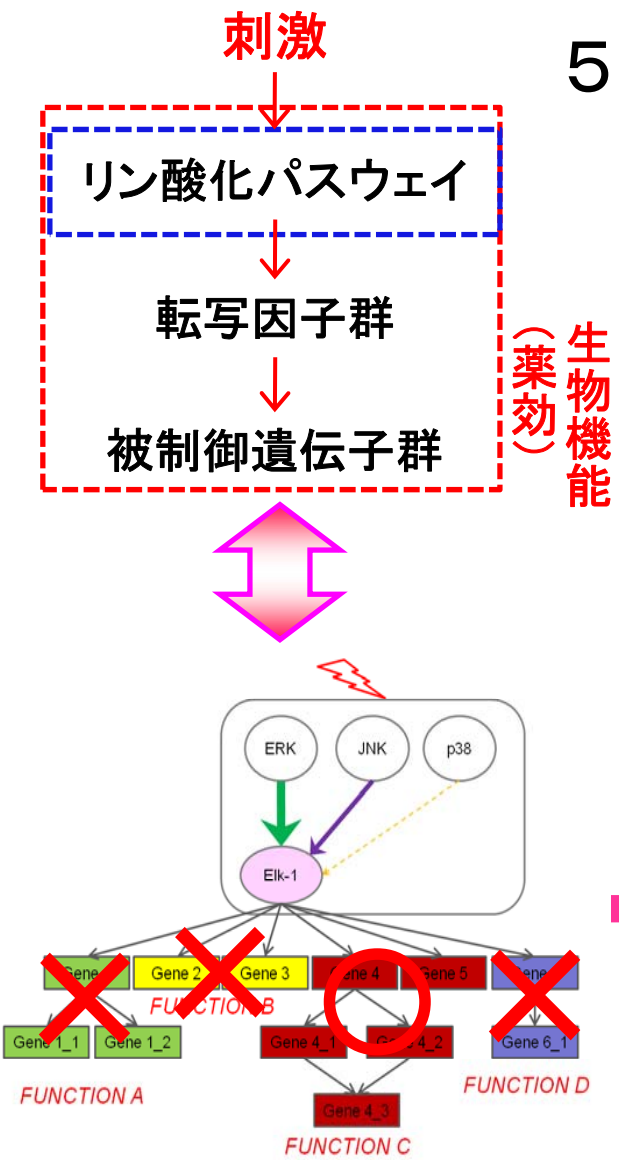


→ 妥当そう

→ 妥当でなさそう？



# 5. ネットワーク補完技術(つづき)



生細胞内の活性化ネットワークを同定・検証・拡張  
 事業原簿 40頁

未解決問題の解決  
 高精度  
 Easy-handling

実用的かつ  
 広範囲な適用

従来の標的絞り込みに比べ、革新的に高精度  
 ▼生きた細胞で  
 ▼転写因子の活性化に注目  
 ▼複数分子の関連性(ネットワーク)  
 ▼高精度解析のプロトコルが単純  
 ▼レポーター遺伝子の導入  
 ▼蛍光の撮影  
 ▼解析ソフトウェアによる判定

刺激毎に異なる主要経路の同定

細胞種毎に異なる主要経路の同定

主要経路制御下の遺伝子群の同定

創薬スクリーニングのみならず、  
 様々な創薬プロセスに有効

17 / 47

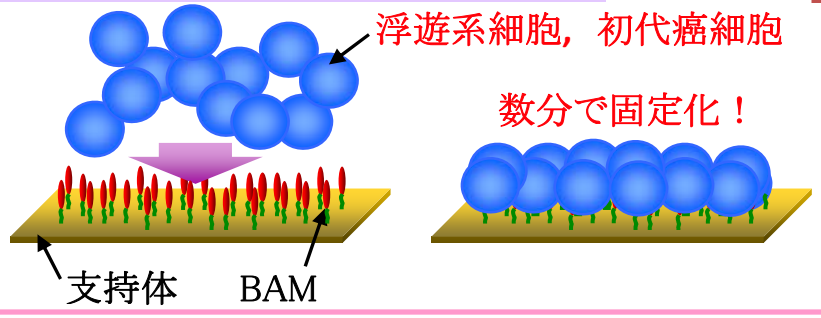
## 第3章

---

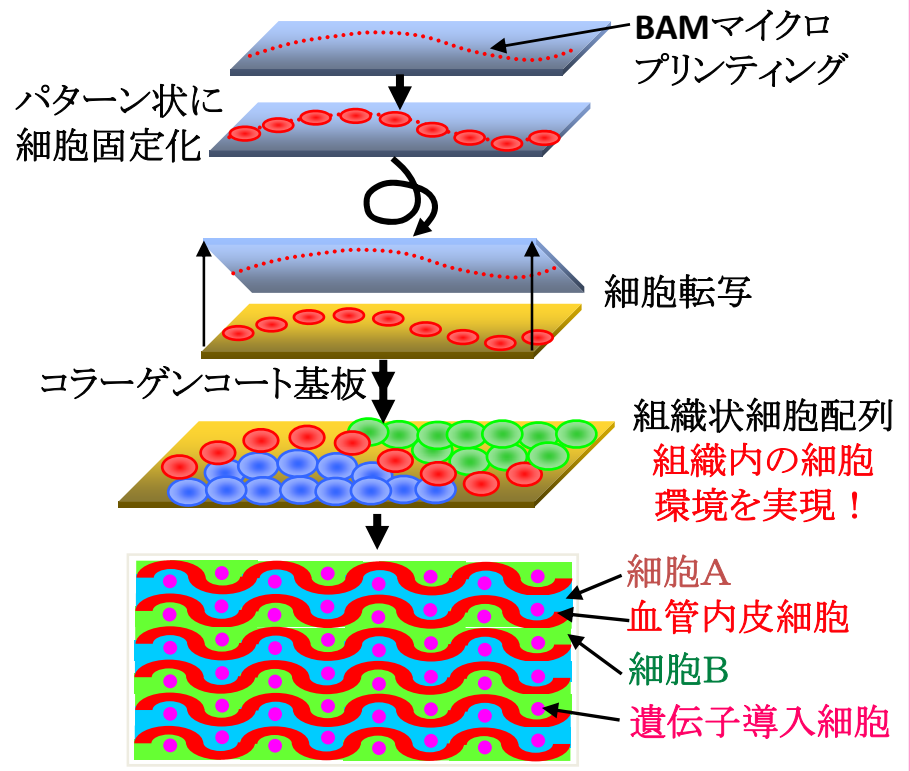
# デバイス関連技術開発

# ①浮遊系細胞用セルアレイ技術の研究開発

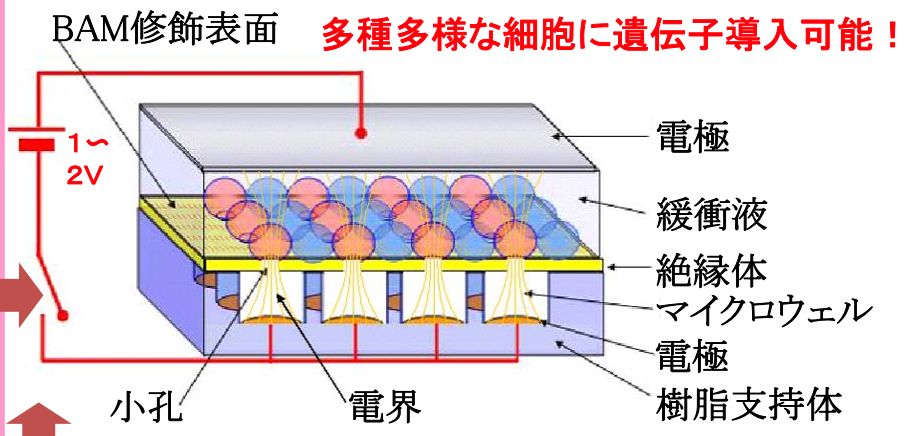
BAM修飾表面への迅速な細胞固定化



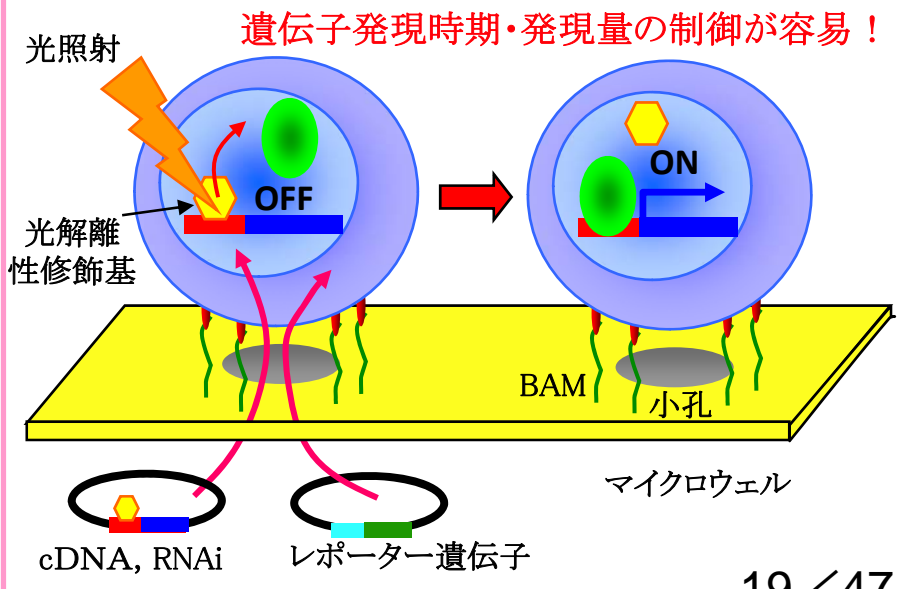
BAMマイクロパターンを使った細胞転写



電界集中型エレクトロポレーション法による細胞内遺伝子導入量の制御

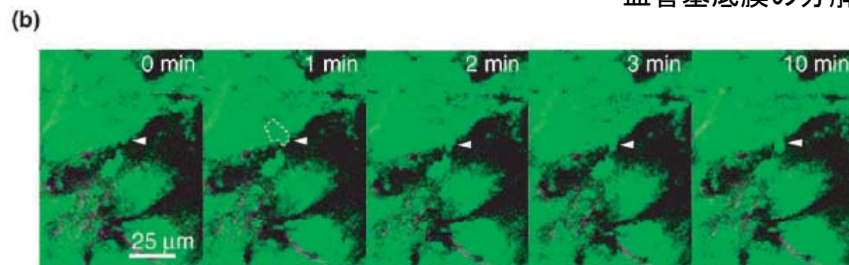
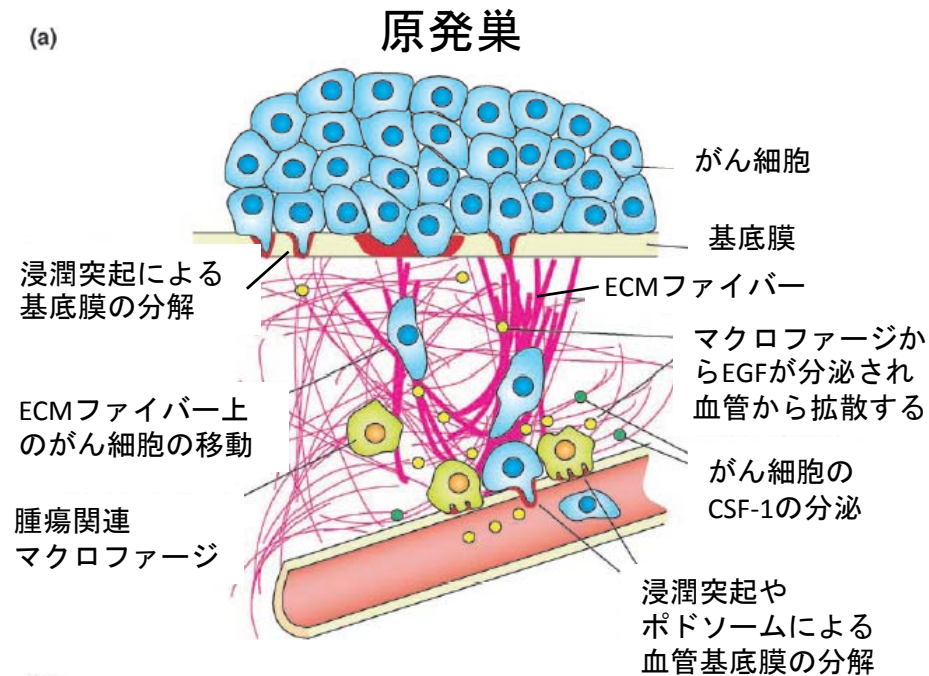


