

## 平成23年度実施方針

バイオテクノロジー・医療技術部

1. 件名：(プログラム名) 健康安心イノベーションプログラム  
(大項目) 後天的ゲノム修飾のメカニズムを活用した創薬基盤技術開発

## 2. 根拠法

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法第15条第1項第2号

## 3. 背景及び目的・目標

現在の医薬品開発においては、副作用が少なく効果的な薬の開発のため、ゲノム情報を活用した創薬研究が主流となってきている。創薬における研究開発費が1物質当たり500億円を超え増加の一途をたどる一方で、新薬上市件数は低下するという世界的傾向の中、創薬研究の効率を上げ、研究開発リスクを低減させることが喫緊の課題となっている。医薬産業政策研究所「製薬産業の将来像」によれば、創薬プロセスにおけるボトルネックの一つとして、標的分子候補と疾病の関係を推定し新薬の目標を確定する「ターゲットバリデーション」が挙げられており、画期的な新薬を生み出すためには、基礎研究の進展に伴う新しい知見を取り込み、新規メカニズムに基づく創薬標的分子を同定していくことが重要である。

近年のギガシーケンサー及び高精度質量分析装置等の解析技術の急速な進展により、後天的ゲノム修飾が疾患等の原因として重要な因子であることが相次いで明らかになり、世界中の研究者の注目を集めている。後天的ゲノム修飾は、癌や、アルツハイマー病等の精神疾患、生活習慣等の後天的疾患の原因として重要な因子であるとともに、ヒトの病気、老化、発生、分化、成長に大きな役割を果たしていることが判明し始めており、その解析と制御が、新しい創薬標的の創出や新しい作用機序を持つ治療薬等の開発に資すると期待されている。技術戦略マップ2009(平成21年4月経済産業省策定)においても、後天的ゲノム修飾の解析は、波及効果が高く、「画期的な医薬品の開発」、「医薬品開発の効率化」に資する重要技術として位置づけられている。

しかし、後天的ゲノム修飾の解析等の技術開発は世界最先端の分野であり、後天的ゲノム情報と疾患との関連は未だに一部を除いては解明されておらず、解明に必要な臨床情報の付随した検体の入手も困難である。また研究を開始するためには、高精度な解析技術や情報処理技術等、後天的ゲノム解析のための先進的技術導入や専門的人材の育成等に莫大な時間と投資が必要であり、民間企業等が独自に研究を進めるのは極めてリスクが高い。このため米国では、NIH(国立衛生研究所)のロードマップの一つに位置づけ、2008年より5年間で総額1億9000万ドルを超えるプロジェクトを、大学・研究機関を中核として開始している。我が国においても、企業・研究者・臨床家の連携の下に一体的なオープンイノベーションを可能とする世界トップレベルの産学連携体制を構築し、最適な技術・情報基盤を確立するためには、国の支援が不可欠である。

本事業では、企業ニーズを取り入れ、参画企業とともに疾患の原因となる後天的ゲノム修飾の効果的・効率的解析手法の開発を行い、後天的ゲノム修飾を高感度で検出するシステムを構築するとともに、複数種類の癌との関連づけを行うための基盤技術を世界に先駆けて

開発し、後天的ゲノム修飾に起因する複数種類の癌に対し、後天的ゲノム修飾を制御する分子等を用いた探索的実証研究を通じて、基盤技術としての有用性を検証する。

これにより、プロジェクト期間中に最先端の技術を、学から民へと移転をするとともに、創薬ターゲットとなりうる後天的ゲノム修飾が解析されれば、企業による医薬品開発が加速され、20数年後には、1製品あたり売上高が1000億を超えるブロックバスターと呼ばれる医薬品の導出も期待される。さらに将来、個人の後天的ゲノム情報に基づいて疾患の個体差や進行度に応じた標的治療薬による質と費用対効果の高い治療が実現されれば、国民の健康の維持・増進や創薬産業等のイノベーション、医療財政の負担軽減、我が国の国際競争力の強化に大きく寄与することが期待できる。

