金沢大学
KANAZAWA UNIVERSITY

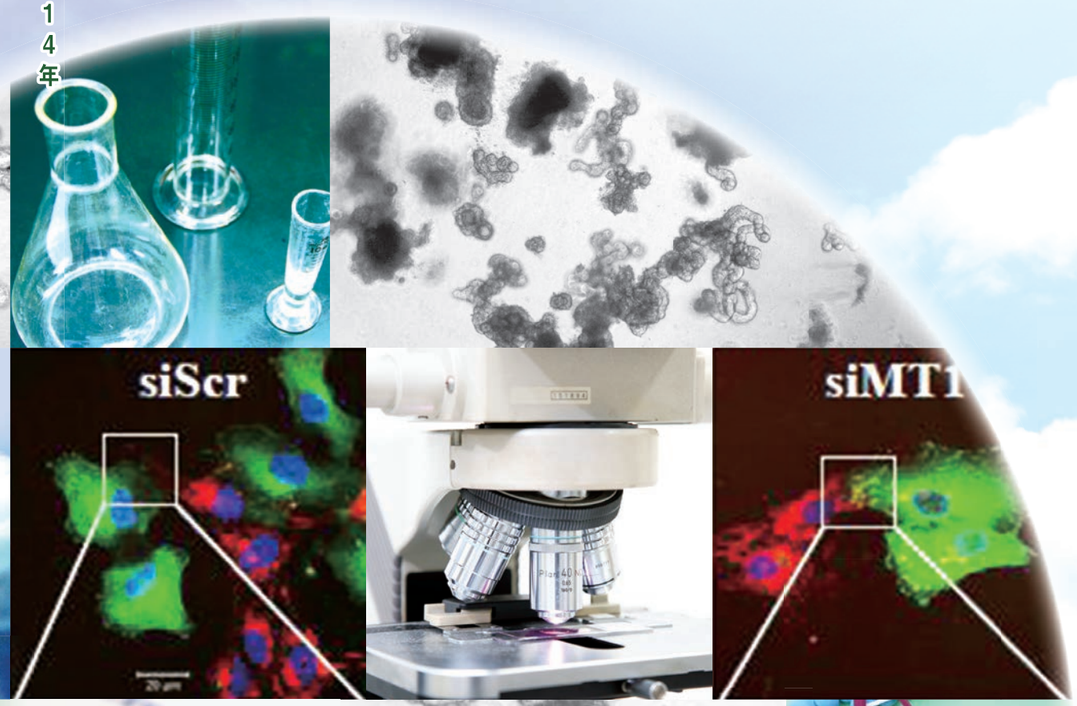
金沢大学がん進展制御研究所年報2014年

［発行］金沢大学がん進展制御研究所
〒920-1192 石川県金沢市角間町　TEL：076-264-6700㈹　FAX：076-234-4527
URL　http://www.kanazawa-u.ac.jp/~ganken/

金沢大学がん進展制御研究所　年報2014年

金沢大学がん進展制御研究所
年報 2014年

Annual Report
Cancer Research Institute
Kanazawa University



巻頭言

本研究所の前身である金沢大学がん研究所は，昭和 47 年に設立されて以来，今日までに，基礎研究と臨床研究を一体的に推進して参りました。これらの成果を踏まえ，がんによる死亡の主要な原因となる「転移」や「薬剤耐性」などのがん進展機構の本態を解明し新規治療への道筋を示すことを，本研究所の重要な目的と位置付けています。この目標に向かって「がん幹細胞研究」「がん微小環境研究」「がん分子標的探索」「がん分子標的医療開発」の 4 つの研究プログラムに所属する 12 の研究分野が一丸となって研究を推進しています。さらに，平成 23 年度より「がんの転移・薬剤耐性に関する先導的共同研究拠点」として全国共同利用・共同研究拠点として文部科学省より認定され，同時に研究所名称を「がん進展制御研究所」に変更して研究拠点活動を展開しています。

全国の共同利用・共同研究拠点の中でも，唯一のがんに特化した拠点としてがん研究領域の発展に貢献すべく，研究所の機能強化を鋭意進めているところです。毎年，外部研究者との共同研究採択課題数が増加していますが，今年度は過去最大の 54 件を採択して実施しました。また, 今年度より国際共同研究の公募も行い, 韓国, 中国, シンガポール, タイなどアジア各国のがん研究施設からの応募課題も採択し，多くの重要な研究成果が得られました。さらに，毎年開催する共同利用・共同研究拠点シンポジウムを，今年度は日本癌学会シンポジウムとして開催することで，若手研究者を含む多くの学外のがん研究者に参加および発表して頂き，本研究所をハブとしたがん研究者ネットワーク構築の推進に，少しずつですが手ごたえを感じているところです。また，女性がん研究者の育成も研究拠点としての重要な役割と考えています。今年度は，女性がん研究者の活躍を推進するために,「金沢女性がん研究者フォーラム」を初めて開催し，全国のがん研究領域を代表する女性研究者を招聘し，研究発表やパネルディスカッションを行いました。

研究所間の連携では，韓国ソウル大学がん研究所および中国復旦大学がん研究所との連携協定をもとに継続して合同シンポジウムを開催し，新たにシンガポール大学がん研究所との連携に向けた研究交流を始めました。国内においては，北海道大学遺伝子病制御研究所との第３回合同シンポジウムを札幌で開催し，国立がん研究センター研究所との連携に向けた研究カンファレンスを開始しました。以上のがん研究者ネットワークおよび研究所間連携を強化することにより，本研究所はがん研究領域における国際的な中核的研究施設となることを目指して活動を推進しています。ここに，本年度の研究所内各研究分野の成果を取りまとめましたので，業績集として報告致します。

金沢大学がん進展制御研究所長　大島正伸

金沢大学がん進展制御研究所年報２０１４年

目　次

巻頭言

研究概要と研究業績

がん幹細胞研究プログラム

遺伝子・染色体構築研究分野 ･･････ 2

腫瘍遺伝学研究分野 ･･････ 7

腫瘍分子生物学研究分野 ･･････ 13

がん幹細胞探索プロジェクト ･･････ 19

がん微小環境研究プログラム

細胞機能統御研究分野 ･･････ 24

分子生体応答研究分野 ･･････ 28

免疫炎症制御研究分野 ･･････ 34

腫瘍動態制御研究分野 ･･････ 38

がん分子標的探索プログラム

分子病態研究分野 ･･････ 44

シグナル伝達研究分野 ･･････ 49

腫瘍制御研究分野 ･･････ 53

機能ゲノミクス研究分野 ･･････ 60

がん分子標的医療開発プログラム

腫瘍内科研究分野 ･･････ 66

中央実験施設 ･･････ 80

基礎統計・教育活動 ･･････ 85

各種シンポジウム開催状況 ･･････ 87

がん幹細胞研究プログラム

遺伝子・染色体構築研究分野

＜研究スタッフ＞
教　授　　平尾敦
助　教　　田所優子　　助　教　　小林昌彦
助　教　　上野将也　　博士研究員　大田久美子
大学院生
[医薬保健総合研究科博士課程]
Mohamed A.E. Ali（H26. 9 月まで），笠田篤郎，野村奈穂，布施香子（特別研究学生：新潟大学），彭卉，Vu T. Ha
[自然科学研究科博士後期課程]
Ahmed M. Hegazy
技能補佐員　　畦地絵里
技術補佐員　　澤和恵

【 研 究 概 要 】

当研究室では，①幹細胞自己複製および分化制御メカニズムを理解すること，②幹細胞制御という観点から，がんの発生や動態制御メカニズムを理解することを目標に研究を進めている。これらの知見に基づいて③新規がん治療法の開発を模索している。

＜2014 年の研究成果，進行状況＞

１）造血幹細胞の自己複製制御機構

造血幹細胞は，骨髄環境の中で様々な外的影響を受け，自己複製と分化の適切なバランスによって，恒常性を維持している。自己複製と分化の運命は，どのような因子によって決定されているのか，そのような運命決定機構は，どのような生命現象に寄与しているのか未だ明らかではない。本研究室では，栄養・エネルギーシグナルやサイトカインシグナルを中心に，その分子メカニズムの解明に取り組んでいる。