光刺激による遺伝子発現時期・発現量の制御

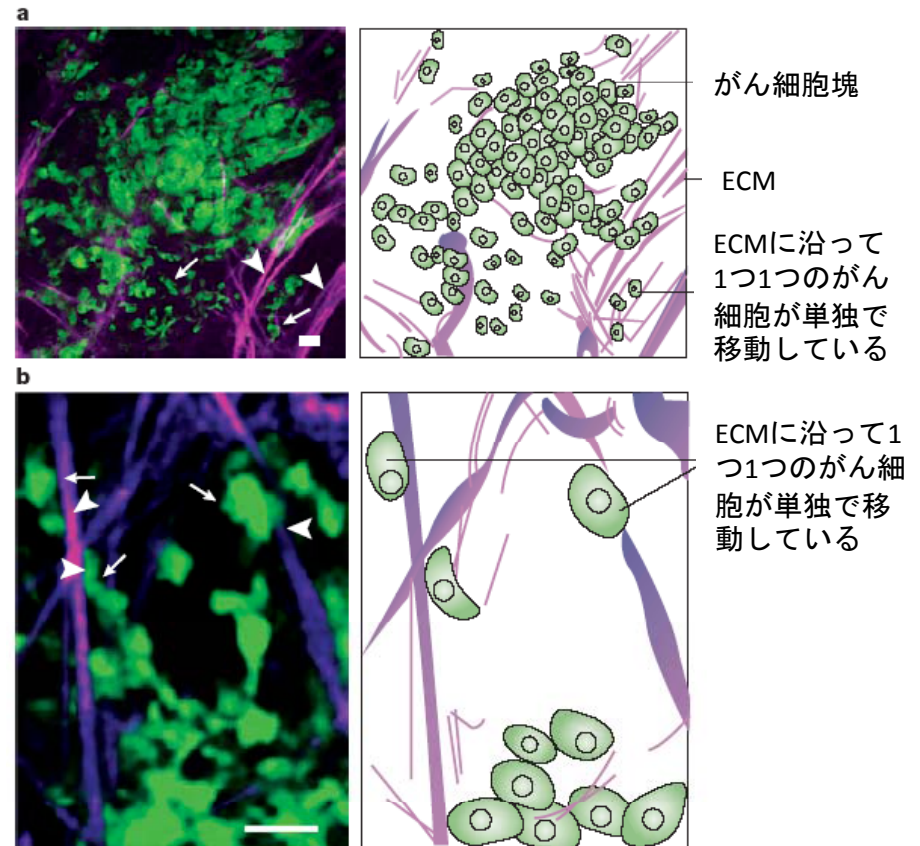


# 癌細胞運動性評価チップの開発

## 癌組織における細胞運動の可視化

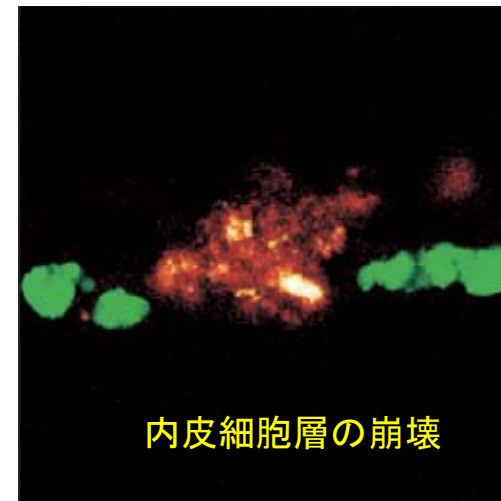
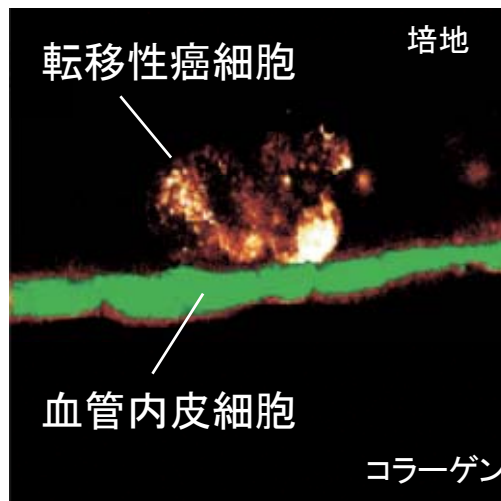
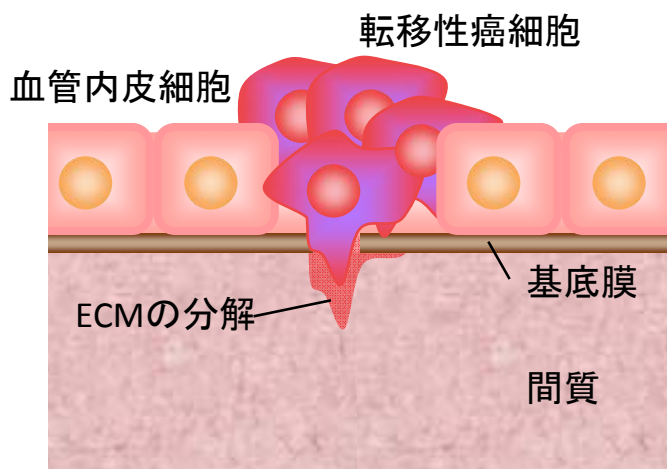


Current Opinion in Cell Biology

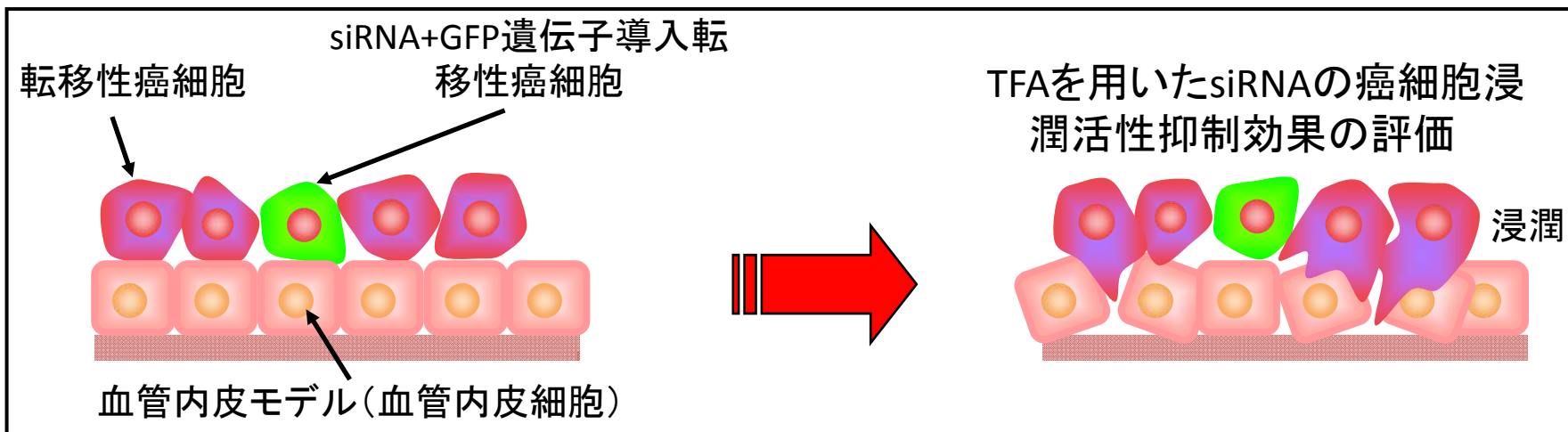


# 癌細胞浸潤能評価チップの開発

癌細胞の血管内皮細胞層への浸潤



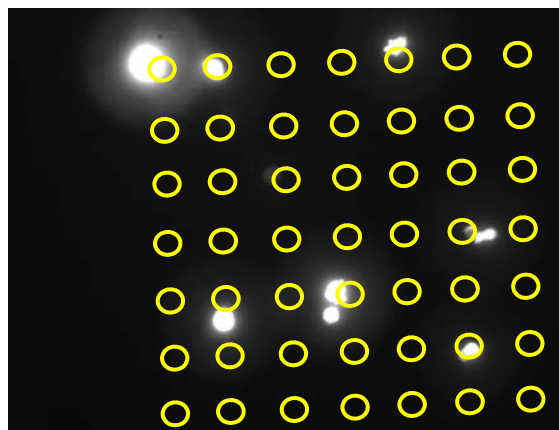
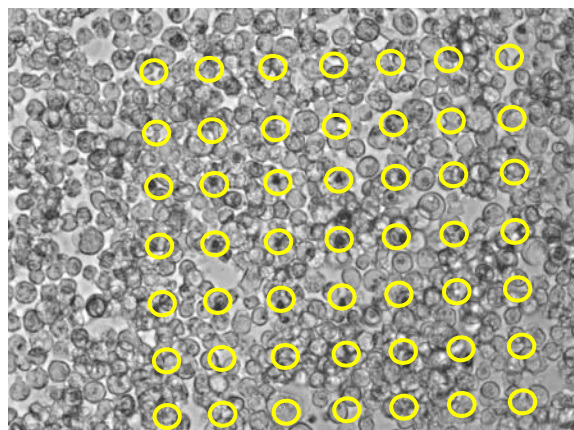
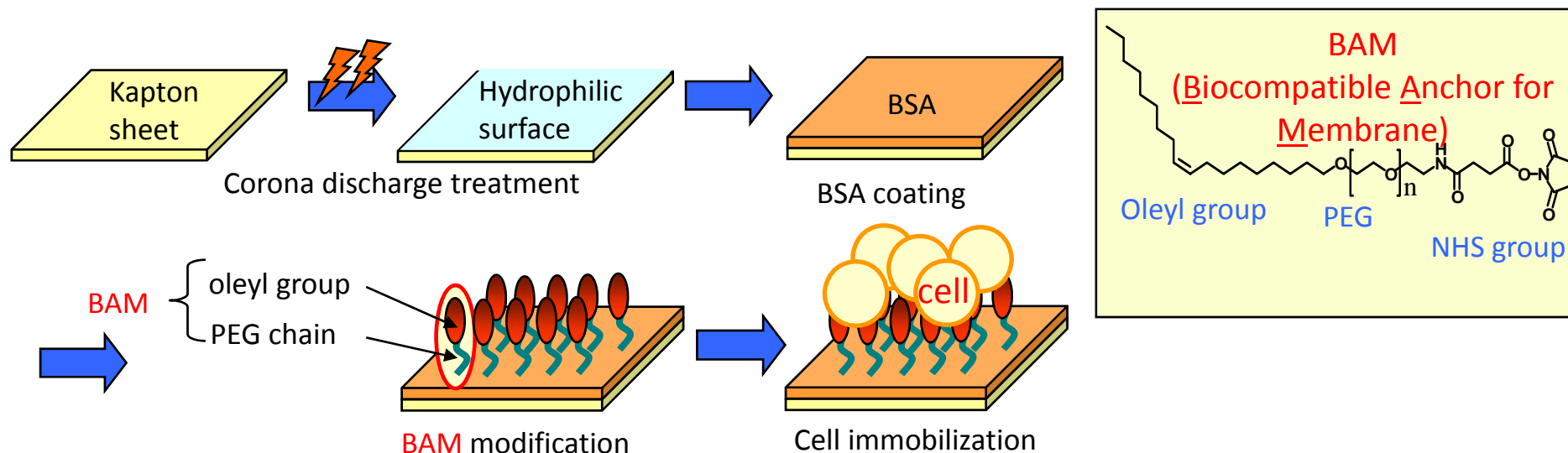
J Cancer Res Clin Oncol (2002) 128: 533-538





