

平成 30 年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	<input type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input checked="" type="checkbox"/> 21 世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 21 世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研究課題名	革新的統合ノンコーディング RNA 研究による分子標的薬の開発	
研究者所属・氏名	研究代表者：産業理工学部 生物環境化学科 教授 神武 洋二郎 共同研究者：産業理工学部 生物環境化学科 教授 藤井 政幸 産業理工学部 生物環境化学科 教授 森田 資隆 農学部 生物機能科学科 教授 北山 隆 理工学部 生命科学科 教授 田村 和朗	

1. 研究目的・内容

本研究では、miRNA、siRNA、lncRNA を含む新規ガン関連ノンコーディング RNA (Cancer Associated non-coding RNA: CA-ncRNA) 遺伝子を探索し、その作動原理と生理機能を解明する。さらに得られた成果を基に、ノンコーディング RNA を標的とした、従来とは異なる作用機序を持つガン治療薬開発へと展開するための研究基盤を確立する。

2. 研究経過及び成果

本研究のマイクロアレイ解析により、ガン化シグナル（活性型 H-RAS 変異体過剰発現）によって、複数の ncRNA の発現量が変動することが明らかとなった。これら発現量の変動があった ncRNA の中に、ガン化に関与するものが含まれる可能性が考えられる。そこでこれらの ncRNA を CA-ncRNA 候補とした。その中の一つ、PANDA は、ガン化シグナルによって発現量が顕著に増加していた。PANDA は long non-coding RNA (lncRNA) に分類される。本研究の結果、PANDA はヒト骨肉腫細胞で特異的に高発現しており、骨肉腫細胞の増殖を促進する機能を持つことが明らかとなった。PANDA を標的とする siRNA オリゴを作製し、PANDA の発現を抑制（ノックダウン）した結果、細胞増殖のブレーキである CDK インヒビター p18 の転写が増加し、細胞周期の G1 期に停止する細胞数が増加することが明らかとなった。これらの結果から、PANDA は CDK インヒビター p18 の転写を抑制し、細胞周期の G1 期を促進する機能を持つことが考えられた。また、本研究結果から、PANDA は、骨肉腫治療薬の分子標的となりうることが考えられた。

また、本研究により、ガン化シグナルによって発現量が減少する lncRNA、OIP5-AS1 が同定された。OIP5-AS1 を標的とする siRNA オリゴを作製し、OIP5-AS1 をノックダウンすると、ヒト子宮頸癌細胞の増殖が顕著に抑制された。OIP5-AS1 ノックダウンにより、アポトーシスをおこした細胞数に変化はなかったが、細胞周期の G2/M 期に停止する細胞数が増加することが明らかとなった。これらの結果から、OIP5-AS1 は、細胞周期の G2/M 期進行を促進する機能を持つことが考えられた。

さらに本研究により、ガン化シグナルによって発現量が減少する lncRNA が同定された (CA-lncRNA と命名)。我々は、CA-lncRNA を効率的に阻害する、siRNA オリゴとアンチセンス DNA オリゴの合成に成功した。これらを用いた CA-lncRNA の機能解析の結果、CA-lncRNA は、ヒト肺癌細胞の増殖を促進する機能を持つことが考えられた。その作用機構として、CA-lncRNA はガン抑制遺伝子である CDK インヒビター p15 の転写を抑制し、細胞周期の G1 期を促進することが明らかとなった。CA-lncRNA はガン抑制遺伝子 p15 の転写を抑制すること、ヒト肺癌細胞の増殖を促進する機能を持つことから、ガン遺伝子である可能性が高いと考えられた。

以上、PANDA、OIP5-AS1、CA-lncRNA は、各種ガン細胞の増殖促進に関与することから、これらの ncRNA は、ガン遺伝子として働く可能性が考えられた。本研究で合成した PANDA、OIP5-AS1、CA-lncRNA の発現を阻害する siRNA オリゴ、アンチセンス DNA オリゴは、ガン治療を目的とした遺伝子医薬のリード化合物になりうると思われた。