受容体型チロシンキナーゼ c-Kit は，造血幹細胞の運命決定に必須のサイトカインシグナルであるが，最近の研究では，c-Kit シグナルに対する負の制御も自己複製機構に重要であることが示されている。我々は，サイトカインシグナルの下流で，Ras-Raf-ERK 経路の負の制御因子として知られる Spred1,2 が未分化な造血集団に比較的高い発現を示すことから，本分子と造血幹細胞の関連を解析してきた。その結果，Spred1 の局在変化は，c-Kit シグナルで誘導されること，Spred1 の機能欠失は，①生体内において造血幹細胞の自己複製能を亢進させること，②in vitro においては，非接着状態では大きな変化を示さないのに対して，支持細胞との接着状態では自己複製能の亢進が再現できることを見いだした。さらに，③接着依存的自己複製の亢進現象には，アクチン重合や関連シグナルが介在していることが判明した。現在，シングルセルレベルでの遺伝子発現解析を計画しており，細胞接着が如何に自己複製を制御して

いるのかを明らかにしたいと考えている。さらに，本研究を通じて，自己複製制御がが ん化・老化に如何に寄与しているのか明らかにしたい。

その他，栄養センサーシグナル mTOR シグナルの下流分子（オートファジー，脂質代謝制御分子）に着目して，自己複製制御メカニズムの解明に取り組んでいる。

２）白血病幹細胞の代謝調節

栄養飢餓耐性と白血病幹細胞の関連を探るため，①栄養・エネルギーを感知し活性化する mTOR 複合体 1,2 (mTORC1,2)，②栄養飢餓によって活性化する転写因子フォークヘッド FOXO の機能解析を中心に行った。mTORC1 は，多くの栄養シグナルを感知する中心的役割を果し，増殖の活発ながん細胞に対する重要な治療標的シグナルとして認識されている。例えば，T-リンパ球性白血病の増殖には mTORC1 依存的細胞周期制御が必須であり，mTORC1 経路の遮断は，本白血病の効果的治療戦略となり得ると考えられた（Hoshii T, *PNAS* 2014）。しかし，骨髄性白血病では，mTORC1 を完全に失活しても白血病幹細胞の自己複製能は失われず，却って幹細胞制御因子の発現亢進を伴っていることから，本白血病においては，mTORC1 の失活，すなわち栄養シグナルの遮断に対し，幹細胞形質の獲得を伴う生存シグナルの活性化が起こっているのではないかと考えられた。さらに，この状態の白血病幹細胞では，幹細胞制御因子 FOXO がより活性化していることも判明した。そこで，骨髄性白血病における FOXO の機能解析を行った結果，本分子の幹細胞分化や代謝変動に対して直接的に寄与していることを見いだした。これらの研究結果は，白血病幹細胞の未分化性維持における細胞内代謝の重要性を示す知見であり，来年に向けて更に「栄養・エネルギーシグナルと幹細胞制御・がん悪性形質制御」というテーマに取り組む根拠になると考えている。

３）脳腫瘍幹細胞の悪性化因子

脳腫瘍（悪性グリオーマ）において，mTORC1 の活性化を誘導するモデルを構築し（Yamada D, *J Biochem*.2014），本シグナルの活性化が脳腫瘍幹細胞の数・能力を亢進させることを確認した。さらに，メタボロームおよび細胞外フラックスアナライザーによる解析により（高橋研との共同研究），mTORC1 活性化は，解糖系依存から酸化的リン酸化依存へのスイッチを誘導し，脳腫瘍幹細胞の増幅を支えるエネルギー産生に寄与することを見出した。また，本システムを用いた化合物（既存薬）スクリーニングを実施し，mTORC1 活性化時に強い抗腫瘍効果を発揮する化合物を特定した。現在，候補化合物がいかに脳腫瘍幹細胞の増幅阻害に寄与するのか検討しており，脳腫瘍の悪性化メカニズムの解明と新規治療法の開発に向けた研究を進めている。

【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

（研究室主体）

1. Hoshii T, Kasada A, Hatakeyama T, Ohtani M, Tadokoro Y, Naka K, Ikenoue T, Ikawa T, Kawamoto H, Fehling HJ, Araki K, Yamamura K, Matsuda S, Hirao A. Loss of mTORC1 induces developmental blockage in early T-lymphopoiesis and eradicates T-cell acute lymphoblastic leukemia cells. ***Proc Natl Acad Sci U S A.***111:3805-10, 2014
2. Yamada D, Hoshii T, Tanaka S, Hegazy AM, Kobayashi M, Tadokoro Y, Ohta K, Ueno M, Ali MAE, Hirao A. Loss of Tsc1 accelerates malignant gliomagenesis when combined with oncogenic signals. ***J Biochem.*** 155:227-33, 2014.
3. Tanaka S, Nakada M, Yamada D, Nakano I, Todo T, Ino Y, Hoshii T, Tadokoro Y, Ohta K, Ali MA, Hayashi Y, Hamada JI, Hirao A. Strong therapeutic potential of γ-secretase inhibitor MRK003 for CD44-high and CD133-low glioblastoma initiating cells. ***J Neurooncol.*** 2014, in press
4. Ali MA, Naka K, Yoshida A, Fuse K, Kasada A, Hoshii T, Tadokoro Y, Ueno M, Ohta K, Kobayashi M, Takahashi C, Hirao A. Association of a murine leukaemia stem cell gene signature based on nucleostemin promoter activity with prognosis of acute myeloid leukaemia in patients. ***Biochem Biophys Res Commun.*** 450:837-43, 2014.
5. Hoshii T, Matsuda S, Hirao A. Pleiotropic roles of mTOR complexes in haemato-lymphopoiesis and leukemogenesis. ***J Biochem***. 156:73-83, 2014 (review)
6. Hirao A. TPO signal for stem cell genomic integrity. ***Blood*** 123:459-60, 2014 (commentary)

（共同研究）

7. Kato T, Sakata YM, Nishikii H, Miyake Y, Yokoyama Y, Asabe Y, Kamada Y, Ueno M, Obara N, Suzukawa K, Hasegawa Y, Kitabayashi I, Uchida K, Hirao A, Yagita H, Kageyama R, and Chiba S. Hes1 suppresses acute myeloid leukemia development through FLT3 repression. ***Leukemia***, 2014, in press
8. Imai Y, Takahashi A, Hanyu A, Hori S, Sato S, Naka K, Hirao A, Ohtani N, Hara E. Crosstalk between the Rb pathway and AKT signaling forms a quiescence-senescence switch. ***Cell Rep.*** 7:194-207, 2014.
9. Fahkri H, Zhang B, Fajol A, Hernando N, Elvira B, Mannheim JG, Pichler BJ, Daniel C, Amann K, Hirao A, Haight J, Mak TW, Lang F, Föller M. Checkpoint kinase Chk2 controls renal Cyp27b1 expression, calcitriol formation, and calcium-phosphate metabolism. ***Pflugers Arch***. 2014, in press

（日本語総説・著書）

1. 平尾　敦：“耐える”ための代謝リプログラミング―エネルギー制御シグナル調

節によるがんの生存戦略―　医学のあゆみ　250: 59-63, 2014

2. 平尾　敦：がん分子標的治療 がん治療標的としての mTOR シグナル 12: 161-165, 2014
3. 平尾　敦：造血細胞分化および白血病における mTOR シグナル　医学のあゆみ 248:152-6, 2014
4. 平尾　敦：栄養・エネルギーセンサーシグナルとがん　細胞工学 33:157-61, 2014

＜学会発表＞

1. Hirao A: The nutrient sensing signaling pathways in the hematopoietic and leukemia stem cells. SNUCRI CANCER SYMPOSIUM, April 14, 2014, Korea
2. Hirao A: The nutrient sensing signaling pathways in the hematopoietic stem cells and leukemia. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa. Nov. 4, 2014, Kanazawa
3. Hirao A: The nutrient sensing signaling in the cancer stem cells.　第 73 回日本癌学会学術総会，平成 26 年 9 月 26 日，横浜
4. Hirao A: The signaling pathways for the determination of hematopoietic stem cell fate. 第 76 回日本血液学会学術集会，平成 26 年 11 月 1 日，大阪
5. Hirao A.　Role of nutrient sensing pathways in the stem cell fate determination　第37回日本基礎老化学会大会，平成26年6月27日，愛知
6. 平尾敦：幹細胞における栄養応答シグナル，第 15 回日本抗加齢医学会総会　平成 26 年 6 月 6 日，大阪
7. 平尾敦　栄養センサーシグナルと幹細胞制御　第2回がんと代謝研究会，平成26年7月8日，東京
8. Tadokoro Y, Eto K, Ema H, Yamazaki S, Yoshimura A, Nakauchi H, Hirao A: Control of self-renewal activity of hematopoietic stem cells by Spred1, ISEH 43rd Annual Scientific Meeting, 21-24 August 2014, Montréal, Canada
9. Tadokoro Y, Hoshii T, Naka K, Eto K, Ema H, Yamazaki S, Yoshimura A, Nakauchi H, Hirao A: Inhibitory effect of Spred1 on self-renewal activity mediated by cell-cell interaction determines size of hematopoietic stem cell pool, The 12th Stem Cell Research Symposium, 30-31 May 2014, Fukuoka
10. Ali M, Hoshii T, Tadokoro Y, Ueno M, Naka K, Hirao A. A novel approach for identification of hematopoietic stem cell population by nucleostemin promoter activity. The 12th Stem Cell Research Symposium, 30-31 May 2014, Fukuoka
11. 小林昌彦,山田大祐, Hegazy Ahmed M.,平尾敦: mTOR 複合体 1 による代謝調節を介したグリオーマ悪性化機構，第 2 回がんと代謝研究会，平成 26 年 7 月 10-11 日，東京
12. 小林昌彦，山田大祐，平尾敦: Role of mTORC1 in the regulation of energy metabolism