# 低侵襲高効率な遺伝子導入デバイスの開発

浮遊系細胞へのプラスミドの導入



細胞 : K562  
プラスミド : 200ng/ $\mu$ l pVirus-C1  
パルス : 矩形波, 10V, 100msec, single

## 低侵襲高効率な遺伝子導入デバイスの開発

### 高密度オリフィスの開発

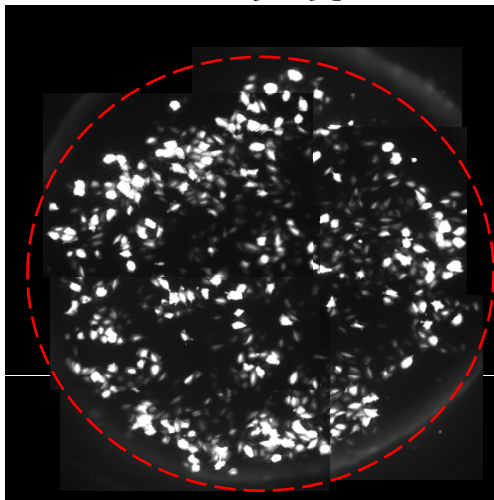
電気泳動により核にプラスミドを導入すれば高発現率



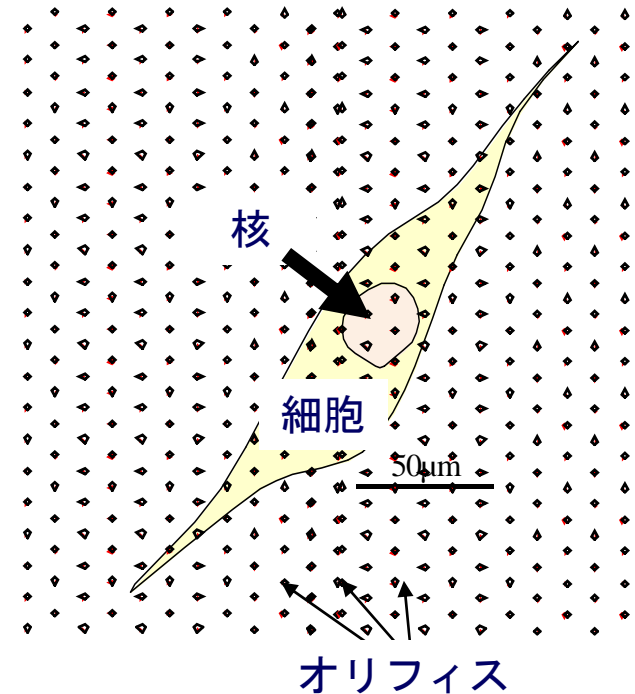
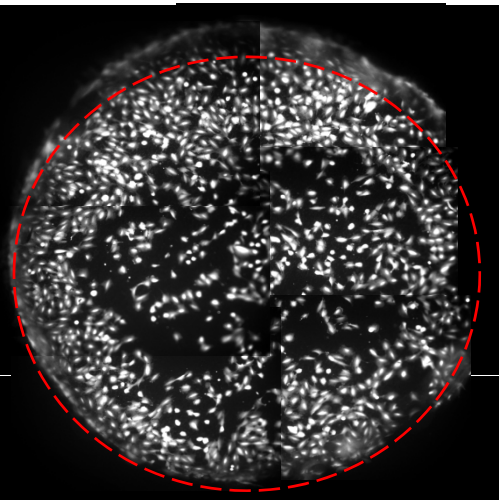
- ・核の直下に1つ以上のオリフィスがあり、かつ十分な電界集中が得られるよう、ピッチを最適化
- ・リソグラフィーによるオリフィスシート作製法の開発

### 実験結果

GFP発現



カルセイン染色  
(生細胞が光る)



- ・数10%の導入率が安定して得られた
- ・パルス印加前とほぼ同じ生細胞数

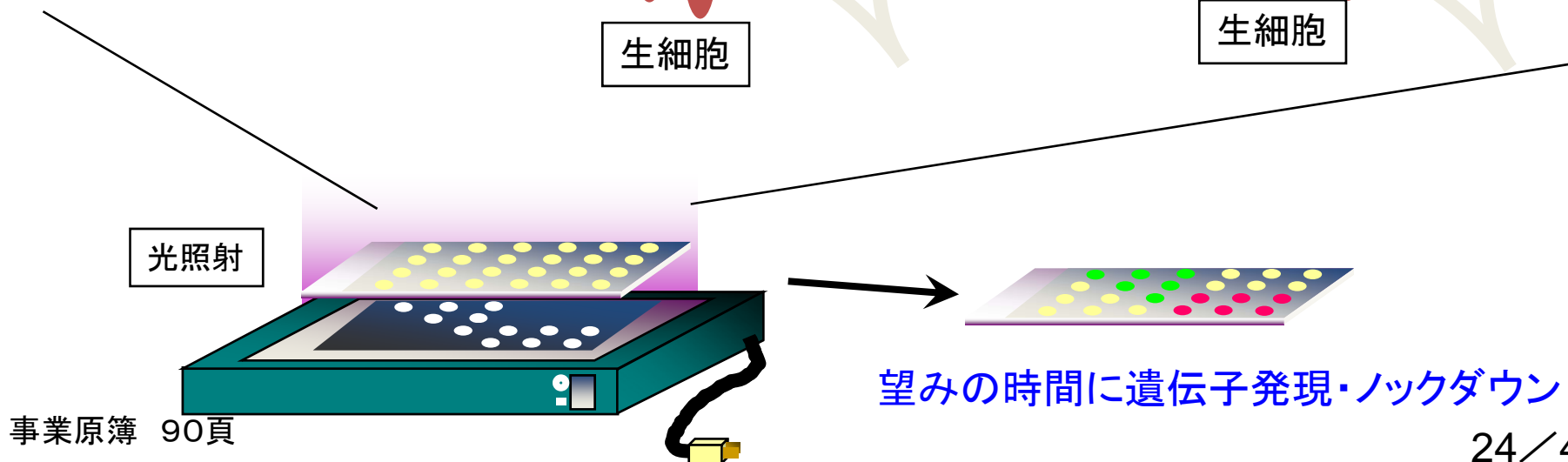
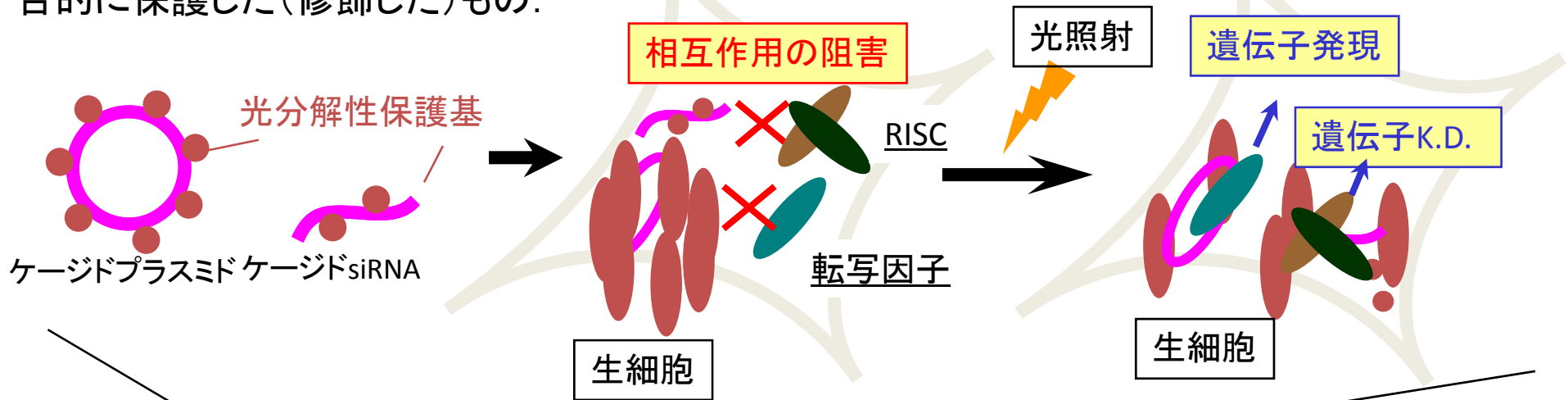
媒質：マンニトール溶液，濃度：150mM，  
導電率：1mS /cm (生理塩濃度～10mS/cm)  
細胞：MSC細胞，444個/mm  
パルス：4V，200msec矩形波，単発

遺伝子発現・抑制の同期化技術の開発

ケージド核酸を用いた遺伝子発現制御

ケージド核酸

光分解性化合物で核酸を共有結合的に保護した(修飾した)もの.