なお本研究開発は、個別化医療・予防医療・再生医療の実現や画期的な新薬の開発、医療機器、福祉機器等の開発・実用化を促進することによって健康寿命を延伸し、今後、世界に類を見ない少子高齢化社会を迎える我が国において、国民が健康で安心して暮らせる社会の実現を目指すことを目的とする「健康安心イノベーションプログラム」の一環として実施する。

#### (1) 最終目標(平成26年度末)

後天的ゲノム修飾を現状の100倍程度の高感度高精度で解析する技術、および解析データの標準的情報処理技術を確立する。

これらの解析技術も活用し、ヒト臨床サンプルを対象として、後天的ゲノム修飾と疾患を関連づける創薬・診断標的候補分子を選定する。

候補分子を制御する因子を用いて創薬・診断標的としての妥当性を検証することにより、本事業で開発した後天的ゲノム修飾解析基盤技術の有用性を実証する。

#### (2) 中間目標(平成24年度末)

後天的ゲノム修飾を現状の10倍程度高感度で解析できる技術、解析データの情報処理技術を開発する。

開発した解析技術も活用し、ヒト臨床サンプルを対象として、後天的ゲノム修飾と疾患とを関連づける創薬・診断標的候補分子を探索する。

候補分子を制御する因子を用いてその妥当性を検証することにより、本事業で開発した後天的ゲノム修飾解析基盤技術の有用性を確認する。

### 4. 事業内容

東京大学先端科学技術研究センターゲノムサイエンス分野・油谷弘幸教授をプロジェクトリーダーとして、以下の研究開発を実施している。

#### 4.1 平成22年度委託事業内容(成果)

##### 研究開発項目①「後天的ゲノム修飾解析技術開発」

(1) 後天的ゲノム制御に関わるヒストン修飾等についての高感度かつ網羅的な解析技術の開発

ヒストン修飾解析等に必要となる多種類の解析用抗体からなる抗体パネルを作成し、後天的疾患に由来する複数種類の癌のヒト臨床サンプルおよび代表的なヒト正常細胞を対象として、多種類のヒストン修飾や修飾因子を系統的にマッピングする技術を開発する。ま

た、質量分析法等を用いて、後天的ヒストン修飾の組み合わせコード(アセチル化、リン酸化、メチル化修飾の組み合わせを判定)を測定するための解析基盤技術を構築するとともに、解析に必要な検体の微量化を実現する高感度解析技術を開発する。そのため以下のとおり実施した。

**【実施項目】**

①DNAメチル化の網羅的解析技術開発(東京大学、技術研究組合)

DNAメチル化の網羅的解析として、MeDIPおよびMBD1精製タンパク質によるメチル化DNA捕捉を行い、1ugのゲノムDNA検体からMeDIP-seq解析に必要なメチル化DNAが得られた。高密度450Kアレイの性能評価に着手した。

②高感度エピゲノム解析技術開発(東京大学、東京大学分生研、技術研究組合)

微量なChIP検体の増幅法の開発に着手した。

③修飾ヒストン抗体パネルの研究開発(大阪大学、東京大学、技術研究組合)

修飾ヒストン特異的モノクローナル抗体の親和性に関する検討をBIACORE及びFRAPアッセイにより行った。

④ヒストンテール修飾の系統的解析技術開発(東京大学、技術研究組合、産総研)

高分解能質量分析計Orbitrapを用いたLC/MS/MSをETD(電子転移解離)法で行い、一度に50以上のヒストンH4テールの修飾組み合わせパターンを分離出来るようになった。

(2) エピゲノム情報解析基盤技術の開発(東京大学、技術研究組合、産総研)

後天的疾患を有する臓器の後天的ゲノム修飾を解析して得られる膨大な情報と既存の生命情報データを統合し、取得データから必要な情報を効率的に抽出し可視化するために、IT技術等を活用した新たな標準的情報処理技術を開発する。そのため以下のとおり実施した。

**【実施項目】**

ヒストン修飾、DNAメチル化、RNA-seqデータを格納したエピゲノムデータベースを構築し、ユーザー認証機能を追加し、プロジェクト内部のデータを研究者間で共有できるようにした。ミラーサーバーを東京大学(集中研)にも設置した。