of glioma initiating cells, 第 73 回日本癌学会, 平成 26 年 9 月 25-27 日, 横浜

13. 大田久美子, 布施香子, 平尾敦 : 白血病幹細胞における転写因子 FOXO の役割 第 19 回造血器腫瘍研究会, 平成 27 年 1 月 23-24 日, 佐賀

＜外部資金＞

1. 平尾敦 : 基盤研究（A）H24～H26 年度「がんの幹細胞特性を支える栄養シグナル制御機構の解明」11,200 千円
2. 平尾敦 : 新学術領域研究　がん幹細胞（公募）　H25～H26 年度「ストレス応答を介したがん幹細胞ニッチシグナルの解明」6,000 千円
3. 平尾敦 : 次世代がん研究戦略推進プロジェクト　H23～H27 年度「がん幹細胞を標的とした根治療法の開発」40,000 千円
4. 平尾敦 : 挑戦的萌芽研究　H25～H26 年度「細胞競合を介した幹細胞クローン増幅機構の解明」900 千円
5. 平尾敦 : 戦略的創造研究推進事業（CREST）　H25～H27 年度(分担)「人工多能性幹細胞（iPS 細胞）作製・制御等の医療基盤技術:幹細胞の自己複製ネットワークの解析」10,000 千円
6. 田所 優子 : 基盤研究（C）（一般）「カロリー制限による造血幹細胞動態制御の分子基盤の解析」1,300千円
7. 田所 優子 : 挑戦的萌芽研究「細胞競合を介した幹細胞クローン増幅機構の解明」（分担）900千円
8. 小林昌彦 : 基盤研究（C）（平成25年度～平成27年度）「DNA損傷を介さないATM依存的な細胞ストレス応答と発がん抑制機構の解析」　1,100千円
9. 上野将也 : 基盤研究（C）平成26年度～平成27年度「静止期制御因子を指標とした造血幹細胞不均一性の解明」1,200千 円

＜共同研究＞

学内

1. 脳腫瘍幹細胞解析：脳神経外科　中田光俊
2. 薬物動態解析：薬物動態学　中西猛夫, 玉井郁巳
3. 代謝フラックス解析：河野晋, 高橋智聡

学外

4. 脳腫瘍幹細胞解析：米国オハイオ州立大学　中野伊知郎
5. mTORC2解析：東京大学医科学研究所　池上恒雄
6. 白血病解析：University of Glasgow, Tessa Holyoake
7. 網羅的代謝産物解析：慶應義塾大学先端生命科学研究所　曽我朋義
8. 薬効解析：理化学研究所疾患モデル評価研究開発チーム　井上麻紀
9. タンパク解析：大阪大学 蛋白質研究所　高木淳一

腫瘍遺伝学研究分野

＜研究スタッフ＞

教　授　　大島　正伸

助　教　　大島　浩子

助　教　　中山　瑞穂　　特任助手　　直井　国子（中央実験施設）

博士研究員　Tae-Su Han（CREST）　　博士研究員　　越前　佳奈恵（CREST）

大学院生（博士課程）　鞠　小麗

大学院生（博士課程）　前田　祐介（特別研究学生）

大学院生（博士課程）　坂井　絵梨　　大学院生（博士前期）　堀内　契吾

外国人研究員　Natthiya Sakulsak（2014 年 9 月~12 月）

技能補佐員　　渡邊　真奈美　　研修医　　杉森　慎

技術補佐員　　津田　理子　　医学類（５年）北嶋　彩夏

【研究概要】

消化器がんの発生および悪性化進展に，慢性炎症反応が重要に関わっていることが明らかにされている。当研究室では，ヒト胃がんおよび大腸がんを発生分子機序から再現するマウスモデル（*Gan* マウスおよび $Apc^{\Delta716}$ マウス）を用いた研究により，「慢性炎症による発がん促進および悪性化誘導機構」に着目した研究を推進している。これらの研究を通して，炎症の遷延化がなぜ発がんや悪性化を促進するのか分子レベルで明らかにし，慢性炎症の制御によるがんの制御を実現させることを目標としている。これらの研究目標のもとに，2014 年は以下の研究テーマを推進した。

＜2014 年の研究成果，進捗状況＞

（１）自然免疫反応によるがん微小環境形成と発がん促進（前田）

我々は胃がんモデルの *Gan* マウスを無菌化すると胃がん発生が顕著に抑制されることを報告した（***Gastroenterology*** 2012）。自然免疫による発がん促進機構を解明するため，Toll-like 受容体アダプター分子 MyD88 の遺伝子欠損マウスと *Gan* マウスとの交配実験を行い，骨髄由来細胞における MyD88 シグナルが微小環境形成を介して発がんを促進することを明らかにした。さらに MyD88 依存的微小環境が，上皮幹細胞性維持に関わる TLR2 経路を活性化する可能性を示す結果も得た（投稿準備中）。

（２）Noxo1 依存的 ROS 産生による発がん誘導機構（越前）

微小環境で活性化する TNF-αが胃がん発生を促進し，その下流で ROS 産生を担う NOX1 と結合する Noxo1 が発現誘導することを明らかにした（***Oncogene***, 2014）。ヒト

胃がん細胞を用いた解析により, TNF-α/NF-κB経路依存的にNoxo1が誘導され, Noxo1依存的な ROS 産生が腫瘍原性やがん幹細胞特性の維持に作用する結果を得た。さらに詳細な分子機構を解明するために遺伝子発現解析を進めており, また Noxo1 遺伝子変異マウスを新規に作製して個体レベルでの実験を進めている。

（３）炎症依存的 microRNA 発現変化によるがん転移の促進（Han）

Laser Microdissection により胃がん上皮細胞を単離してマイクロアレイ解析を行ない，炎症反応依存的に腫瘍細胞で発現変化する microRNA（miRNA）を同定した。ヒト胃がん組織の解析結果との比較により miR-135b を新規『炎症依存的 oncomiR』として特定した。ヒト胃がん・大腸がん細胞を用いた解析により，miR-135b 発現による腫瘍原性の維持，および移植モデルにおける肝転移促進を明らかにした。また，miR-135b の条件付き KO マウスを導入し，遺伝学的解析を進めている。

（４）TGF-β抑制と炎症反応・組織再生によるがん細胞浸潤機構（大島）

大腸がんの多段階発がんにおいては，*Apc* 遺伝子変異による Wnt 活性化と *Tgfbr2* 変異による TGF-βシグナル遮断により悪性化腫瘍が発生すると考えられている。新たに villin-CreER *Tgfbr2*$^{flox/flox}$ マウスを用いて腸炎誘導実験を行った結果，慢性腸炎により MT1-MMP が発現して MMP2 が活性化し，同時に腸粘膜再生が起こると TGF-βシグナルを遮断による浸潤がが発生することを明らかにした。これは潰瘍性大腸炎における大腸がん発生機構の解明に貢献する重要な知見である（***Cancer Res***, in press）。

（５）変異型 p53 による大腸がん悪性化機構（中山）

ヒト固形がんにおける p53 変異を再現した変異型 p53（mt-p53）マウスでは, p53Null 変異マウスではみられない腺がんが発生し，mt-p53 による gain of function の可能性が示されている。大腸がんにおける mt-p53 の役割を明らかにするため，*Apc*$^{\Delta716}$ mt-p53 の複合変異マウスを作製して解析を進めている。これまでに，mt-p53 の細胞内安定性と局在変化が浸潤等の悪性化に関与している可能性を示す結果を得ている。