## 第4章

---

# 応用研究 創薬へ向けての技術応用へのアプローチ

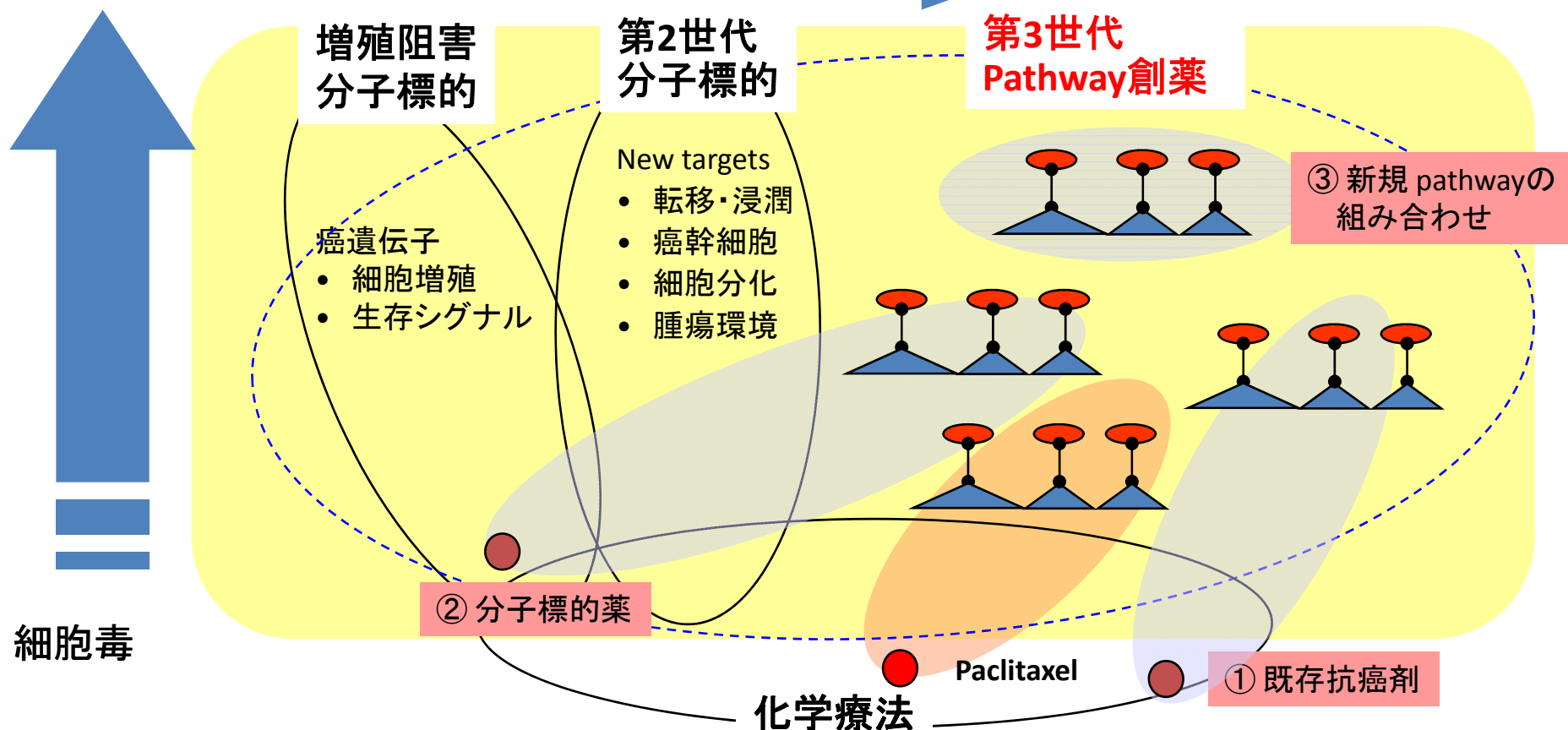
# 最終報告の要点 / 癌研・協和発酵キリン

公開

抗癌剤創薬から見たプロジェクト成果の位置付け

分子標的創薬

Pathway創薬



Pathwayとして抽出される標的とその組み合わせによる新たな創薬展開

- ① 既存抗癌剤とその感受性関連pathwayの組み合わせ
- ② 分子標的薬とその感受性関連pathwayの組み合わせ
- ③ Pathway組み合わせ

# 本プロジェクトの位置付け;世界の動向

## ➤ 分子標的薬の感受性・非感受性バイオマーカー

Greevec ; BcrAbl耐性変異 (→ 耐性変異に有効な第2世代のキナーゼ阻害剤開発)

Iressa、Tarceva ; EGFR感受性変異(野生型の患者には効きにくい)

Cetuximab ; K-ras(下流因子)活性化患者は非感受性 (→ K-ras変異診断で患者選択)

臨床試験から見つかった分子標的薬単剤の効果予測マーカー  
(併用効果を予測するものではない)

## ➤ マイクロアレイ解析による予測

患者予後、薬剤感受性、非感受性の患者 or 細胞株

Oncotype DX、MammaPrint ; 乳癌再発と相関する遺伝子発現パターンによる診断

→ ホルモン療法後の化学療法(アジュバンド)実施の判断

薬剤投与前の患者プロファイルから、感受性を予測して患者を選択  
(併用剤の選択を意図したものではない)



## ➤ siRNAライブラリースクリーニングによる cytotoxic drug の感受性、非感受性因子探索

絨毯爆撃的なアプローチで網羅的に感受性・非感受性因子を探索  
薬剤併用時の遺伝子間の機能的(動的)繋がりは意識していない



# 本プロジェクトの特徴とその意義

公開

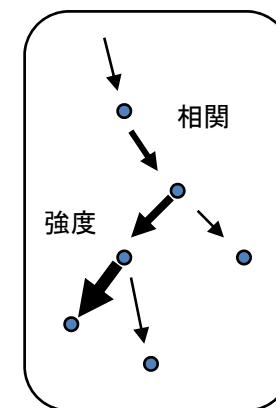
## 既存薬の効果を増強する併用分子標的創薬への試み

- 単剤で治癒にいたる新規薬剤が登場しない現状では、既存抗がん剤の強化や併用を前提とした薬剤探索は重要な課題。

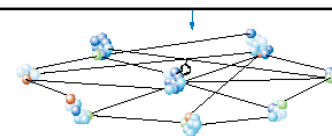
## 薬剤併用時の細胞内の動的なパスウェイに作用するものを見出す方法論の確立

### 時系列解析技術の必要性

- 併用薬の最適な組み合わせのサイエンスは未成熟の領域。
- 患者組織や細胞株のスナップショット的な投与前遺伝子解析では、薬剤併用時の細胞内シグナルの動き(動的プロファイル)が加味されていない。
- 細胞の中で起こる併用薬剤に応答する分子間の相互関係や、その結果としての細胞機能や表現系(増殖、浸潤、転移などを含む)との繋がりを理解する技術や方法論が必要。



単純なネットワーク議論ではなく、細胞内の分子状態を統合的に表現する方法を探索する。細胞の物理的予測評価技術への発展を将来的に引き続き検討する。

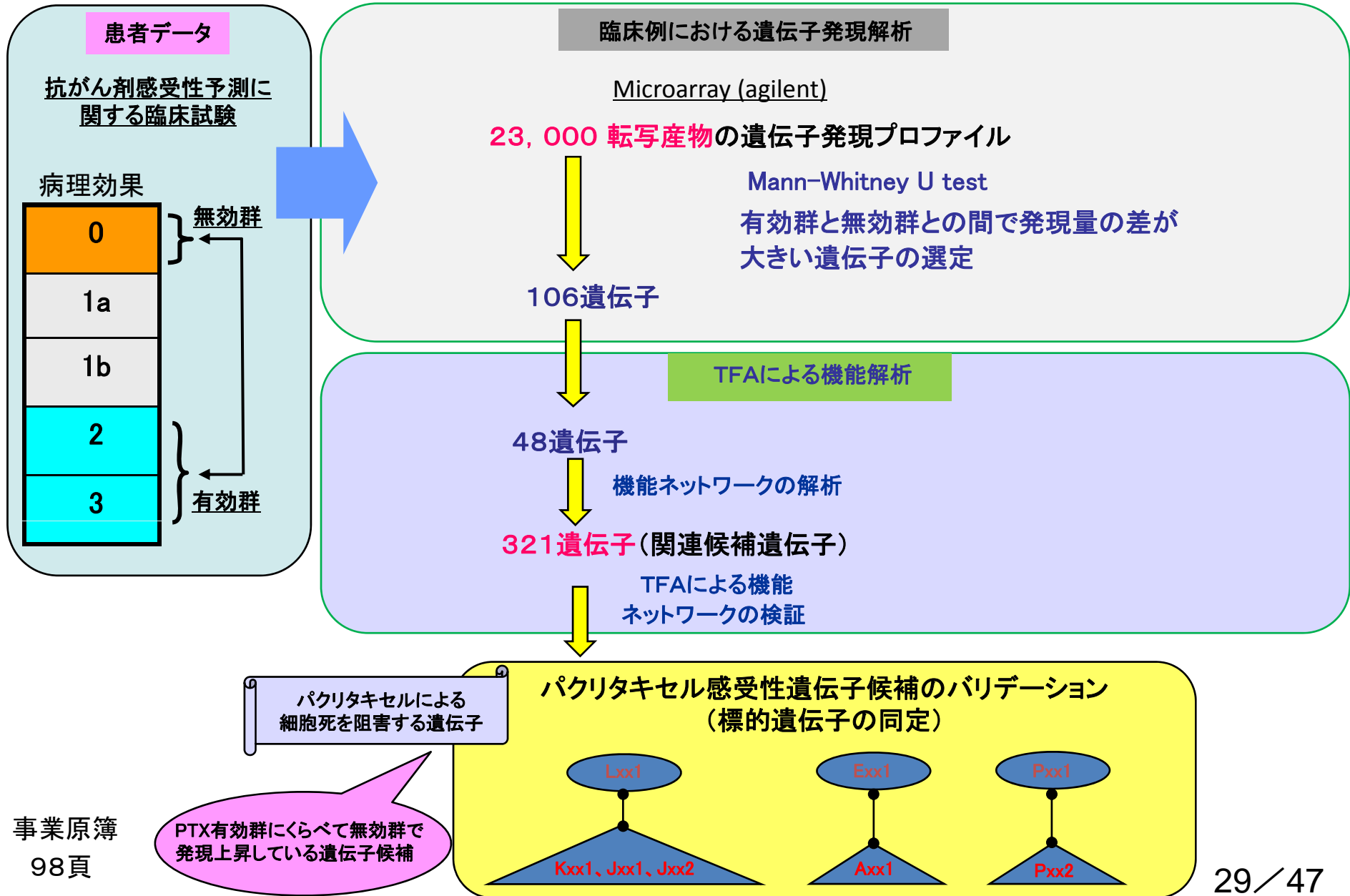


N次元要素(遺伝子、パスウェイ、時間)からなる状態

多次元的な解析による高次元細胞像の理解

細胞機能解析、細胞時系列解析を総合的に組み合わせた日本発の新たな創薬アプローチ

# パクリタキセル感受性候補遺伝子の同定



# パクリタキセル感受性候補遺伝子の同定: PTX感受性診断用途

## TFAで選定した遺伝子を用いたパクリタキセル治療効果予測診断システムの構築と検証

### パクリタキセル治療効果予測診断システムの構築

### 新規臨床試験症例を用いた診断システムの検証

TFAで選定された遺伝子を用いてAdaboost解析による診断システムの構築(4遺伝子)

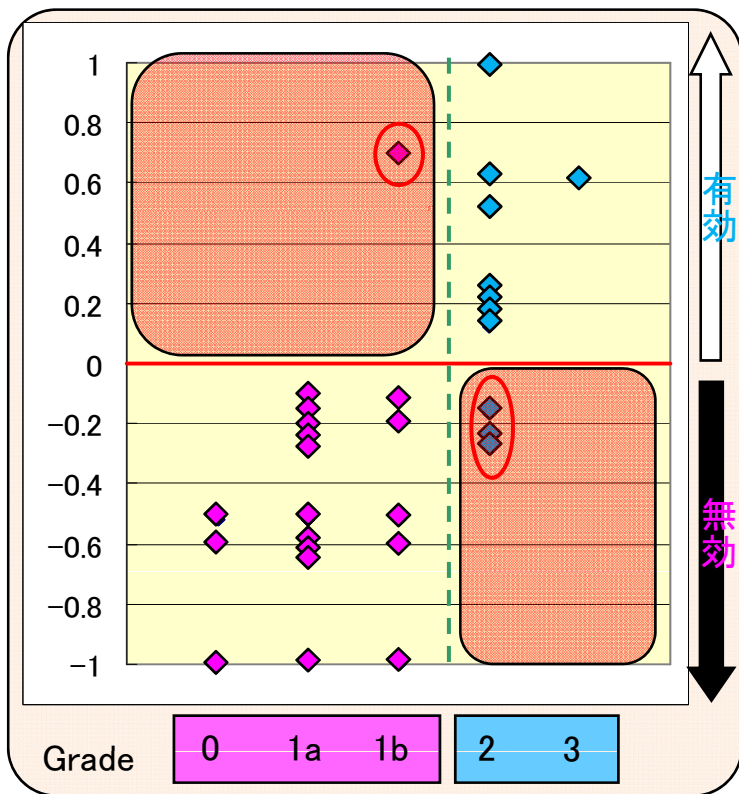
臨床例40例

無効28例 (Grade 0-1b) 有効12例 (Grade 2, 3)