3. 本研究と関連した今後の研究計画

今後も、本研究で明らかとなったガン化シグナルによって発現変動する CA-ncRNA 候補遺伝子の機能解析を行っていく予定である。また本研究で機能が明らかとなった PANDA、OIP5-AS1、CA-lncRNA のゲノム DNA 構造や作動原理の詳細を解明する。さらに、個体におけるこれら CA-ncRNA の生理機能まで踏み込んで解明する予定である。本研究により得られた知見に基づき、CA-ncRNA 阻害剤のスクリーニング系を確立し、本研究によって作製されたペプチドライブラリー、天然低分子ライブラリーの中から、CA-ncRNA 阻害剤の探索を行う。また、CA-ncRNA を標的としたアンチセンス DNA/siRNA オリゴとペプチド/糖鎖をコンジュゲートし、新規遺伝子医薬を化学合成する。これら CA-ncRNA 阻害剤、新規遺伝子医薬の抗ガン作用は、培養細胞及びマウスを用いて評価する予定である。

4. 成果の発表等

発表機関名	種類(著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
Molecular and Cellular Biochemistry	学術誌	2018年5月
第41回日本分子生物学会	学会発表(ポスター)	2018年11月30日
第41回日本分子生物学会	学会発表(ポスター)	2018年11月28日
近畿大学サイエンスネットワーク 2018・第8回院生サミット	学会発表(ポスター)	2018年9月16日
近畿大学サイエンスネットワーク 2018・第8回院生サミット	学会発表(ポスター)	2018年9月16日
EMBO Workshop Cellular signalling and cancer therapy	学会発表(ポスター)	2018年9月16日
25th Biennial Congress of the European Association for Cancer Research	学会発表(ポスター)	2018年7月1日
第55回化学関連支部合同九州大会	学会発表(ポスター)	2018年6月30日
第55回化学関連支部合同九州大会	学会発表(ポスター)	2018年6月30日
第55回化学関連支部合同九州大会	学会発表(ポスター)	2018年6月30日
Chemistry An Asian Journal	学術誌	2019年1月2日
産業理工学部研究報告かやのもり	学内紀要	2018年11月30日
産業理工学部研究報告かやのもり	学内紀要	2018年11月30日
第55回化学関連支部合同九州大会	学会発表(ポスター)	2018年6月30日
日本核酸医薬学会第4回年会	学会発表(ポスター)	2018年7月9日-11日
Advances in Noncanonical Nucleic Acids 2018	招待講演	2018年10月25日-27日
The 45th International Symposium of Nucleic Acid Chemistry	学会発表(ポスター)	2018年11月7日-9日
The 45th International Symposium of Nucleic Acid Chemistry	学会発表(口頭)	2018年11月7日-9日
The 45th International Symposium of Nucleic Acid Chemistry	学会発表(口頭)	2018年11月7日-9日
Haematologica	学術誌	2019年2月(accepted)
Surg Today	学術誌	2018年8月
Hum genome Variation	学術誌	2018年6月
International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumors 2019	学会発表(ポスター)	2019年3月21日
第22回東北家族性腫瘍研究会学術集会	口頭(特別講演)	2019年2月23日
The 2nd International Cancer Research Symposium of Training	学会発表(ポスター)	2019年2月3日