RNA-seq解析によるヒト16組織におけるトランスクリプトームデータに基づいて、新規転写産物,ncRNAのID付けを進めた。

研究開発項目②「後天的ゲノム修飾と疾患とを関連づける基盤技術開発」

(1) 後天的ゲノム修飾と疾患とを関連づける基盤技術の開発

どのような後天的ゲノム修飾の変化によってどのような後天的疾患が発生するか、疾患と後天的ゲノム修飾の関連づけを行う。

解析対象となる複数種類の癌のヒト臨床サンプルを効率的に収集し、上記①で開発される後天的ゲノム修飾解析基盤技術等も活用して、後天的ゲノム修飾の組み合わせの解析等により得られる情報基盤を用いて疾患と正常の比較分析を行うことにより、疾患発症に関わる後天的ゲノム修飾異常を引き起こす原因因子等を探索するとともに、新たな創薬・診断の標的候補分子を同定する。

そのため以下のとおり実施した。

**【実施項目】**

①臨床検体の収集と病理解析(東京大学、東京大学人体病理学)

30例(胃癌15例、肺癌15例、肝癌10例)の腫瘍組織からの検体採取を行うとともに、体系的にDNA、RNAの抽出、精製を行った。高悪性度、難治性腫瘍に対する新規の標的探索という目的に鑑み、腫瘍の転移が高頻度に見られる肺及び肝臓に関しては、転移、再発を含めたすべての腫瘍性病変のバンキングを開始した。

②xenograftパネルの研究開発(東京大学、癌研究会)

樹立した腭癌由来細胞株15株を集中研での解析に提供した。腭癌、胃癌xenograftの作成を進めた。

③エピゲノム変異発癌モデルの研究開発(東京大学、東京大学消化器内科、京都大学)

発がんモデル実験を行うため、G9aコンディショナルKOマウスおよびJhdm2aKOマウスを東大消化器内科に送付し、これらのKOマウスを確保するための交配実験を開始した。

④エピゲノム修飾の特異性を規定する非コードRNA機能の研究開発(東京大学、技術研究組合、産総研、協和発酵キリン)

肝癌、大腸癌で発現増加が認められる $\beta$ -catenin標的である長鎖非コードRNAを同定した。細胞内局在解析を実施し、RNA-FISH解析および核内RNAノックダウンに着手するとともに、発現量に影響を及ぼす複数のタンパク質候補を同定した。

⑤癌診断メチル化マーカーに関する研究開発(東京大学、技術研究組合)

ヒト肝癌組織のInfinium解析で探索した候補マーカーについてMassARRAY法による検証を行い、高い感度と特異度を有することを確認した。

⑥癌細胞制御にかかわるエピゲノム創薬標的分子に関する研究開発(東京大学、東京大学消化器内科、技術研究組合)

肺癌細胞株におけるヒストン修飾異常を解析した。ヒストン修飾酵素のshRNAノックダウンによる表現型解析およびヒストン修飾の変動を調べるとともに、酵素活性測定系の樹立を進めた。

研究開発項目③「探索的実証研究」

(1) 後天的ゲノム修飾を再現性よく定量的に解析するハイスループットアッセイ技術の開発(東京大学、技術研究組合)

上記①で開発される後天的ゲノム修飾解析基盤技術をベースとして、標的分子に対する後天的ゲノム修飾を再現性よく定量的に解析する手法を開発するとともに、多数の試験サンプルに対して適応可能な、高感度かつ高精度なハイスループットアッセイ法を構築する。

【実施項目】

ヒストンテールの組み合わせ解析の改良に着手した。

(2) 探索的実証研究(東京大学、技術研究組合、未来創薬研究所)

in silico 化合物スクリーニング等のIT技術とともに天然化合物ライブラリ等も活用して、後天的ゲノム修飾と複数種類の癌を関連づける複数の創薬・診断の標的候補分子に対し、これらの標的候補分子の後天的ゲノム修飾を制御する因子を高感度かつ高精度な定量的アッセイ法を用いて複数個程度同定し、モデル生物等による検証も通じて標的としての妥当性を検証することによって、本事業で開発した後天的ゲノム修飾に着目した創薬基盤技術の有用性を実証する。そのため以下のとおり実施した。