構築した診断システムによる新規症例の診断  
—治療効果予測—

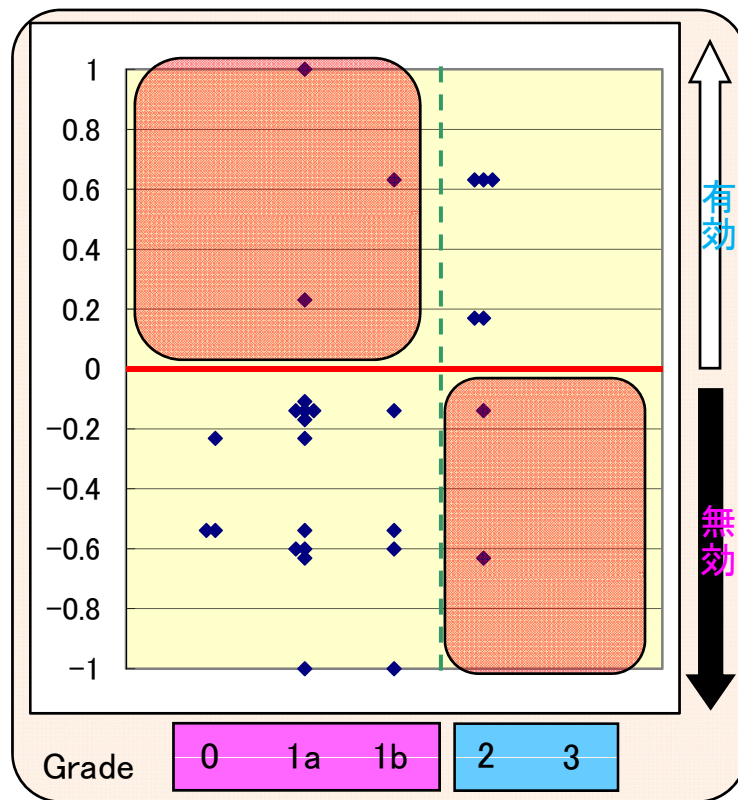
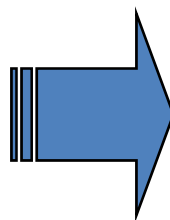
臨床例28例

無効21例 (Grade 0-1b) 有効7例 (Grade 2, 3)



Leave-one-out cross validationの結果

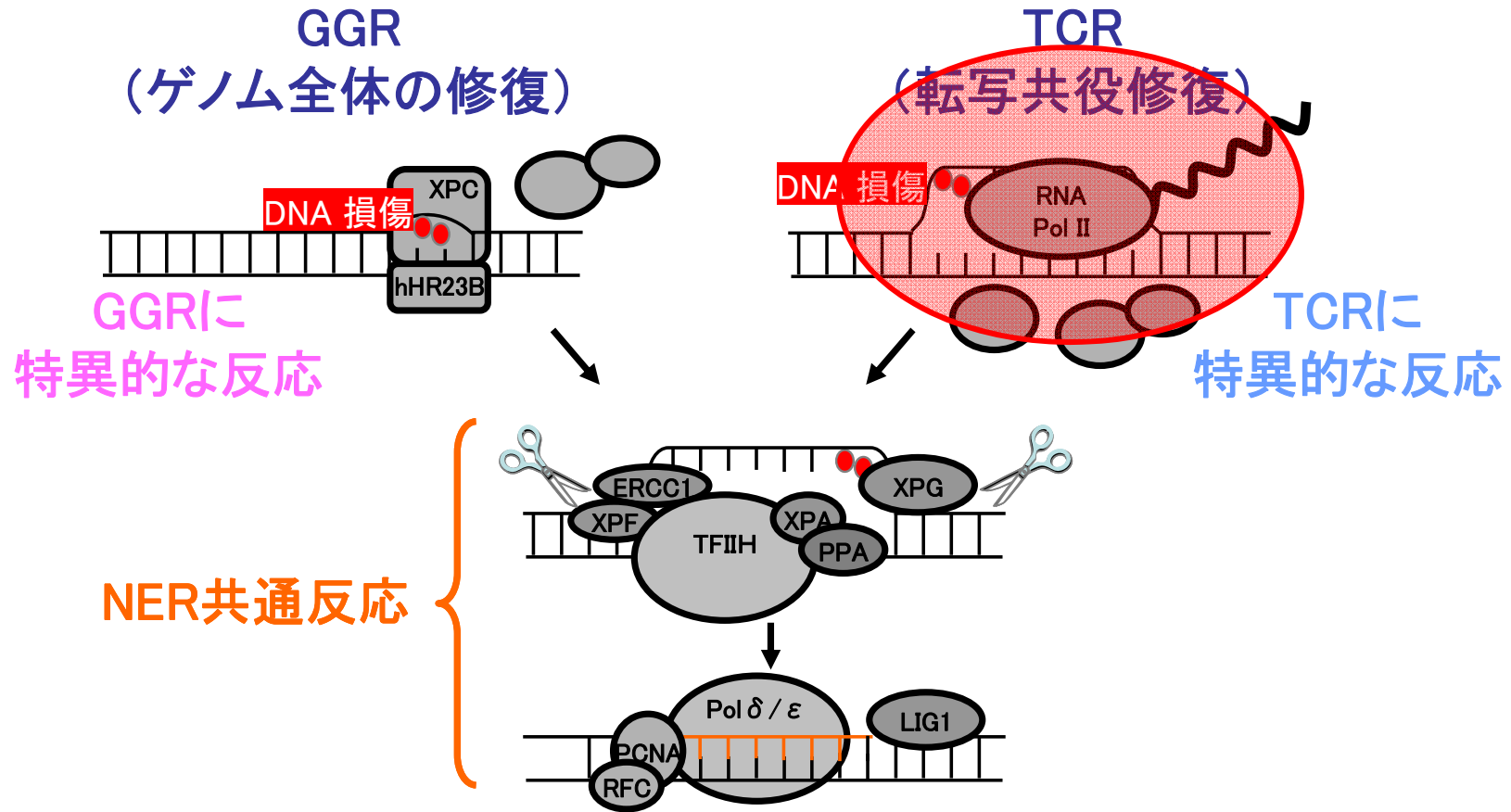
誤判別率=10% (4/40)



正診率=82%

誤判別率=18% (5/28) 30/47

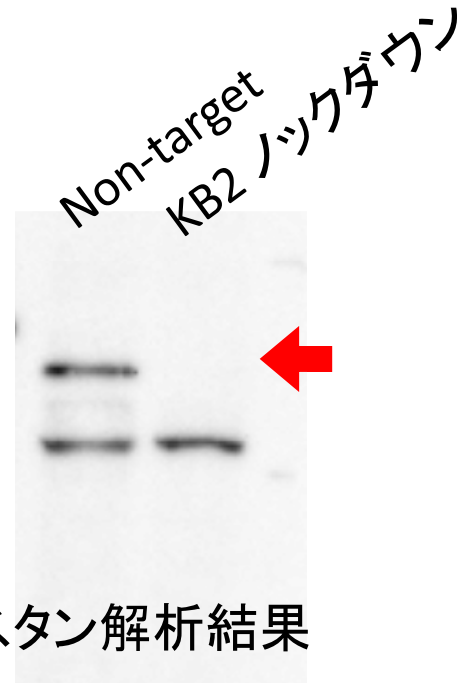
## Nucleotide Excision Repair パスウェイに着目した解析



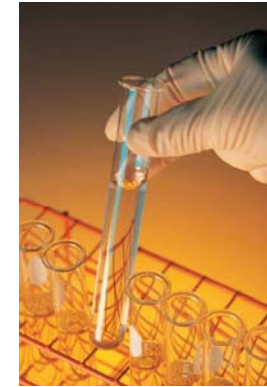
TCRに特異的なパスウェイが  
正常細胞の紫外線感受性を制御するターゲットでは？



## KB2 をターゲットとした素材探索評価系の構築



ウェスタン解析結果



企業内で実施予定  
化粧品素材探索評価  
への応用

短期的開発視点では植物エキスより、  
中・長期的開発視点では化合物よりスクリーニングを開始する

KB2 を過剰発現させたときの紫外線抵抗性を検証



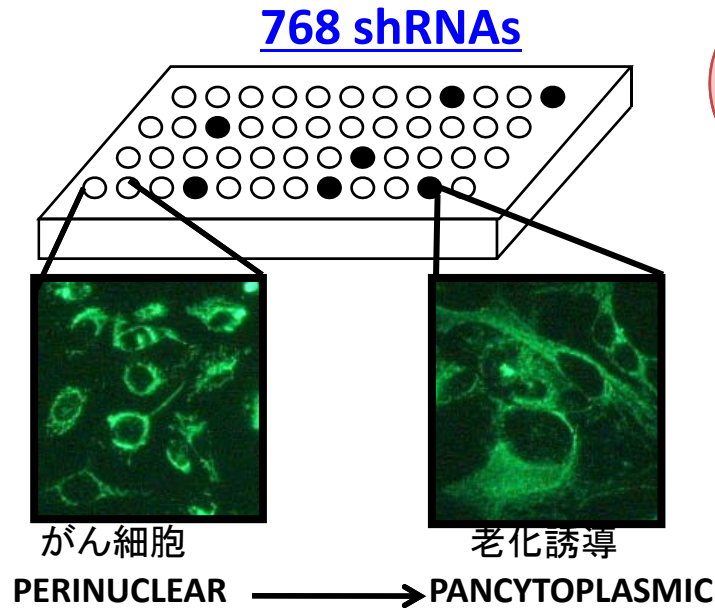
# 遺伝子ターゲット

公開

遺伝子サイレンシング

二重重複アッセイ

ガン細胞の遺伝子解析



モーター染色レポーター  
"Induction of senescence in cancer cells"