Plan for Oncology Professionals		
日本人類遺伝学会第 63 回大会	学会発表 (口頭)	2018 年 10 月 11 日
日本人類遺伝学会第 63 回大会	学会発表 (ポスター)	2018 年 10 月 11 日
日本人類遺伝学会第 63 回大会	学会発表 (ポスター)	2018 年 10 月 11 日
日本人類遺伝学会第 63 回大会	学会発表 (ポスター)	2018 年 10 月 11 日
日本人類遺伝学会第 63 回大会	学会発表 (ポスター)	2018 年 10 月 12 日
日本人類遺伝学会第 63 回大会	学会発表 (ポスター)	2018 年 10 月 12 日
日本人類遺伝学会第 63 回大会	学会発表 (ポスター)	2018 年 10 月 12 日
日本人類遺伝学会第 63 回大会	学会発表 (ポスター)	2018 年 10 月 12 日
第 77 回日本癌学会学術総会	学会発表 (口頭)	2018 年 9 月 29 日
第 77 回日本癌学会学術総会	学会発表 (口頭)	2018 年 9 月 28 日
第 6 回日本家族性大腸腺腫症研究会 学術集会	学会発表 (口頭)	2018 年 9 月 14 日
第 50 回日本臨床分子形態学会総会	学会発表 (口頭)	2018 年 9 月 7 日
第 42 回日本遺伝カウンセリング学会 学術集会	学会発表 (口頭)	2018 年 6 月 28 日
第 42 回日本遺伝カウンセリング学会 学術集会	学会発表 (口頭)	2018 年 6 月 28 日
第 42 回日本遺伝カウンセリング学会 学術集会	学会発表 (口頭)	2018 年 6 月 28 日
第 42 回日本遺伝カウンセリング学会 学術集会	学会発表 (ポスター)	2018 年 6 月 28 日
第 24 回日本家族性腫瘍学会学術集会	学会発表 (口頭)	2018 年 6 月 8 日
第 24 回日本家族性腫瘍学会学術集会	学会発表 (口頭)	2018 年 6 月 8 日
第 24 回日本家族性腫瘍学会学術集会	学会発表 (ポスター)	2018 年 6 月 8 日
第 24 回日本家族性腫瘍学会学術集会	学会発表 (ポスター)	2018 年 6 月 8 日
第 24 回日本家族性腫瘍学会学術集会	学会発表 (ポスター)	2018 年 6 月 8 日
日本化学会第 99 春季年会	学会発表(口頭)	2019 年 3 月 19 日
日本化学会第 99 春季年会	学会発表(口頭)	2019 年 3 月 19 日
日本化学会第 99 春季年会	学会発表(口頭)	2019 年 3 月 19 日
日本化学会第 99 春季年会	学会発表(口頭)	2019 年 3 月 19 日
日本化学会第 99 春季年会	学会発表(口頭)	2019 年 3 月 18 日
日本化学会第 99 春季年会	学会発表(口頭)	2019 年 3 月 18 日
日本化学会第 99 春季年会	学会発表(ポスター)	2019 年 3 月 18 日
日本化学会第 99 春季年会	学会発表(口頭)	2019 年 3 月 17 日
日本化学会第 99 春季年会	学会発表(口頭)	2019 年 3 月 17 日
日本化学会第 99 春季年会	学会発表(口頭)	2019 年 3 月 17 日
日本化学会第 99 春季年会	学会発表(ポスター)	2019 年 3 月 17 日
日本化学会第 99 春季年会	学会発表(口頭)	2019 年 3 月 16 日
日本化学会第 99 春季年会	学会発表(口頭)	2019 年 3 月 16 日
Aroma Research	学術誌	2019 年 2 月 28 日
日本特許公報	特許出願	2019 年 2 月 27 日
日本特許公報	特許出願	2019 年 2 月 21 日
Tetrahedron	学術誌	2019 年 1 月
第 20 回 生体触媒化学シンポジウム	学会発表(ポスター)	2018 年 12 月 12 日