### 【実施項目】

創薬標的分子の妥当性評価のため、ヒストンメチル化酵素の阻害剤の第一次 *in silico* スクリーニングで得られた候補分子の構造を元に再度 *in silico* スクリーニングを実施して得られた 200 化合物について、活性、細胞機能への影響に関する検討に着手した。

メチル化酵素、脱メチル化酵素それぞれについて酵素活性を有する組み換え蛋白が得られた。

### 研究開発項目④「総合調査研究」(技術研究組合)

エピゲノム技術開発研究に関わる、研究促進のための活動を中心とし、国内外の技術動向調査及び情報収集を行う。特に、進歩が目覚ましい次世代シーケンサーや質量分析技術の進展は、研究開発項目①②と密接に関係しており、この技術動向は、今後のプロジェクト戦略を考える上で必要であるので、主たる調査研究として実施する。また、本プロジェクト実施内容に関連する外部動向調査(エピゲノム解析やメチル化酵素阻害などの阻害剤開発動向)を継続的に行ってゆくことも必要となる。そのため以下のとおり実施した。

### 【実施項目】

HDAC 阻害剤の開発状況について調査し、現在 70 以上の化合物が開発中であることがわかった。HDAC には多数の isomer が存在し、isomer 間で阻害剤の阻害活性が異なるとの知見が得られつつある。つまり、HDAC の isomer 間の阻害活性プロファイルを明らかにすることが今後のエピゲノム医薬品開発には必須であることがわかった。

平成 23 年 2 月 2 日から 5 日にかけて米国フロリダ州で開催された Advances in Genome Biology and Technology 会議に参加した。同会議は主立ったシーケンシング解析プラットフォーム開発企業、主たるゲノムセンターの研究者が一堂に会する本分野では最大の会議である。セッションおよびテクノロジーセミナーにおける情報収集に加えて、イルミナ社、アジレント社などの企業責任者との会合を通して、次世代および第三世代シーケンシング技術および前処理技術動向の調査を行った。

## 4.2 実績推移

	H22 年度
	委託
実績額推移 (百万円)	
一般勘定(交付金):	304
特許出願数 (件)	0
論文発表数 (報)	7
フォーラム等 (件)	12

## 5. 事業内容

### 5.1 平成23年度事業内容(計画)

東京大学先端科学技術研究センター油谷浩幸教授をプロジェクトリーダーとし、以下の研究開発は、先進的なエピゲノム修飾解析技術および質量分析技術を有する、東京

大学先端科学技術研究センターを集中研とするオープンラボを中核に、医療機関および製薬・診断企業が構成するエピゲノム技術研究組合が参加する研究体制によって推進する。

#### 研究開発項目①「後天的ゲノム修飾解析技術開発」

##### (1) 後天的ゲノム制御に関わるヒストン修飾等についての高感度かつ網羅的な解析技術の開発

ヒストン修飾解析等に必要となる多種類の解析用抗体からなる抗体パネルを作成し、後天的疾患に由来する複数種類の癌のヒト臨床サンプルおよび代表的なヒト正常細胞を対象として、多種類のヒストン修飾や修飾因子を系統的にマッピングする技術を開発する。

また、質量分析法等を用いて、後天的ヒストン修飾の組み合わせコード(アセチル化、リン酸化、メチル化修飾の組み合わせを判定)を測定するための解析基盤技術を構築するとともに、解析に必要な検体の微量化を実現する高感度解析技術を開発する。

#### 【実施項目】

##### ①DNAメチル化の網羅的解析技術開発(東京大学、技術研究組合)

全ゲノムバイサルファイトショットガンシーケンス法(WGBS法)を導入、実施する。

##### ②高感度エピゲノム解析技術開発(東京大学、東京大学分生研、技術研究組合)

微量検体からのChIP解析プロトコールについて引き続き検討し、パーソナル型シーケンサーの導入により改良プロトコールの評価を迅速化する。

##### ③修飾ヒストン抗体パネルの研究開発(大阪大学、東京大学、技術研究組合)

モノクローナル抗体の親和性について、FRAPやBIACOREによる測定を行い、微量サンプルのChIPへの適性について検討する。

##### ④ヒストンテール修飾の系統的解析技術開発(東京大学、技術研究組合、産総研)

同一分子量ながら修飾部位が異なるペプチドの識別技術の開発を行う。Orbitrap ELITE ETD質量分析計による高分解能・高速なMS/MSによりヒストンH4テールの修飾組み合わせを10の2乗以上の発現量のダイナミックレンジで一斉検出する技術を確立する。質量分析計(Triple Q-MS)での選択的反応モニタリング(Selected reaction monitoring: SRM)定量法を開発する。