＜今後の計画＞

最近の研究により, 損傷を起こした組織では自然免疫が活性化して炎症が誘導され, それが骨髄由来細胞の浸潤や上皮幹細胞の未分化性維持に作用して組織再生が行われると考えられるようになって来た。がんにおける炎症誘導も，損傷シグナルによる自然免疫の誘導に起因している可能性があり，がんは宿主が粘膜上皮を再生しようとする生体反応を利用して増殖や悪性化を促進している可能性が考えられる。現在，研究室で推進しているプロジェクトは，この考え方に即した方向性で推進しており，各プロジェクトはそれぞれ重要な結果が得られつつある。2015 年度も各プロジェクトを推進し，慢性炎症による発がんおよび悪性化機構の解明を目指す。

【研究業績】

＜発表論文＞

（腫瘍遺伝学研究分野主体）

1. Oshima H, Ishikawa T, Yoshida GJ, Naoi K, Maeda Y, Naka K, Ju X, Yamada Y, Minamoto T, Mukaida N, Saya H, and Oshima M. TNF-α/TNFR1 signaling promotes gastric tumorigenesis through induction of Noxo1 and Gna14 in tumor cells. ***Oncogene*** 33: 3820-3829, 2014.
2. Ju X, Ishikawa T, Naka K, Ito K, Ito Y, and Oshima M. Context-dependent activation of Wnt signaling by tumor suppressor RUNX3 in gastric cancer cells. ***Cancer Sci*** 105: 418-424.
3. Oshima H, Nakayama M, Han TS, Naoi K, Ju X, Maeda Y, Robine S, Tsuchiya K, Sato T, Taketo MM, and Oshima M. Suppressing TGF-β signaling in regenerating epithelia in an inflammatory microenvironment is sufficient to cause invasive intestinal cancer. ***Cancer Res***, in press.

（共同研究）

1. Han TS, Hur K, Xu, G, Choi B, Okugawa Y, Toiyama Y, Oshima H, Oshima M, Lee HJ, Kim VN, Chang AN, Goel A, Yang HK. MicroRNA-29c mediates initiation of gastric carcinogenesis by directly targeting ITGB1. ***Gut*** [Epub ahead of print].
2. Li Q, Wang W, Machino Y, Yamada T, Kita K, Oshima M, Sekido Y, Tsuchiya M, Suzuki Y, Nan-Ya KI, Iida S, Nakamura K, Iwakiri S, Itoi K, and Yano S. Therapeutic activity of glycoengineered anti-GM2 antibodies against malignant pleural mesothelioma. ***Cancer Sci*** [Epub ahead of print].
3. Miyashita T, Tajima H, Shah FA, Oshima M, Makino I, Nakagawara H, Kitagawa H, Fujimura T, Harmon JW, and Ohta T. Impact of inflammation-metaplasia-adenocaricnoma sequence and inflammatory microenvironment in esophageal carcinogenesis using surgical rat models. ***Ann Surg Oncol*** 21: 2012-2019, 2014.

（日本語総説・著書）

1. 大島正伸. 特集「がん・免疫・代謝・発生における M1/M2 分類を超えたマクロファージの機能」監修, 細胞工学（秀潤社） Vol.33, No.12, 2014.
2. 大島正伸. がんの新規治療を目指した基礎研究「免疫・炎症とがん」, 日本臨床（日本臨床社）Vol.72, No.2, pp73-77, 2014.
3. 大島正伸. 特集「慢性炎症と精神疾患：慢性炎症と発がん」, 分子精神医学（先端医学社）Vol.14, No.1, pp9-14, 2014.

＜学会発表＞

（国際学会・国際シンポジウム/ワークショップ）

1. Oshima M. Chronic inflammatory responses in gastric tumor development and progression. 4th International Symposium on Carcinogenic Spiral（発がんスパイラル国際シンポジウム）（2014 年 2 月 11 日：札幌）［招待講演］
2. Oshima M. COX-2/PGE_2 pathway-associated inflammation in gastric tumorigenesis. 105th Annual Meeting of American Association of Cancer Research (AACR)（2014 年 4 月 8 日：米国・サンディエゴ）［招待講演］
3. Oshima M. Inflammatory microenvironment in cancer development. 37th Annual Conference of the Anatomy Association of Thailand（2014 年 5 月 7 日：タイ・ピサノルーク）［招待講演］
4. Oshima M. Chronic inflammatory responses in gastrointestinal cancer development. 22nd International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages (MMCB) （2014 年 6 月 3 日：神戸）［招待講演］
5. Oshima M. Prostaglandin E2 pathway in inflammation-associated cancer development. 11th Congress of the International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids (ISSFAL)（2014 年 7 月 1 日：スエーデン・ストックホルム）［招待講演］
6. Oshima M. Chronic inflammation in gastric tumor development and invasion. 7th Annual Meeting of Singapore Gastric Cancer Consortium (SGCC)（2014 年 7 月 24 日：シンガポール）［招待講演］
7. Oshima M. Chronic inflammation in gastrointestinal cancer development and progression. 4th FUSCC-CRIKU Joint Symposium on Tumor Biology（復旦大学ジョイントシンポジウム）（2014 年 10 月 14 日：中国・上海）
8. Oshima M. Chronic inflammation in gastrointestinal cancer development and malignant progression. 14th Japan-Germany Cancer Workshop（日独がんワークショップ）（2014 年 10 月 15 日：ドイツ・ベルリン）［招待講演］
9. Oshima M. Inflammatory responses in gastrointestinal tumor development and malignant progression. 4th Japan-France Cancer Workshop（日仏がんワークショップ）（2014 年 10 月 20 日：京都）［招待講演］

（国内学会・全国集会）（*発表者）

1. 大島正伸．消化管腫瘍発生・浸潤におけるマクロファージの役割．千里ライフサイエンスセミナー［マクロファージの多彩な機能と疾患］（2014 年 5 月 28 日：大阪）［招待講演］
2. 大島正伸．慢性炎症反応による消化器がん発生と悪性化の誘導．第 23 回日本がん転移学会学術総会（2014 年 7 月 10 日：金沢）

3. 大島正伸．Wnt 活性化と炎症反応による上皮腫瘍形成機構．千里ライフサイエンスセミナー［上皮極性シグナル制御とその異常による病態］(2014 年 7 月 28 日 : 大阪）［招待講演］
4. 大島正伸. 遺伝子変異と炎症性微小環境の相互作用による発がんの分子機構. 第 157 回日本獣医学会学術集会シンポジウム「山極・市川のタール癌から 100 年」（2014 年 9 月 10 日：札幌）［招待講演］
5. Oshima M. Chronic inflammation and tumorigenesis in gastrointestinal tract. 第 73 回日本癌学会学術総会（Symposia: Cancer microenvironment and heterogeneity）（2014 年 9 月 25 日：横浜）［招待講演］
6. Oshima H*, Nakayama M, Sato H, Taketo MM, Oshima M. Chronic inflammation and TGF-β signaling suppression in invasive gastrointestinal cancer development. 第 73 回日本癌学会学術総会（2014 年 9 月 25 日：横浜）［招待講演］
7. Maeda Y*, Oshima H, Saya H, Taniguchi T, Oshima M. Construction of mouse gastric tumor microenvironment through MyD88 signaling pathway. 第 73 回日本癌学会学術総会（2014 年 9 月 25 日：横浜）
8. Han TS*, Oshima H, Oshima M. Identification and functional study of tumor epithelial cell-specific microRNAs in gastrointestinal tumors. 第 73 回日本癌学会学術総会（2014 年 9 月 25 日：横浜）
9. Nakayama M*, Oshima H, Oshima M. Progression to malignant adenocarcinoma of intestinal tumors by p53 mutation in *Apc*$^{\Delta 716}$ mice. 第 73 回日本癌学会学術総会（2014 年 9 月 26 日：横浜）
10. Horiuchi K*, Echizen K, Ishikawa TO, Oshima H, Oshima M. Functional analysis of Noxo1 in inflammation-associated gastric tumorigenesis. 第 87 回日本生化学会大会（2014 年 10 月 17 日：京都）
11. Oshima M. Chronic inflammation in promotion of gastrointestinal cancer development. 第 43 回日本免疫学会学術総会（Symposia: Chronic Inflammation）（2014 年 12 月 10 日：京都）［招待講演］

＜その他＞

1. 第 23 回日本癌学会市民公開講座「がんについて、今あなたに伝えたいこと」をオーガナイザーとして開催（2014 年 5 月 24 日：金沢）
2. 新学術領域「がん支援」主催の二国間交流事業「日独がんワークショップ」を日本側コーディネーターとして開催（2014 年 11 月 14-16 日：ドイツ・ベルリン）
3. 新学術領域「がん支援」主催の二国間交流事業「日韓がんワークショップ」を日本側コーディネーターとして開催（2014 年 11 月 29-30 日：韓国・済州）