第 62 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会	学会発表(口頭)	2018 年 10 月 13 日
第 62 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会	学会発表(口頭)	2018 年 10 月 13 日
BIO tech2018 アカデミックフォーラム	依頼講演	2018 年 6 月 27~29 日
Anticancer Research	学術誌	2018 年 1 月
Molecular Cancer Research	学術誌	2017 年 10 月
Anticancer Research	学術誌	2017 年 4 日
第 40 回日本分子生物学会	学会発表 (ポスター)	2017 年 12 月 8 日
第 40 回日本分子生物学会	学会発表 (ポスター)	2017 年 12 月 2 日
近畿大学サイエンスネットワーク 2017・第 7 回院生サミット	学会発表 (ポスター)	2017 年 9 月 2 日
近畿大学サイエンスネットワーク 2017・第 7 回院生サミット	学会発表 (ポスター)	2017 年 9 月 2 日
近畿大学サイエンスネットワーク 2017・第 7 回院生サミット	学会発表 (ポスター)	2017 年 9 月 2 日
第 54 回化学関連支部合同九州大会	学会発表 (ポスター)	2017 年 7 月 1 日
第 54 回化学関連支部合同九州大会	学会発表 (ポスター)	2017 年 7 月 1 日
第 54 回化学関連支部合同九州大会	学会発表 (ポスター)	2017 年 7 月 1 日
第 69 回日本細胞生物学会	招待講演	2017 年 6 月 14 日
EMBO conference -chromatin and epigenetics-	学会発表 (ポスター)	2017 年 5 月 4 日
Nucleic Acid Therapeutics	学術誌	2017 年 6 月
Expert Opin. Drug Delivery	学術誌	2017 年 9 月
中分子医薬開発に資するペプチド・核酸・糖鎖の合成・高機能化技術(分担執筆)	著書	2018 年 2 月 28 日
マクマリー・生物有機化学 (共訳)	訳書	2018 年 1 月 10 日
近畿大学産業理工学部研究報告 かやのもり	学内紀要	2017 年 7 月 15 日 (2017, 26, 1-10)
近畿大学産業理工学部研究報告 かやのもり	学内紀要	2017 年 12 月 15 日 (2017, 27, 41-45.)
第 44 回核酸化学国際シンポジウム	学会発表 (ポスター)	2017 年 11 月 14-16 日
13th Annual Meeting Oligonucleotide Therapeutics Society	学会発表 (ポスター)	2017 年 9 月 24 日
12th International scientific conference on bioorganic chemistry	招待講演	2017 年 9 月 18 日
All Russian Conference with International Participation "Biotechnology for the Future of Medicine"	学会発表 (口頭)	2017 年 7 月 24 日
第 3 回日本核酸医薬学会年会	学会発表 (ポスター)	2017 年 7 月 12 日
特許庁	特許出願	2017 年 9 月
特許庁	特許出願	2017 年 9 月
Elsevier	著書	2017 年 8 月
日本薬学会第 138 年会	学会発表 (ポスター)	2018 年 3 月 27 日
日本薬学会第 138 年会	学会発表 (ポスター)	2018 年 3 月 27 日
日本薬学会第 138 年会	学会発表 (ポスター)	2018 年 3 月 27 日
日本薬学会第 138 年会	学会発表 (ポスター)	2018 年 3 月 27 日

日本薬学会第 138 年会	学会発表 (ポスター)	2018 年 3 月 27 日
日本薬学会第 138 年会	学会発表 (ポスター)	2018 年 3 月 27 日
日本薬学会第 138 年会	学会発表 (ポスター)	2018 年 3 月 27 日
日本薬学会第 138 年会	学会発表 (口頭)	2018 年 3 月 26 日
日本薬学会第 138 年会	学会発表 (口頭)	2018 年 3 月 26 日
日本化学会第 98 春季年会 2018	学会発表 (ポスター)	2018 年 3 月 21 日
第 19 回 生体触媒化学シンポジウム	学会発表 (ポスター)	2017 年 12 月 21 日
第 19 回 生体触媒化学シンポジウム	学会発表 (ポスター)	2017 年 12 月 21 日
第 59 回天然有機化合物討論会	学会発表 (ポスター)	2017 年 9 月 20 日
第 61 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会	学会発表 (口頭)	2017 年 9 月 9 日
Nucleic Acid Therapeutics	学術誌	2017 年 4 月
日本外科学会	学術誌	2018 年 3 月
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (口頭)	2017 年 6 月 24 日
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (口頭)	2017 年 6 月 24 日
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (口頭)	2017 年 6 月 24 日
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (口頭)	2017 年 6 月 24 日
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (口頭)	2017 年 6 月 24 日
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (口頭)	2017 年 6 月 24 日
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (口頭)	2017 年 6 月 24 日
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (口頭)	2017 年 6 月 24 日
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (口頭)	2017 年 6 月 24 日
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (ポスター)	2017 年 6 月 24 日
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (ポスター)	2017 年 6 月 24 日
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (ポスター)	2017 年 6 月 24 日
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (ポスター)	2017 年 6 月 24 日
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (ポスター)	2017 年 6 月 24 日
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (ポスター)	2017 年 6 月 24 日
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (ポスター)	2017 年 6 月 24 日
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (ポスター)	2017 年 6 月 24 日
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (ポスター)	2017 年 6 月 24 日
第 41 回日本遺伝カウンセリング学会	学会発表 (ポスター)	2017 年 6 月 24 日
6th InSiGHT	学会発表 (ポスター)	2017 年 7 月 6 日
第 23 回日本家族性腫瘍学会	学会発表 (口頭)	2017 年 8 月 5 日
第 23 回日本家族性腫瘍学会	学会発表 (口頭)	2017 年 8 月 5 日
第 23 回日本家族性腫瘍学会	学会発表 (口頭)	2017 年 8 月 5 日
第 23 回日本家族性腫瘍学会	学会発表 (口頭)	2017 年 8 月 5 日
第 23 回日本家族性腫瘍学会	学会発表 (口頭)	2017 年 8 月 5 日
第 76 回日本癌学会	学会発表 (口頭)	2017 年 9 月 30 日
The 1st International Cancer Research Symposium	学会発表 (口頭)	2018 年 3 月 10 日
The 1st International Cancer Research Symposium	学会発表 (ポスター)	2018 年 3 月 10 日
Anticancer Research	学術誌	2017 年 1 月
Cytotechnology	学術誌	2016 年 8 月