##### (2) エピゲノム情報解析基盤技術の開発(東京大学、技術研究組合、産総研)

後天的疾患を有する臓器の後天的ゲノム修飾を解析して得られる膨大な情報と既存の生命情報データを統合し、取得データから必要な情報を効率的に抽出し可視化するために、IT技術等を活用した新たな標準的情報処理技術を開発する。

エピゲノム情報に特化した独自の検索・可視化ツールを開発・改良するとともに、プロジェクトで取得した組織・疾患別転写情報、DNAメチル化情報、ヒストン修飾情報を体系的に収納するためのデータベースを開発する。

#### 研究開発項目②「後天的ゲノム修飾と疾患とを関連づける基盤技術開発」

##### (1) 後天的ゲノム修飾と疾患とを関連づける基盤技術の開発

どのような後天的ゲノム修飾の変化によってどのような後天的疾患が発生するか、疾患と後天的ゲノム修飾の関連づけを行う。

解析対象となる複数種類の癌のヒト臨床サンプルを効率的に収集し、上記①で開発される後天的ゲノム修飾解析基盤技術等も活用して、後天的ゲノム修飾の組み合わせの

解析等により得られる情報基盤を用いて疾患と正常の比較分析を行うことにより、疾患発症に関わる後天的ゲノム修飾異常を引き起こす原因因子等を探索するとともに、新たな創薬・診断の標的候補分子を同定する。

#### 【実施項目】

##### ①臨床検体の収集と病理解析(東京大学、東京大学人体病理学)

胃癌、肺癌、肝癌、胆膵癌を中心に、30例程度(計60例)の腫瘍組織からの検体採取を行うとともに、体系的にDNA、RNAの抽出、精製を行う。

##### ②xenograftパネルの研究開発(東京大学、癌研究会)

膵癌、胃癌のxenograftおよび細胞株の樹立を、引き続き進める。

##### ③エピゲノム変異発癌モデルの研究開発(東京大学、東京大学消化器内科、京都大学)

肝癌/膵癌発症モデルマウスとG9aあるいはJhdm2a欠損マウスの掛け合わせによるがん発症実験を開始する。

##### ④エピゲノム修飾の特異性を規定する非コードRNA機能の研究開発(東京大学、技術研究組合、産総研、協和発酵キリン)

RNA-seqデータを基に癌原性を有する非コードRNAを選別する。エピゲノム関連分子に相互作用する非コードRNAを探索する。

##### ⑤癌診断メチル化マーカーに関する研究開発(東京大学、技術研究組合)

450Kエピジェノタイプピングアレイを用いて、手術検体における癌組織と非癌部組織のプロファイルを比較し、癌組織に特異的な異常メチル化マーカーの同定を行う。

##### ⑥癌細胞制御にかかわるエピゲノム創薬標的分子に関する研究開発(東京大学、東京大学消化器内科、技術研究組合)

大腸癌、胃癌、肺癌などの癌細胞株を中心に、主要なヒストン修飾変異の有無を検討する。標的候補遺伝子に対するshRNAを用いた癌細胞株における表現型解析を行う。Orbitrap ELITEを用いた複合体解析等を通じ、協働して作用するタンパク質等を同定することにより、エピゲノム修飾の制御システムを解明し、新たな創薬診断の標的候補分子を同定する。

#### 研究開発項目③「探索的実証研究」

##### (1) 後天的ゲノム修飾を再現性よく定量的に解析するハイスループットアッセイ技術の開発(東京大学、技術研究組合)

上記①で開発される後天的ゲノム修飾解析基盤技術をベースとして、標的分子に対する後天的ゲノム修飾を再現性よく定量的に解析する手法を開発するとともに、多数の試験サンプルに対して適応可能な、高感度かつ高精度なハイスループットアッセイ法を構築する。