＜外部資金＞

1. 戦略的創造研究推進事業（CREST）［研究代表者：大島 正伸］
「消化器がんの発生・進展過程における慢性炎症の誘導と役割の解明」　36,800 千円
2. 新学術領域研究［研究代表者：大島 正伸, 研究分担者：大島 浩子］
「上皮細胞腫瘍化と炎症反応の相互作用による消化管発がん機序」　18,600 千円
3. 基盤研究（B）［研究代表者：大島 正伸］
「炎症性微小環境の誘導機序および腫瘍免疫制御機序の研究」　4,300 千円
4. 基盤研究（C）［研究代表者　大島 浩子］
「SOX17 の発現変化による Wnt 活性制御が消化管腫瘍悪性化に及ぼす影響」　1,300 千円
5. 基盤研究（C）［研究代表者　中山 瑞穂］
「新規大腸がんモデルマウス作製とが n 悪性か進展機構の研究」　1,200 千円

＜共同研究＞

腫瘍遺伝学研究分野主体で実施した共同研究

1. 慶応義塾大学先端医科学研究所：佐谷 秀行
「消化器がん悪性化における FOXO3a の研究」
2. 東京大学医学研究科：谷口 維紹
「炎症発がんにおける IRF-5 自然免疫シグナルの研究」
3. 東京医科歯科大学医学研究科：土屋輝一郎
慶応大学医学部：佐藤俊朗
「炎症性腸疾患における大腸がん発生機構の研究」
4. 国立がん研究センター研究所：牛島俊和
「p53 変異によるがん悪性化におけるエピジェネティクス解析」

相手先研究室主体で実施した共同研究

1. 金沢大学医薬保健研究域薬学系：中西猛夫／玉井郁巳
「消化器がん発生におけるプロスタグランジントランスポーターの役割」
2. 国立がん研究センター研究所・研究員：大木 理恵子
「がん抑制遺伝子 p53 機能喪失をともなった新規悪性胃がん病態モデルの解析」
3. 金沢医科大学病理学・教授：清川悦子
「経口バイオセンサーマウスと Gan マウスを用いた胃の可視化」
4. 慶応義塾大学医学部腫瘍センター：後藤　修
「胃がん手術の侵襲による宿主反応と発がん促進機構」

腫瘍分子生物学研究分野

<研究スタッフ>
教授　　高橋　智聡
助教　　Shamma　Awad　　助教　　林　直之
特任助教　北嶋　俊輔
博士研究員　佐々木　信成　　博士研究員　河野　晋
協力研究員　Mohammed Salah Abdallah Mohammed
大学院生（博士課程）　村中　勇人　　大学院生（博士課程）　吉田　晶代
大学院生（修士課程）　西本　裕希　　大学院生（修士課程）　李　鳳凱
大学院生（修士課程）　近藤　篤志
技能補佐員　鈴木　美砂　　技能補佐員　永谷　直子

【 研 究 概 要 】

ヒトがんにおける臨床的レリバンスが豊富ながん遺伝子・がん抑制遺伝子を変異させたマウス・細胞を中心に，シンプルで，分子生物学的・遺伝学的な解析がしやすい *in vivo*・*in vitro* がんモデル系を組み立て，発がん・転移・薬剤耐性・がん幹細胞を克服する突破口となる新規パスウェイを探索する。近年は，研究の焦点を RB 遺伝子のシグナル制御，代謝制御，微小環境制御，エピジェネテッィク制御機能に絞り込み，RB および関連がん抑制遺伝子不活性シグナチャーからがん悪性進展・未分化性制御の有効標的を探し出す試みを続けている。

<2014 年の成果，進行状況と今後の計画・展望>

<u>インビトロがん幹細胞・悪性進展モデルの拡張</u>

コモンタイプのがんにおける RB 不活性化は，イニシエーション時ではなくプログレッション時に起こる。C 細胞悪性進展モデルと MEF を用い，プログレッション時の RB 不活性化が未分化性獲得につながることを証明した（北嶋・河野リバイズ中）。スタンフォード大の Sage らも RB が Sox2, Oct4 の直接制御することを発表し、今後 RB 研究の側面からもがん幹細胞機構の理解が進むと思われる。*p53*$^{-/-}$; *Rb*$^{flox/flox}$,　*p53*$^{-/-}$; *Pten*$^{flox/flox}$ あるいは *p53*$^{-/-}$; *Rb*$^{flox/flox}$; *Pten*$^{flox/flox}$ 乳腺（西本）および前立腺（Mohammed・近藤）上皮初期培養細胞を *in vitro* 系において *de novo* にトランスフォームすることにより，幹細胞性獲得のコンテクストにおける RB および PTEN 不活性化のシグナチャーを決定, CCL5 を含むケモカイン群やコラーゲン修飾酵素 LOX 等の標的候補を発見した。

<u>代謝リワイヤリングと炎症が引き起こす悪性進展</u>

軟部腫瘍悪性進展モデルから得たシグナチャーを探索し，乳がんの未分化性・薬剤耐性を制御する鍵分子として IL6,CCL2 等を同定した。未分化ながん細胞が脂肪酸酸化(FAO)をエネルギー源としてミトコンドリア活性を上昇させ，JNK 依存的に IL6 の発現を誘導すること, 分泌された IL6 が STAT3 依存的に再びミトコンドリアの呼吸鎖遺伝子発現を調節することによって細胞内の活性酸素(ROS)を幹細胞にとって快適なレベルに保つことを発見した（北嶋・吉田・永谷投稿中）。IL6 や CCL2 を複合的に欠く乳がんモデルマウスを構築し，これまで蓄積した知見の臨床的意義を探索している（李）。

がんの未分化性・薬剤耐性の代謝的基盤

脂肪酸生合成： RB が AKT 依存的に SREBP1 の核移行を制御する機構を解明した。脂肪酸･脂質メディエーター群の LC-MS/MS 解析（小野薬品工業共同研究）, Rb-Srebp1 DKO を含む種々の遺伝子改変マウスの解析を行い，乳がんにおける SREBP1 の新しい機能を発見した（村中）。

コレステロール生合成： RB によるコレステロール生合成経路の広汎な制御が，RB 不活性化によって誘導される未分化性にどのように関わるのか解した。とくに，脂溶性スタチンが前立腺がんの去勢抵抗性を抑制することを発見した（佐々木）。

中心炭素代謝： RB が miR-25 と MEF2c を介して PGAM1,2 の発現制御を行うことによって，解糖系の制御に関わることを発見した。第一三共との共同研究によってこの臨床的意義を追求している。また，大阪大学との共同研究によって，未分化ながん細胞では，IDH1,2 に依存する還元的カルボキシル化が亢進することを証明し，この臨床的意義を探索している（河野・鈴木）。

悪性進展に関与するマイクロ **RNA**

さまざまな *in silico* 解析を用い, 悪性進展過程における RB の新規標的として miR-140 を見出した。miR-140 は, RB による IL6 や VEGFαの発現制御に関わることも判明し, 目下この臨床的意義を探索している（吉田・北嶋）。

栄養シグナルによるエピジェネテッィク制御機構

昨年度発表した RB-ATM axis と DNMT1 ユビキチン化の関係をヒントに, RB と ATM のステータスが様々な細胞周期制御・クロマチン修飾蛋白質のユビキチン化に関わる可能性を探索している (Shamma)。一方，M 期特異的にリン酸化 RB が DNMT1 に結合することを発見した。AMPK による RB リン酸化と絡め, 細胞の栄養環境(AMP/ATP) が，RB 機能制御を介して，エピジェネテッィク制御へと繋がる可能性を探索している（林）。

【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

原著論文

（研究室主体）

なし

（共同研究）

1. Mohamed A.E. Ali, Naka K, Yoshida A, Fuse K, Kasada A, Hoshii T, Tadokoro Y, Ueno M, Ohta K, Kobayashi M, Takahashi C and Hirao A. Association of prognosis of acute myeloid leukemia patients with leukemia stem cell gene signature based on nucleostemin promoter activity. Biochem Biophys Res Commun, 450: 837-843, 2014.
2. Rajabi H M, Takahashi C and Ewen M E. Retinoblastoma Protein and MyoD Function Together to Effect the Repression of Fra-1 and In Turn Cyclin D1 During Terminal Cell Cycle Arrest Associated with Myogenesis. J Biol Chem, 289: 23417-23427, 2014.