Anticancer Research	学術誌	2016年4月
日本農芸化学会 2017 年度大会	学会発表(口頭)	2017年3月18日
第20回バイオ治療法研究会	学会発表 (ポスター)	2016年12月10日
J.I.S.R.I. e-ASIA 2016	学会発表 (ポスター)	2016年12月7日
The 2nd International Symposium of Chemistry and Biology of RNA Interference	学会発表(口頭)	2016年9月30日
第15回近畿大学環境科学研究会	学会発表(口頭)	2016年8月8日
12th International Congress of Cell Biology	学会発表 (ポスター)	2016年7月24日
第53回化学関連支部合同九州大会	学会発表 (ポスター)	2016年7月2日
第68回日本細胞生物学会大会	学会発表 (ポスター)	2016年6月17日
第68回日本細胞生物学会大会	学会発表 (ポスター)	2016年6月17日
第68回日本細胞生物学会大会	学会発表 (ポスター)	2016年6月17日
Nucleic Acid Therapeutics	学術誌	2017年6月
Expert Opinion. Drug Delivery, Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids	学術誌	2016年10月
日本薬学会医化学部会 Med Chem News,	学術誌	2016年7月
近畿大学産業理工学部研究報告 かやのもり	学術誌	2016年7月
近畿大学産業理工学部研究報告 かやのもり	学術誌	2016年12月
China Patent 2310709638	特許	2016年12月14日
European Patent No. 2594	特許	2016年5月25日
ロシア科学アカデミー	招待講演	2016年11月1日
ロシア科学アカデミー	招待講演	2016年7月24日
The 2nd International Symposium of Chemistry and Biology of RNAi	学会発表(口頭)	2016年9月30日
第43回国際核酸化学シンポジウム	学会発表 (ポスター)	2016年9月27日
第43回国際核酸化学シンポジウム	学会発表 (ポスター)	2016年9月27日
XXII International Round Table on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids	学会発表(口頭)	2016年8月18日
第2回日本核酸医薬学会年会	学会発表 (ポスター)	2016年11月15日
第53回化学関連支部合同九州大会	学会発表 (ポスター)	2016年7月2日
第53回化学関連支部合同九州大会	学会発表 (ポスター)	2016年7月2日
日本農芸化学会 2017 年度大会	学会発表(口頭)	2017年3月20日
日本農芸化学会 2017 年度大会	学会発表(口頭)	2017年3月19日
日本農芸化学会 2017 年度大会	学会発表(口頭)	2017年3月19日
日本農芸化学会 2017 年度大会	学会発表(口頭)	2017年3月18日
日本農芸化学会 2017 年度大会	学会発表(口頭)	2017年3月18日
日本農芸化学会 2017 年度大会	学会発表(口頭)	2017年3月18日
日本農芸化学会 2017 年度大会	学会発表(口頭)	2017年3月18日

日本農芸化学会 2017 年度大会	学会発表(口頭)	2017 年 3 月 18 日
日本農芸化学会 2017 年度大会	学会発表(口頭)	2017 年 3 月 18 日
第 18 回生体触媒化学シンポジウム	学会発表 (ポスター)	2016 年 12 月 21 日
第 60 回香料・テルペンおよび精油化学 に関する討論会	学会発表(口頭)	2016 年 10 月 29 日
第 60 回香料・テルペンおよび精油化学 に関する討論会	学会発表(口頭)	2016 年 10 月 29 日
Nucleic Acid Ther.	学術誌	2017 年 3 月