#### 【実施項目】

研究開発項目①で開発する Orbitrap ELITE を用いたヒストン H4 テールの修飾組み合わせの一斉検出法の技術を元に、細胞周期における主要な H4 テールの修飾組み合わせ変化の解析を Orbitrap で行う。この結果や特異的ヒストン修飾抗体を用いた解析結果などから、主要な H4 テールの修飾組み合わせを選択し、培養細胞、生体試料での解析が可能な、Triple Q-MS での選択的反応モニタリング(Selected reaction monitoring: SRM)による H4 テール定量法を開発する。

##### (2) 探索的実証研究(東京大学、技術研究組合、未来創薬研究所)

in silico 化合物スクリーニング等の IT 技術とともに天然化合物ライブラリ等も活用して、後天的ゲノム修飾と複数種類の癌を関連づける複数の創薬・診断の標的候補分子に対し、これらの標的候補分子の後天的ゲノム修飾を制御する因子を高感度かつ高精度な定量的アッセイ法を用いて複数個程度同定し、モデル生物等による検証も通じて標的としての妥当性を検証することによって、本事業で開発した後天的ゲノム修飾に着目した創薬基盤技術の有用性を実証する。

#### 【実施項目】

ヒストンメチル化酵素と阻害活性を有する化合物との共結晶による構造解析を継続するとともに、化合物投与時のがん細胞株のヒストンテールの修飾解析や細胞生物学的解析を行い、化合物評価法としての妥当性を評価する。

候補分子に対するモノクローナル抗体の作成、酵素活性測定系、化合物スクリーニング系の樹立を進める。

#### 研究開発項目④「総合調査研究」(技術研究組合)

エピゲノム技術開発研究に関わる、研究促進のための活動を中心とし、国内外の技術動向調査及び情報収集を行う。特に、進歩が目覚ましい次世代シーケンサーや質量分析技術の進展は、研究開発項目①②と密接に関係しており、この技術動向は、今後のプロジェクト戦略を考える上で必要であるので、主たる調査研究として実施する。また、本プロジェクト実施内容に関連する外部動向調査(エピゲノム解析やメチル化酵素阻害などの阻害剤開発動向)を継続的に行ってゆくことも必要となる。

#### 【実施項目】

次世代シーケンサーの技術開発動向とメチル化酵素阻害剤などの開発状況の調査を引続き行う。とりわけ、長いリード長、早い反応時間を特徴とする解析プラットフォームについて評価を続けると共に、ナノポアシーケンシングの研究動向についても注視する。

## 5.2 平成 23 年度事業規模

	委託事業
一般勘定(交付金)	414百万円(継続)

(注) 事業規模については、変動があり得る。

## 6. その他重要事項

### (1) 評価の方法

NEDOは、技術的および政策的観点から、研究開発の意義、目標達成度、成果の技術的意義並びに将来の産業への波及効果等について、外部有識者による研究開発の中間評価を平成24年度、事後評価を平成27年度に実施する。また、中間評価結果を踏まえ、必要に応じ、プロジェクトの加速・縮小・中止等見直しを迅速に行う。なお、評価の時期については、当該研究開発に係る技術動向、政策動向や当該研究開発の進捗状況等に応じて、前倒しする等、適宜見直すものとする。

### (2) 運営・管理

当該プロジェクトの実施にあたっては、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(平成16年 文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)等、関連指針を厳守する。

また、本研究開発成果の事業化においては、「産業経済分野のうち個人遺伝情報を用いた事業分野における個人情報保護ガイドライン」(平成16年12月17日 経済産業省)等を厳守する。

#### 7. スケジュール

平成23年 5月	研究推進委員会
11月	研究推進委員会

#### 8. 実施方針の改訂履歴

- (1) 平成 23 年 3 月 10 日、制定。
- (2) 平成 23 年 6 月 30 日、改訂。

(別紙) 実施体制図

「後天的ゲノム修飾のメカニズムを活用した創薬基盤技術開発」