（著書・総説）

1. 高橋 智聡. 実験医学 「ニッチ細胞の遺伝子変異が発がんを誘導する？骨芽細胞の場合」Vol.32 No.9 p1379-1380, 2014 藤井宣晴編 羊土社刊
2. 佐々木 信成. 実験医学 「血管新生阻害剤の処理がひき起こす腫瘍内代謝の変化」Vol.32 No.18 p2940-2941, 2014 東原和成編 羊土社刊

＜学会発表＞

1. Takahashi C. RB functions in rewiring cancer cell metabolism. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa & Symposium on Drug Discovery in Academics 2014 年 1 月（金沢）
2. Shamma A. Rb deficiency couples DNA damage signaling with DNA methylation during C cell carcinogenesis. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa & Symposium on Drug Discovery in Academics 2014 年 1 月（金沢）
3. Kitajima S, Tanaka T, Suzuki S, Goto N and Takahashi C. Undifferentiated state induced by Rb inactivation associated with enhanced inflammatory signaling. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa & Symposium on Drug Discovery in Academics 2014 年 1 月（金沢）
4. Hayashi N, Shamma A, Kobayashi M, Takahashi C and Yamamoto K. DNA methylation and heterochromatin formation at the survivin promoter responding to DNA damage is dependent on NBS1. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa & Symposium on Drug Discovery in Academics 2014 年 1 月（金沢）
5. Kohno S, Kitajima S, Suzuki S, Tanaka T, Okahashi N, Matsuda F, Shimizu H, Sasaki N, Muranaka H and Takahashi C. Role of RB tumor suppressor gene in central carbon metabolism. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa & Symposium on Drug Discovery in Academics 2014 年 1 月（金沢）
6. Sasaki N and Takahashi C. The metabolic function of RB in controlling mevalonate (MVA) pathway and cancer cells. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa & Symposium on Drug Discovery in Academics 2014 年 1 月（金沢）
7. Yoshida A, Kitajima S, Tanaka T, Nishiuchi T, Hirose O and Takahashi C. MicroRNA targeted by Rb1 in a Trp53-null background. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa & Symposium on Drug Discovery in Academics 2014 年 1 月（金沢）
8. Mohammed M, Nishimoto Y and Takahashi C. An *in vitro* model to determine RB and

PTEN-loss signatures during prostate carcinogenesis. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa & Symposium on Drug Discovery in Academics 2014 年 1 月（金沢）

9. Muranaka H, Kitajima S, Sasaki N, Kohno S, Shamma A and Takahashi C. RB controls lipid metabolism in cancer cells. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa & Symposium on Drug Discovery in Academics 2014 年 1 月（金沢）
10. Kitajima S. Undifferentiated state induced by Rb inactivation associated with enhanced inflammatory signaling. 平成 25 年度がん研究分野の特性等をふまえた支援活動 公開シンポジウム 2014 年 1 月（東京）
11. 佐々木信成, 髙橋智聡. RB によるメバロン酸経路の制御とがん幹細胞における役割. 平成 25 年度がん研究分野の特性等をふまえた支援活動 公開シンポジウム 2014 年 1 月（東京）
12. Okahashi N, Matsuda F, Kohno S, Takahashi C and Shimizu H. Reductive glutamine metabolism in p53-null soft tissue sarcoma cells Metabolomics. 2014 年 6 月（鶴岡）
13. 北嶋俊輔. がん幹細胞仮説とがん化シグナル. 日本生化学会北陸支部第３２回大会 2014 年 5 月（富山）
14. 河野晋, 北嶋俊輔, 村中勇人, 鈴木佐和子, 田中知明, 岡橋伸幸, 松田史生, 清水浩, 髙橋智聡. Redirection of central metabolism in Rb deficient cancer cells. 第 9 回研究所ネットワーク国際シンポジウム 2014 年 6 月（大阪）
15. 河野晋, 北嶋俊輔, 佐々木信成, 村中勇人, 鈴木佐和子, 田中知明, 岡橋伸幸, 松田史生, 清水浩, 髙橋智聡. RB 不活性化によって誘導されるがん幹細胞様未分化状態における Pgam2 の役割. 第 2 回がんと代謝研究会 2014 年 7 月（東京）
16. 吉田晶代, 北嶋俊輔, 廣瀬修, 田中知明, 髙橋智聡. マウス由来腫瘍細胞の Rb1 不活性化シグニチャーとヒト乳癌の臨床像との関連. 第 12 回日本臨床腫瘍学会学術集会 2014 年 7 月（福岡）
17. 佐々木信成, 村中勇人, 北嶋俊輔, 河野晋, Shamma A, 髙橋智聡. RB によるメバロン酸経路を介したがん悪性進展制御機構. 平成 26 年度文部科学省 新学術領域研究 『がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動』がん若手研究者ワークショップ 2014 年 9 月（蓼科）
18. 村中勇人, 北嶋俊輔, 佐々木信成, 河野晋, Shamma A, 髙橋智聡. がん抑制遺伝子 RB による SREBP-1 の制御とがんにおける役割の解析. 平成 26 年度文部科学省 新学術領域研究 『がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動』がん若手研究者ワークショップ 2014 年 9 月（蓼科）
19. 河野晋, 北嶋俊輔, 鈴木佐和子, 田中知明, 岡橋伸幸, 松田史生, 清水浩, 髙橋智聡. RB 不活性化によって誘導されるがん幹細胞様未分化状態における Pgam2 の役割. 平成 26 年度文部科学省 新学術領域研究 『がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動』がん若手研究者ワークショップ 2014 年 9 月（蓼科）
20. 北嶋俊輔, 吉田晶代, 河野晋, 鈴木佐和子, 田中知明, 後藤典子, 髙橋智聡. Rb によるサイトカインを介したがん悪性化制御機構の解明. 第 73 回日本癌学会学術総会 2014 年 9 月（横浜）
21. 河野晋, 北嶋俊輔, 吉田晶代, 鈴木佐和子, 田中知明, 佐々木信成, 村中勇人, 髙橋智聡. RB の中心代謝制御機能. 第 73 回日本癌学会学術総会 2014 年 9 月（横浜）
22. 髙橋智聡. がん代謝と細胞老化制御における RB 機能. 第 73 回日本癌学会学術総会 2014 年 9 月（横浜）
23. Sasaki N, Muranaka H, Kitajima S, Kohno S, Shamma A and Takahashi C. The

metabolic function of RB in controlling mevalonate (MVA) pathway and tumor progression. 第 73 回日本癌学会学術総会 2014 年 9 月（横浜）

24. 髙橋智聡. RB がん抑制遺伝子の代謝制御機構. 第 37 回日本分子生物学会年会 2014 年 11 月（横浜）
25. 佐々木信成, 村中勇人, 北嶋俊輔, 河野晋, Shamma A, 髙橋智聡. RB によるメバロン酸経路を介したがん悪性進展制御機構. 第 37 回日本分子生物学会年会 2014 年 11 月（横浜）
26. 村中勇人, 北嶋俊輔, 佐々木信成, 河野晋, 吉田晶代, 丹下正一朗, 鈴木健之, 林昭夫, 多田秀昭, Shamma A, 髙橋智聡. がん抑制遺伝子 RB による SREBP-1 の制御とがんにおける役割の解析.第 37 回日本分子生物学会年会 2014 年 11 月（横浜）
27. 西本裕希, Mohammed M, 吉田晶代, 西内巧, 北嶋俊輔, 髙橋智聡. In vitro 乳腺発がんモデルにおけるがん抑制遺伝子 Rb, p53 の機能とその作用機構の解析. 第 37 回日本分子生物学会年会 2014 年 11 月（横浜）
28. 吉田晶代, 北嶋俊輔, 林直之, 広瀬修, 髙橋智聡.マウスにおいて Rb1 は miR-140 を介して腫瘍抑制的に作用する. 第 37 回日本分子生物学会年会 2014 年 11 月（横浜）

<外部資金>

高橋智聡

1. 共同研究（第一三共 / TaNeDS）H26～H27 年度「乳がん幹細胞の代謝工学的解析と機構探索に基づく創薬基盤の創出」 1,620 万円
2. 科学研究費補助金 基盤研究（B）H26～H28 年度「RB がん抑制遺伝子の代謝制御機能」 550 万円
3. 科学研究費補助金 挑戦的萌芽研究 H26～H27「炎症性サーキット―がん悪性進展を促す炎症性微小環境のトリガー」 150 万円