**23 shRNAs**

6 Kinds of cancer cells  
INDUCTION of SENESCENCE

**9 shRNAs**

抗ガン遺伝子

DNA Damage  
Signaling pathway

Pathway  
Analysis

6 Genes

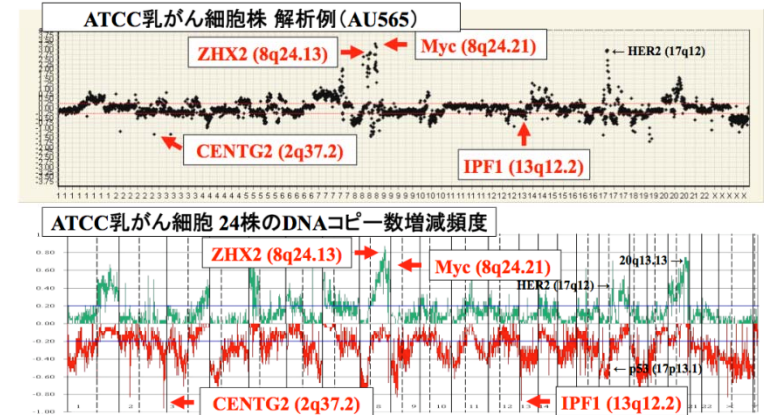
Database  
Analysis

Comparative Genomic  
Hybridization analysis  
CGH-BAC Array

**24 breast cancer cell lines**

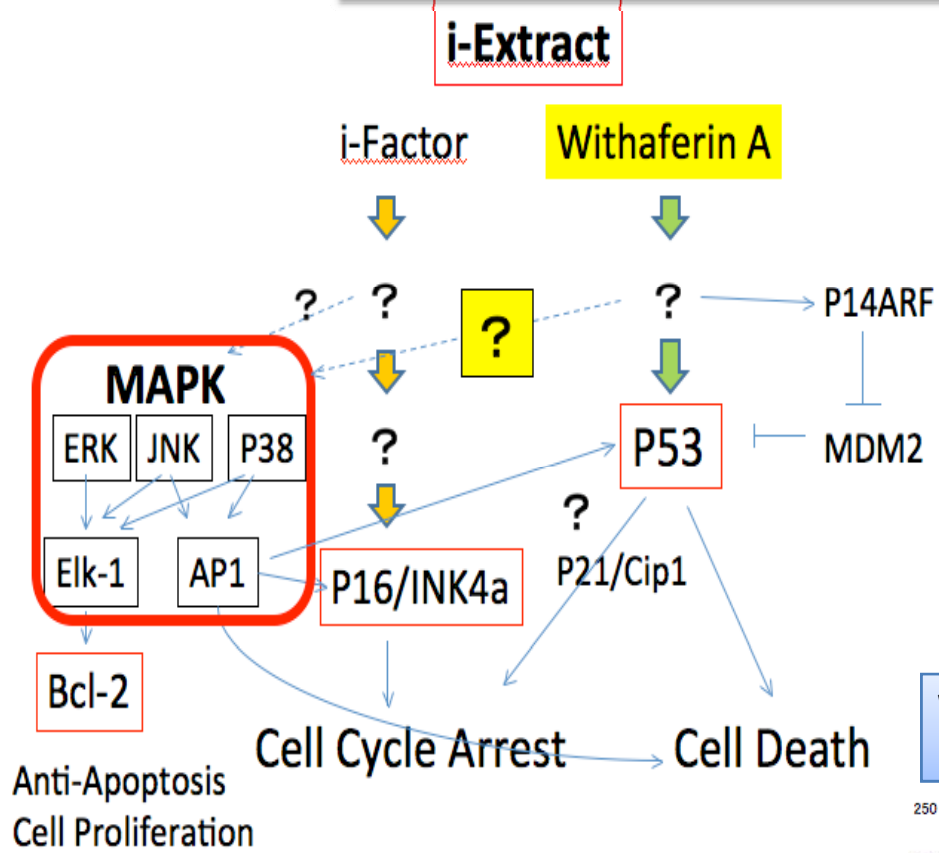
乳がん細胞株のCGH解析

培養条件によるbiasを避ける → ATCCからDNAとして購入  
購入後培養せずにDNA抽出  
24種類のATCC乳がん細胞株の解析が終了

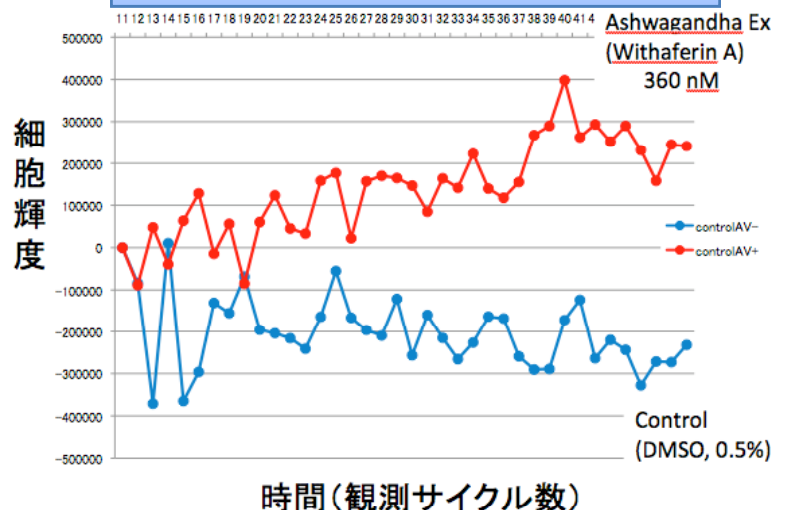


**Gainが見られたBAC clone数  
76 clones**

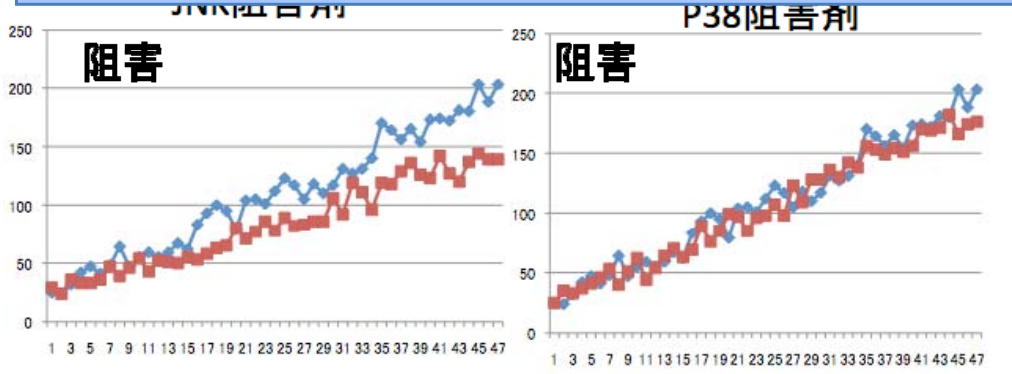
# 得られた遺伝子の解析 時系列解析



AshwagandhaはAP1を活性化する



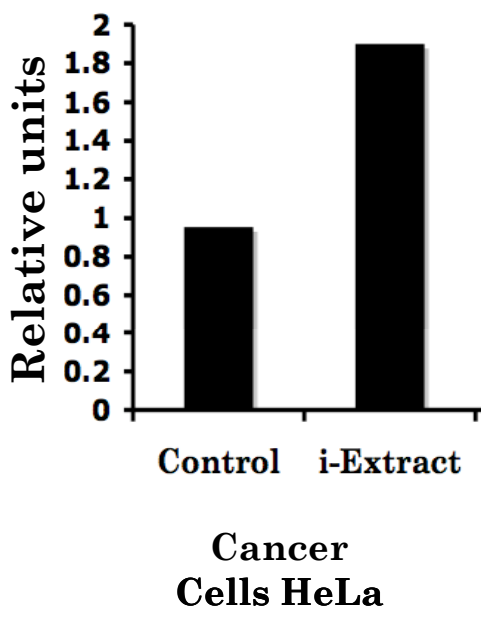
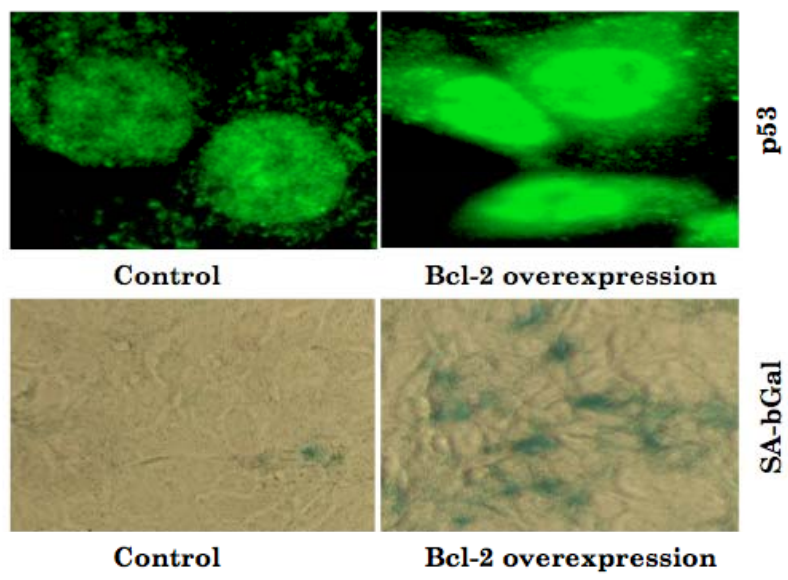
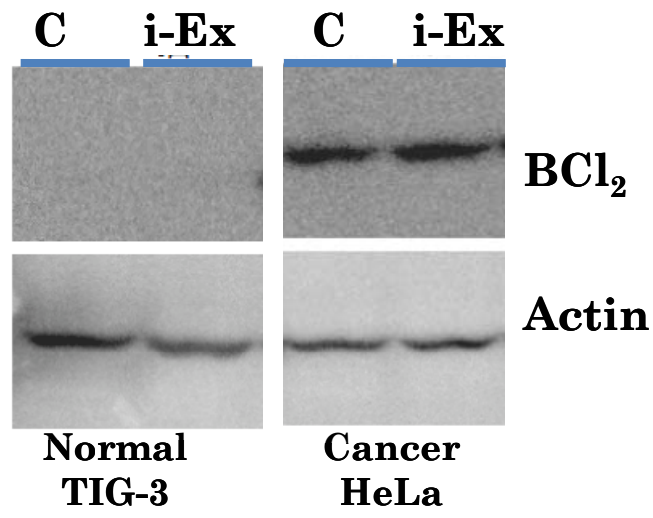
Withaferin AによるAP-1活性化の阻害剤による抑制 (JNK or P38)



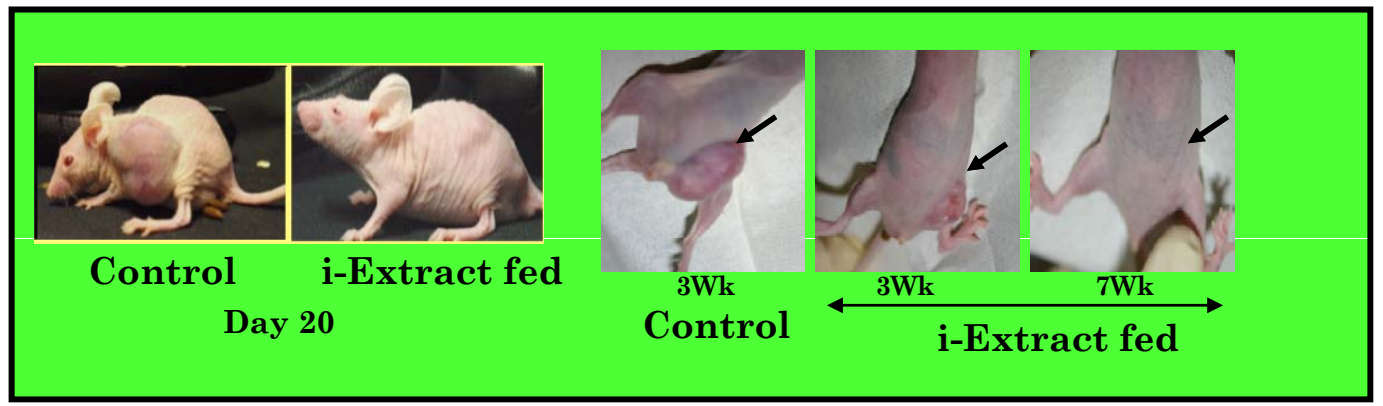
## MAPK Chemical Inhibitors

- ERK (ERK inhibitor III)
- JNK (SP600125)
- p38 (SB203580)
- MEK 1/2 (U0126)

# 得られた遺伝子の解析



- 1. Bcl2 is induced in cancer cells by i-EX treatment
- 2. Bcl2 overexpression causes growth arrest /senescence of cancer cells



# 山口大学

手術によって摘出された乳がんのアレイCGH (comparative genomic hybridization)によって病態評価、治療法、創薬に繋がるゲノム情報を得る

---

アレイCGHによるDNA copy number aberrations (DCNAs)とホルモン受容体発現、HER2増幅の有無と対比することにより、これらと関係したDCNAの抽出が可能であった。

いわゆるtriple negative例では、一つのコピー数減少を呈する染色体領域が同定され、そこに存在する遺伝子発現はそれらの症例で低下していた。

このことは、当該遺伝子物質が創薬候補となると同時にその適用となる症例を選別することが可能であることを示唆している。当該遺伝子物質は既に、医薬品として利用されており、適応拡大として乳がん治療薬として実用化は可能である。

in vitro実験では、当該物質の添加への反応性は、細胞のゲノム状態に左右される

<システムバイオロジー>

## H17～H18年度の進捗、成果(2)

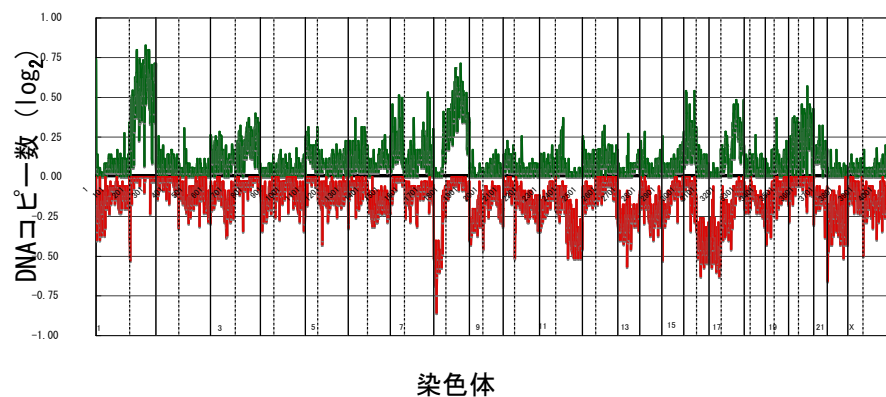
### ヒト乳癌(浸潤性乳管癌)におけるDNAコピー数異常の検討

RICEつくば/山口大学

乳癌の最も一般的な組織型である浸潤性乳癌166例から35例を選んでアレイCGHによるDNAコピー数の異常について解析を行った。

特定に部位に異常は集積するが、培養細胞に比較して変化は少なく、乳癌の生物学的特徴(ER, PR発現、リンパ節転移等)と相関する変化も同定された。

乳癌のアレイCGH解析



#### 乳癌でDNAコピー数減少・増加を高頻度に呈する遺伝子

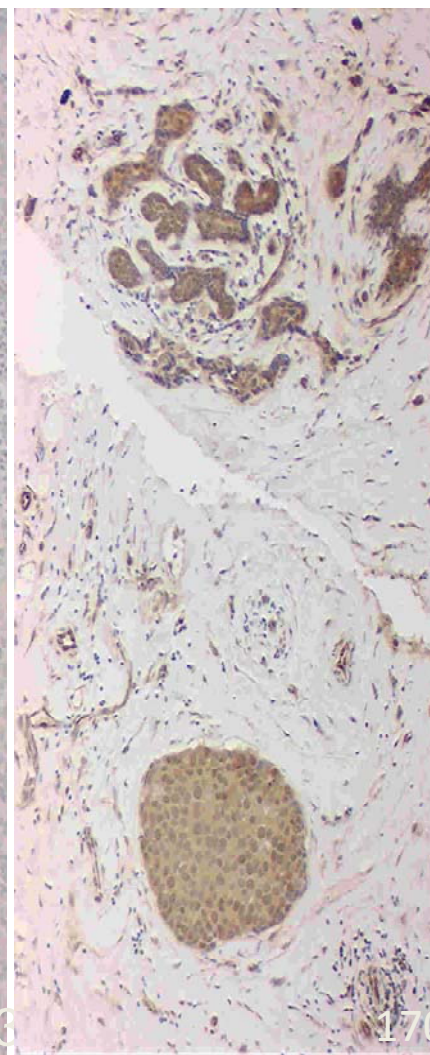
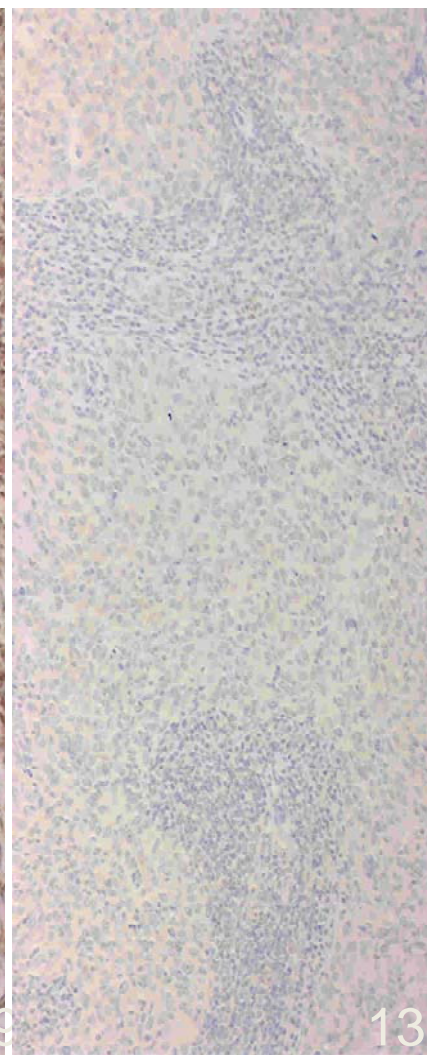
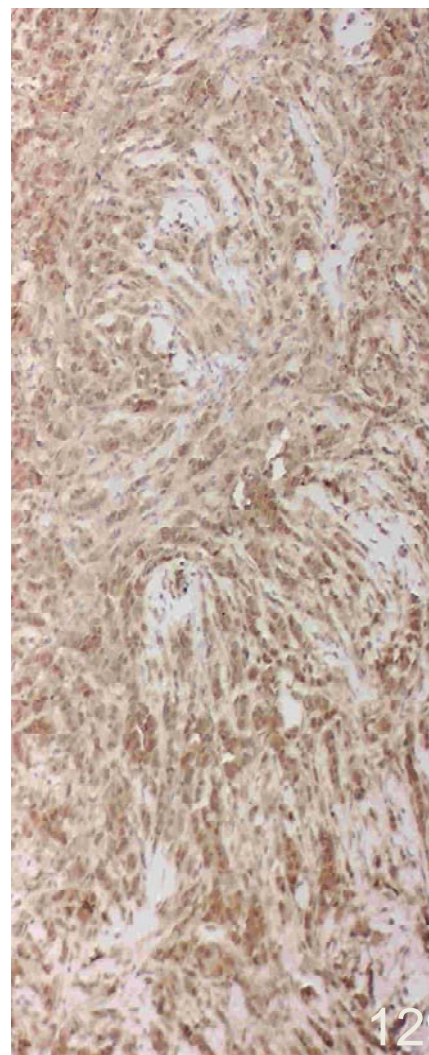
Gene	Locus	Frequency	Gene	Locus	Frequency
FAM90A6P, FAM9	8p23.	0.8571428	NFASC,	1q32.	0.8285714
DEFB106A, FAM9	8p23.	0.8	FCGR3A, FC	1q23.3	0.8
FAM90A9, FAM9C	8p23.	0.7428571	DUSP10,	1q41	0.8
	8p23.	0.6857142	CNIH3,	1q42.	0.8
ERICH1, C8orf68,	8p23.	0.6571428	IL24, FAIM3	1q32.	0.7714285
DUXAP8,	22q11	0.6571428	SLC30A1, N	1q32.3	0.7714285
DUXAP8,	22q11	0.6470588	.33(Cross-H	1p36.3	0.7428571
ERICH1,	8p23.3	0.6285714	ASTN,	1q25.3	0.7428571
CLDN23, MFHAS	8p23.1	0.6285714	KCNK2,	1q41	0.7428571
TK2, CKLF, CMT1	16q21	0.6285714	ASPM, ZBT	1q31.3	0.7352941
ELAC2,	17p12	0.6285714	C1orf19,	1q25.3	0.7142857
HS3ST3B1,	17p12	0.6285714	BTG2, FMO	1q32.	0.7142857
C8orf68,	8p23.3	0.6	MDM4, LRR	1q32.	0.7142857
GATA4, C8orf49,	8p23.1	0.6	CNTN2, TM	1q32.	0.7142857
INTS10,	8p21.3	0.6	OR2T4, OR2L1	1q44	0.7142857
	8p21.3	0.6	SH3BP5L, Z	1q44	0.7142857
ASGR1, DLG4, AC	17p13.1	0.6		8q23.3	0.7142857
	16q21	0.5882352		1q43	0.7058823
C8orf42,	8p23.3	0.5714285		1q31.3	0.6857142
C8orf68,	8p23.3	0.5714285	PLXNA2,	1q32.3	0.6857142
AGPAT5,	8p23.1	0.5714285	OBSCN,	1q42.	0.6857142
MSRA,	8p23.1	0.5714285	RUNX1T1,	8q21.3	0.6857142
DLC1,	8p22	0.5714285		8q22.	0.6857142
XPO7, NPM2, FGI	8p21.3	0.5714285			
DOCK5, GNRH1, I	8p21.2	0.5714285			
EXTL3,	8p21.1	0.5714285			
WWOX,	16q23.1	0.5714285			
ABR, MRPL14P1,	17p13.3	0.5714285			
GLP2R, RCV1, G	17p13.1	0.5714285			
FBXW10, FAM18E	17p11.2	0.5714285			



# Immunohistochemical examination of 12q15

公開

Case No.	Histology	IFNr Ex pression
79	PT	+
82	SC	+
83	ST	+
84	SC	+
85	SC	+
86	PT	+
87	PT	+
89	PT	++
92		
94	MUC	+
101	PT	+
105	SC	+
108	SC	+
109	SC	+
116	SC	+
118	Med	-
119	ST	+
122	SC	+
125	ST	+
128		
129	SC	+
130	SC	+
131	Med	±
133	Med	-
134	Med?	+
135	IL	+
147	SC	+
153	SC	+
155	ST	+
157	PT	+
158	Med	±
160	SC	+
163	SC	+
165		--
166	SC	+
168	PT	+
170	ST	+
171	SC	+
172	Med	+
173	ST	+
174	SC	+
175	ST	+
176	PT	+



PT: papillotubular carcinoma  
 ST: solid-tubular carcinoma  
 SC: scirrhou caarcinoma  
 Med: medullary carcinoma  
 Muc: mucinous carcinoma  
 IL: invasive lobular carcinoma

N=43

# JBA集中研:セルアレイ作成実績

癌研究会分のみ抜粋

固相トランスフェクション用マイクロプレート(96穴プレート)の作成

実施時期	供試した遺伝子	96穴プレートの枚数	プリント数 (スポット数)
H17年度	20遺伝子 (40 siRNA)	16枚	1356
	20遺伝子 (40 siRNA)	32枚	3072
	93遺伝子 (186 siRNA)	48枚	4608
	93遺伝子 (186 siRNA)	72枚	6912
H18年度	93遺伝子 (186 siRNA)	24枚	2304
H20年度	96遺伝子 (192 siRNA)	72枚	6912
	10遺伝子	40枚	3840
H21年度	9遺伝子	48枚	4608
計			33612

## セルアレイの作成

実施時期	供試した遺伝子	スライドあたりのスポット数 (作成スライド枚数)	プリント数 (スポット数)
H17年度	20遺伝子 (40 siRNA)	288 (6枚)	1728
H18年度	93遺伝子 (186 siRNA)	288 (2種類・6セット=12枚)	3456
	643遺伝子	432 (8種類・8セット=64枚)	27648
H19年度	93遺伝子 (186 siRNA)	288 (2種類・6セット=12枚)	3456
H20年度	96遺伝子	288 (2種類・6セット=12枚)	3456
H21年度	246遺伝子	480 (2種類・6セット=12枚)	5760
計			45504

## 業績

	実施団体	特許	論文 総説	学会発表 講演	受賞	その他 発表
1	産総研 RICE (臨海)	2	23	61	2	
2	産総研 CBRC	1	40	24		
3	産総研 RICE (つくば、レヌー氏Gr)		16	36		
4	癌研究会、協和発酵キリン		16	22		
5	カネボウ化粧品		2	7		2
6	東京大学 三宅研	(1)	40	41	1	
7	東京大学 長棟研、鷺津研		14	32		
8	京都大学		17	13		
9	山口大学、産総研RICE (つくば、平野氏Gr)		25	28		
10	バイオインダストリー協会			4		
	合計	3	193	268	3	2