北嶋俊輔

1. 科学研究費補助金 若手研究（B）H25～H26年度「Rbによるサイトカインを介したがん悪性化制御機構の解明」 150万円
2. 北陸銀行若手研究者助成金 H26年度「Rbによる細胞微小環境制御を介したがん悪性化制御機構の解明」 80万円

佐々木信成

1. 科学研究費補助金 若手研究（B）H25～H26年度「Rbの脂質代謝を介したがん悪性進展制御メカニズム」 150万円

<共同研究>

1. 小野薬品工業株式会社筑波研究所 多田秀明 博士，林昭夫 博士「Rb がん抑制遺伝子による脂質代謝制御機構とその臨床的意義の解明」
2. 第一三共株式会社 堤信二 博士，大阪大学 清水浩 博士，金沢大学 後藤典子 博士「乳がんがん幹細胞の代謝工学的解析と機構探索に基づく創薬基盤の創出」
3. 大阪大学大学院 清水浩 博士「がん幹細胞特異的代謝フラックスの解明」
4. 奈良先端科学技術大学院大学 末次志郎 博士「Rb1 の関与する発ガンにおける p107 と IRSp53 の役割」
5. 東京医科歯科大学 味岡逸樹 博士「Rb ファミリー遺伝子を欠損した神経細胞に

おけるがん特異的代謝異常経路の解析」

6. 京都大学 三木貴雄 博士「がん抑制遺伝子と概日リズムの関連に関する研究」
7. 千葉大学 田中知明 博士「p53-Rb ネットワークによるがん幹細胞代謝制御機構の基盤的研究」
8. 筑波大学 島野仁 博士「がん幹細胞の脂質代謝における Rb がん抑制遺伝子と SREBP-1 遺伝子」
9. 京都大学 河田照雄 博士「細胞外フラックス測定機器を用いたがん幹細胞特異的代謝様式の解明」
10. 東京大学 岡部弘基 博士「がん幹細胞モデルにおける細胞内温度分布の可視化」
11. 金沢医科大学 岡崎俊朗 博士「Rb 遺伝子欠損マウスでの腺癌発症機構におけるスフィンゴ脂質代謝調節を介した細胞周期制御の解明」
12. Pontificia Universidad Católica de Chile　Jaime Gutiérre 博士「Function of RECK in muscle dystrophy」
13. スタンフォード大学 Julien Sage 博士「Shh signal in neuroendocrine tumors」
14. ジョンスホプキンス大学 Shan Sockanathan 博士「GDE2 と RECK 遺伝子の相互関係」
15. オスロ大学 Steven Wilson 博士「酸化ステロールの定量的解析」

がん幹細胞探索プロジェクト

＜研究スタッフ＞

准教授　　仲　一仁

技能補佐員　定免　由枝　　技術補佐員　石原　薫理

【 研 究 概 要 】

がん幹細胞探索プロジェクトでは，がんの再発を克服する新しい治療法の開発を指向した研究を進めている．慢性骨髄性白血病（CML）患者の予後は，原因遺伝子産物 BCR-ABL1 を標的とするチロシンキナーゼ阻害薬（TKI）の開発によって劇的に改善した．しかし，CML 細胞を生み出す源となる”CML 幹細胞”が存在し，治療後も根絶を免れた CML 幹細胞が再び CML 細胞を供給して再発を引き起こす.

本プロジェクトでは，この CML 幹細胞の治療法を開発するため，1) CML 幹細胞に特異的な生存・維持機構の解明，並びに 2) 当該メカニズムをターゲットとする CML 幹細胞治療薬の開発を目指した研究を進めている. さらに, 3）このような CML 幹細胞の成果を基盤として，上皮性がん幹細胞の維持機構を解明することを目指した研究を行っている.

＜2014 年の研究成果，進捗状況と今後の計画＞

1) TGF-β-FOXO シグナルによる CML 幹細胞の維持機構

【目的】TGF-β-FOXO シグナルによる CML 幹細胞の抗がん剤抵抗性，及び未分化性の分子メカニズムを明らかにする.【本年成果】昨年度までに，TGF-βシグナル伝達分子 Smad が CML 幹細胞において FOXO と相互作用することを見出した．本年度，CML 幹細胞における Smad のリン酸化サイトの検討を行った．その結果，CML 幹細胞においてリン酸化される複数のリン酸化サイトを見出した．さらに，生体内での CML 幹細胞の維持における当該リン酸化の意義を解析した．その結果，これらのリン酸化サイトをアラニン置換した非リン酸化型 Smad 変異体を導入すると，*in vivo* での CML 幹細胞の自己複製能が低下することを見出した.【今後の方向性】CML 幹細胞の抗がん剤抵抗性における Smad のリン酸化制御の意義を解析する.

2）薬剤耐性 CML 幹細胞に対する治療薬の開発

【目的】薬剤耐性の CML 幹細胞をターゲットとする治療薬を開発する.【本年成果】昨年度，経口投与可能な TGF-βシグナル阻害薬が CML 幹細胞に対する抑制効果を有することを見出した．本年度は，CML 患者の TKI 耐性の再発原因として知られる T315I 変異型 BCR-ABL1 を用いて，薬剤耐性 CML マウスモデルを構築した．このマ

ウスモデルから薬剤耐性 CML 幹細胞を純化して，*in vitro* での TGF-β阻害剤による治療効果を検討した．想定どおり，この薬剤耐性の CML 幹細胞はイマチニブに対する耐性を示した．しかし，上記の TGF-β阻害剤で処理した場合，薬剤耐性の CML 幹細胞を抑制できることが明らかとなった（投稿中） (金沢大学，特 2014-0034).【今後の方向性】 薬剤耐性 CML 幹細胞を移植したマウスモデルに対する経口投与可能な TGF-β阻害剤の治療効果を解析する．

3) 上皮性がん幹細胞治療への応用

【目的】CML 幹細胞の研究により明らかとなった TGF-β-FOXO シグナルによる制御メカニズムを基盤として上皮性がん幹細胞の維持機構の解明へと発展させる．【本年成果】昨年度までに，上皮性腫瘍のマウスモデルとして乳がんマウスモデル MMTV-PyVT を用いて乳がん幹細胞の解析を行った結果，この細胞集団では細胞増殖能が低下していることを見出した．本年度は，マウス正常乳腺幹細胞と乳がん幹細胞における代謝産物の比較解析を行った．その結果，乳がん幹細胞に特異的に増加している代謝産物を見出した．【今後の方向性】乳がん幹細胞特異的代謝産物の産生に関わる分子メカニズムやこのメカニズムを抑制する治療法の開発を試みる．

【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

原著論文

(研究室主体)

なし

(共同研究)

1. Lee B., Yoon K.Y., Lee S.H., Kang J.M., Kim J.I., Shim S.H., Kim H.-M., Song S.H., Naka K., Kim A.K., Yang H.-K., Kim S.J. (2014) Homozygous Deletions at 3p22, 5p14, 6q15, and 9p21 Result in Aberrant Expression of Tumor Suppressor Genes in Gastric Cancer. **Genes, Chromosomes and Cancer**. in press
2. Ooshima A., Bae E., Sato M., Kwak M.-K., Naka K., Kadota M., Tang B., Flanders K.C., Kim T.-A., Gim J., Leem S.-H., Park T., Liu F., Wakefield L. M., Kim S.-J., and Kim R.-J. (2014) Effect of Smad3 linker and C-tail phosphorylation on tumorigenesis and metastasis in breast cancer cell lines. **Cancer Res.** in press.
3. Ali M.A., Naka K., Yoshida A., Fuse K., Kasada A., Hoshii T., Tadokoro Y., UenoM., Ohta K., Kobayashi M., Takahashi C., and Hirao A. (2014) Association of a murine leukaemia stem cell gene signature based on nucleostemin promoter activity with

prognosis of acute myeloid leukaemia in patients, **Biochem. Biophys. Res. Comm**. 450(1): 837-43.

4. Imai Y., Takahashi A., Hanyuu A., Hori S., Sato S., Naka K., Hirao A., Ohtani N., and Hara E. (2014) Crosstalk between the RB-pathway and AKT signaling forms a Quiescence-Senescence switch, **Cell Report**. 7(1):194-207.
5. Hoshii T., Kasada A., Hatakeyama T., Ohtani M., Tadokoro Y., Naka K., Ikenoue T., Ikawa T., Kawamoto H., Araki K., Yamamura K., Matsuda S., and Hirao A. (2014) Loss of mTORC1 induces developmental blockage in early T-lymphopoiesis and eradicates T-cell acute lymphoblastic leukemia cells. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 111(10):3805-10.
6. Ju X., Ishikawa T., Naka K., Ito K., Ito Y., Oshima M. (2014) Context-dependent activation of Wnt signaling by tumor suppressor RUNX3 in gastric cancer cells. **Cancer Sci**. 105(4):418-24.