## 成果

### 最終目標は十分クリア

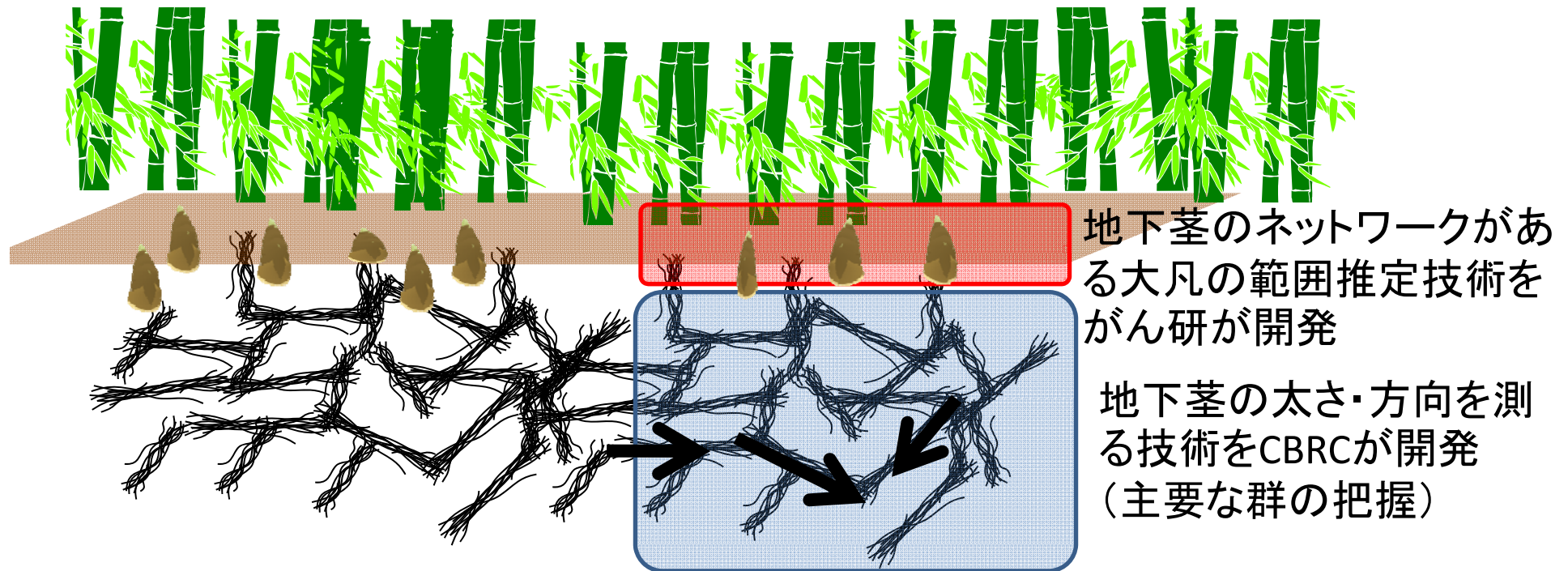
成果の表現として個別技術の羅列ではなく以下の項目について客観的に提示できるだけのデータをもって方向を示すことができた

1. 細胞-ゲノムパスウェイ創薬技術の基礎の確立
2. パスウェイ予測技術を初めて開発
3. パスウェイ解析の応用: パクリタキセルを出発点とする  
併用薬開発の方法を整えた
4. がんの転移計測に道を開いた
5. 機能性化粧品の開発にも応用が開始  
(皮膚がん予防効果: 企業での実用化研究開始)

#### 最終目標

細胞応答の時間的な変動解析が可能な統合化されたターゲットバリデーションシステムを構築し、ヒト臨床細胞を用いて動的なパスウェイ(シグナル伝達ネットワーク)構造を簡易に抽出できる方式を確立する。本方式を良く研究された既知パスウェイの解析に適用することで解析精度や解析速度の有効性を検証するとともに、実際の創薬ターゲット遺伝子の探索に用い、複数種の創薬ターゲット候補遺伝子の同定に適用することで、創薬支援ツールとしての実用性を証明するとともに、産業上有用な解析ツールとして完成させる。

# タケノコから覗くパスウェイ解析

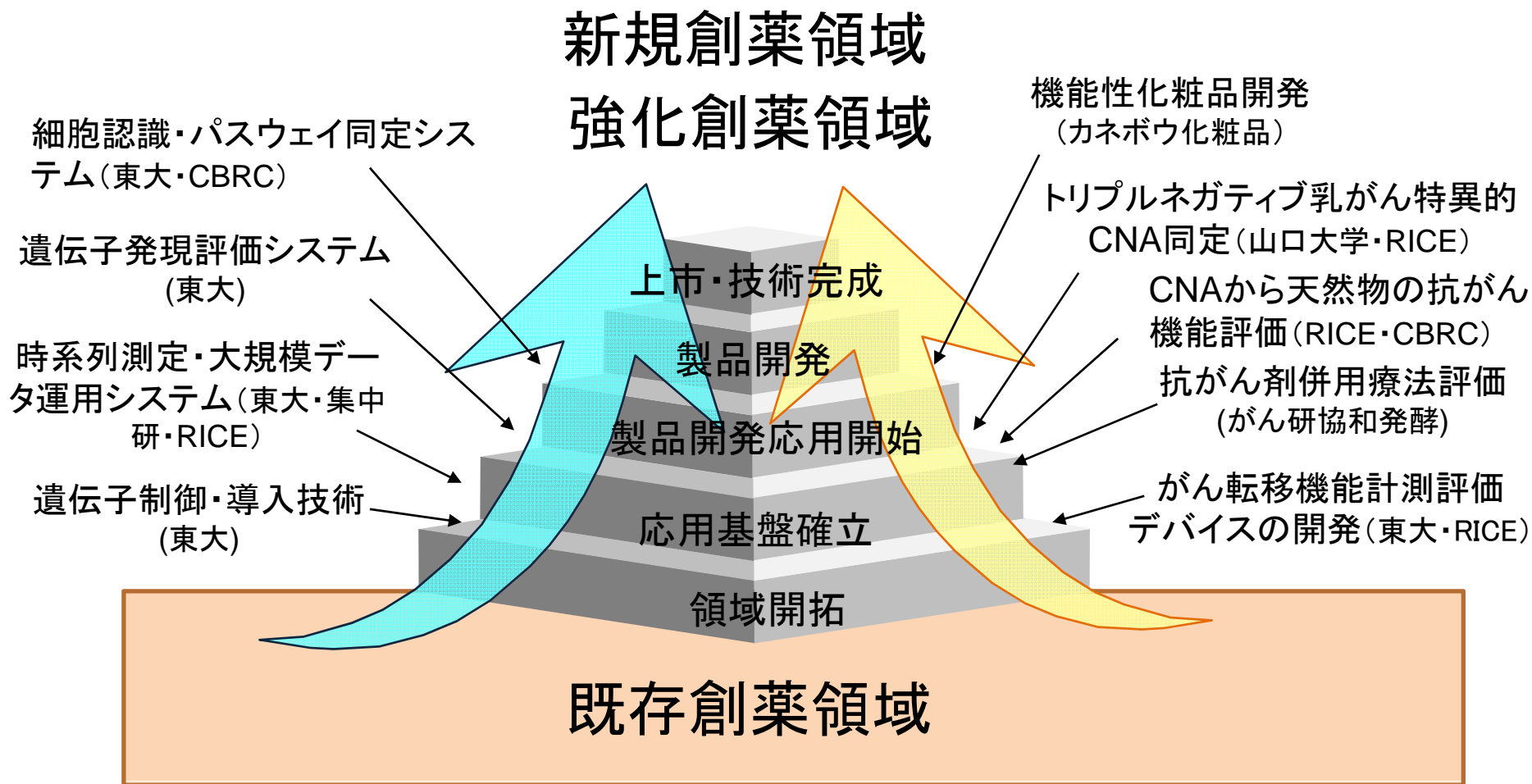


竹林の中のタケノコ(遺伝子)は地面の下で複雑な地下茎(パスウェイ)を持って相互に補完している

地上に出ている竹、タケノコ(遺伝子)をつぶしても竹林は影響を受けない。竹林を潰すためには地下茎を効果的に切断することが重要(養分の流れ、再生機能の強さを勘案)

# IV. 実用化、事業化の見通しについて

# 達成状況と実用化への見通し



# 達成状況と実用化への見通し

## 時系列解析技術

### •目標

特定の疾患に関わる遺伝子と遺伝子群が形成するパスウェイを理解することを目標とする。遺伝子の相関(パスウェイ)は時間的に変化するものであり、そのダイナミズムに多くの情報が含まれる。時間軸上の一点だけをみてもこのような相関を理解することは不可能である。この種の技術はこれまで開発されてこなかったために、新規解析技術の開発が必要である。細胞の取り扱い、装置、情報などの技術を総合的に開発することを目指す。

### •達成状況

- ✓時系列局所細胞モニタリング装置の運用
- ✓大規模情報処理技術の運用
- ✓超微蛍光レポート遺伝子画像解析システム開発
- ✓主要パス高精度同定システム
- ✓ネットワーク補完ソフトウェア技術の開発
- ✓遺伝子発現開始に関する評価技術の開発
- ✓染色体コピー数解析の過程で見出した遺伝子のtriple-negative乳がんへの応用

主要パス高精度同定システムについては市販ソフトへの組み込みを計画、他のシステムに関してもソフトウェアへの組み込みが可能である。

# 達成状況と実用化への見通し

## デバイス関連技術開発

### •目標

腫瘍の寛解とがんの改善は必ずしも強く相関せず、腫瘍診断時は 転移開始状態にあることが指摘されている。局所的な腫瘍ではなく、転移が死因の多くを占めるものの、その機作は解明されていない。この種の機構のかいせきに有用な新規デバイスの開発が必要となる。また、パスウェイの開発に重要である細胞内の遺伝子の発現時期を制御する技術、任意の細胞を取り扱うための固定化技術・物理的な遺伝子導入技術など、新奇な手法を用いた細胞の操作技術を開発する。

### •達成状況

- ✓がん浸潤転移計測デバイスの開発
- ✓細胞運動性デバイスの開発
- ✓電界集中型オンチップエレクトロポレーション技術の開発
- ✓光ケージド化合物による遺伝子の時間的制御技術の開発

2種類のデバイスともに実用化を目指して企業の提携および探索を行っている。エレクトロポレーション技術については実用化段階にあり、ニーズの掘り起こしが課題となる。

# 達成状況と実用化への見通し

## 応用研究

### •目標

遺伝子パスウェイを基礎としたゲノム創薬技術は、ハイスループット遺伝子探索では見出せなかった新奇有効な抗がん剤の探索方法の確立につながると期待される。既に確立されている有用な抗がん剤の機作に関わる遺伝子パスウェイを解析し、併用薬としてこうかを高める方法、すなわち、奏効率を向上させる方法の開発を目指す。このために、がん患者のタイプ分け方法の確立技術を進め、関連する遺伝子の抽出と機作の解明を図る。また、かかる遺伝子パスウェイ解析を皮膚がんの予防につながる機能性化粧品の開発に応用する方法を目指す。

### •達成状況

- ✓次世代の抗がん剤治療予測システムの確立
- ✓他剤併用療法に関するがん治療、抗がん剤創成の新アプローチの開発
- ✓化粧品素材の開発
  - ✓紫外線感受性候補遺伝子の発見による機能性化粧品の創出
- ✓アシュワガンダを使用した抗がん剤および健康食品の開発

今回のケースを基盤にモデルケースを重ねることで併用治療の新しいアプローチを提供が可能となる。

発見された遺伝子を応用した機能性化粧品開発の検討段階にある。