総説

1．仲　一仁, CML 幹細胞を標的とした新しい治療戦略, がん分子標的治療, 12(3): 279-286, 2014.

＜学会発表＞

1. Kazuhito Naka, A Novel Therapeutic Approach for Targeting CML Stem Cells, International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa, Kanazawa Japan, January 25-26th 2014.
2. Kazuhito Naka, Dong-Hyun Kim, Shaoguang Li, Yhun Yhong Sheen, Akira Oshima, Seong-Jin Kim, and Dae-Kee Kim, The Novel Oral TGFβ Signaling Inhibitor Targets Chronic Myeloid Leukemia Stem Cells, □Sixteen International Conference on Chronic Myeloid Leukemia Biology and Therapy, September 3rdth-8th 2014, Philadelphia, PA, USA
3. 仲　一仁, CML幹細胞をターゲットとする複合治療戦略. 第10回Tokyo Leukemia Conference, 平成26年4月11日, 東京
4. 仲　一仁, 第73回日本癌学会学術総会 (International Session), Novel Therapeutic Strategy for Targeting CML stem cells, 平成26年9月25-27日, 横浜市

＜知的財産＞

1. 【発明者】仲　一仁, Seong-Jin Kim
   【出願者】金沢大学, CHA 医科大学
   【名称】慢性骨髄性白血病治療剤 (金沢大学，特 2014-0013)
2. 【発明者】仲　一仁，定免由枝，石原薫理
   【出願者】MedPacto
   【名称】薬剤耐性白血病の治療法 (金沢大学，特 2014-0034)

＜外部資金＞

1. 仲　一仁，科学研究費補助金，基盤研究(B)，研究代表者　(課題番号 26290038)
   「CML 幹細胞の未分化性を維持する幹細胞特異的 Smad3 リン酸化機構の解明」
   直接経費 4,800 千円
2. 仲　一仁，科学研究費補助金，挑戦的萌芽研究，研究代表者 (課題番号 26670135)
   「上皮性がん幹細胞と白血病幹細胞の共通制御メカニズムへのアプローチ」
   直接経費 1,900 千円
3. 公益財団法人　上原記念生命科学財団研究助成金，研究代表者
   「CML 幹細胞における代謝制御機構の解明」直接経費 5,000 千円
4. 仲　一仁，カルナバイオサイエンス，研究代表者，直接経費 952 千円

＜共同研究＞

学内

1. CML 幹細胞の維持機構：遺伝子染色体構築　平尾敦
2. 乳がん幹細胞の維持機構:　腫瘍遺伝学　大島正伸，大島浩子
3. CML 幹細胞の維持機構：　医学系研究科　小児科　西村良成

学外

1. CML 幹細胞の維持機構: 秋田大学　田川博之，高橋直人，澤田賢一
2. CML 幹細胞の維持機構: 獨協医科大学　三谷絹子，佐々木光
3. CML 幹細胞の維持機構: 東京都駒込病院 大橋一輝，土岐典子
4. 乳がん幹細胞の維持機構: 慶応義塾大学　甲斐千晴，　佐谷秀行
5. TGF-βシグナルの役割: CHA Cancer Institute, CHA University (大韓民国)
   Junil Kim, Eun-Jin Bae，大島章, Seong-Jin Kim
6. TGF-βシグナルの役割: Ewha Womans University (大韓民国)
   Chen Hua Jin, Yhun Yhong Sheen, Dae-Kee Kim
7. TGF-βシグナルの役割: Inje University (大韓民国)
   Yoon-Kang Gu, Eun-Sook Jeong, Dong-Hyun Kim

がん微小環境研究プログラム

細胞機能統御研究分野

＜研究スタッフ＞

教　授　　佐藤　博

准教授　　滝野　隆久

技能補佐員　山岸　小百合

大学院生（博士課程）　李　子晨

大学院生（博士課程）　田中　望

大学院生（博士課程）　佐藤　友美

大学院生（博士課程）　吉本　泰祐(口腔外科)

研究協力員　Moustafa Sakr

【 研 究 概 要 】

膜型マトリックスメタロプロテアーゼ-1（MT1-MMP）は，当研究室でクローニングされた最初の膜型 MMP であり，がん細胞・組織に特異的に発現し，浸潤・転移に重要な役割を果たしている。MT1-MMP は，MMP-2 の活性化酵素として同定されたが，後に自らがコラーゲンなどの細胞外マトリックス(extracellular matrix, ECM) 成分を分解することが明らかになった。特に MT1-MMP は細胞のコラーゲンゲル内での浸潤性増殖をサポートする唯一のコラゲナーゼであることからからも特別視されている。また，MT1-MMP は ECM 成分の分解によるがん微小環境の構築・再構築だけでなく，細胞内・外の多様な分子，とりわけ細胞膜タンパクのシェディングなどにより浸潤・転移・運動・増殖などのがん悪性化形質に関与する。一方，我々は，細胞レベルで MT1-MMP は細胞接着斑のターンオーバーをコントロールすることにより細胞機能の制御に密接に関与することを報告してきた。近年，MT1-MMP がセリンプロテアーゼの阻害因子である HGF Activator Inhibitor-1 (HAI-1)を切断・不活化することを見出した。すなわち，MT1-MMP はがん組織において著しく亢進しているプロテアーゼカスケイドをトリガーしていることを明らかにし，プロテアーゼストームという名称を提案した。MT1-MMP に対する DNA アプタマーの開発等により MT1-MMP を標的とした治療法の開発を目指している。

＜2014 年の研究成果，進捗状況と今後の計画＞

MT1-MMP によるファイブロネクチン重合と N-カドヘリン接着の制御：

我々はこれまでに MT1-MMP が ECM 分解カスケードの起点となり，ファイブロネクチンの重合・集積によるマトリックス形成を抑制することを報告してきた。HT1080

細胞において MT1-MMP の発現を siRNA でノックダウンするとファイブロネクチンの蓄積・重合が促進されるが，それに伴い N-カドヘリン接着が著しく亢進する。N-カドヘリン接着の亢進はファイブロネクチンの siRNA によって抑制されることから，重合したファイブロネクチンマトリックスが N-カドヘリンを安定化させることが示唆された。また，細胞接着の極めて初期段階を詳細に検討した結果，細胞接着斑の形成，ファイブロネクチン重合，N-カドヘリン安定化のステップに MT1-MMP が関与することを明らかとなった。がん悪性化における MT1-MMP による N-カドヘリン制御の意義を検討中である。

ビンキュリンは MEK/ERK 経路を介して MT1-MMP の転写を負に制御する：

ビンキュリンは細胞接着斑の構成タンパクの一つで，PTEN と結合し安定化することにより PTEN のがん抑制活性を亢進し，結果としてがん抑制因子として働くと考えられている。一方で，ビンキュリンは細胞接着斑の機能を制御する重要な分子であることから，PTEN 安定化以外の機能を検討するために PTEN を欠損している扁平上皮がん由来 HSC-4 細胞を用いてその機能を検討した。HSC-4 細胞のビンキュリン発現をノックダウンしたところ細胞ー細胞，細胞—ECM 間の接着が弱まり，MT1-MMP の転写レベルにおける発現亢進が認められた。ビンキュリンノックダウンによる MT1-MMP の発現亢進は ERK 阻害剤でキャンセルされたことから，ビンキュリンは MT1-MMP 転写などのがん悪性化形質を MEK/ERK 経路を介して負に制御していることが示唆された。今後，細胞接着斑構成分子と MT1-MMP との関連を検討する。

膜型セリンプロテアーゼ阻害因子 HAI-1 による MET の誘導：

これまでに MT1-MMP の新規基質として膜型セリンプロテアーゼ阻害因子 HGF Activator Inhibitor-1 (HAI-1) を同定した。上皮系がん細胞では MT1-MMP が HAI-1 を切断することにより，膜型セリンプロテアーゼであるマトリプターゼが活性化され，MT1-MMP とマトリプターゼの協調作用が浸潤性増殖には必須であることを報告した。上皮系がん細胞ではマトリプターゼは EMT に必須である。一方，マトリプターゼを発現しない間葉系細胞 HT1080 細胞に MT1-MMP により切断されない変異型 HAI-1 を発現させると細胞形態，細胞間接着などが上皮系細胞の様相を呈する。従って，HT1080 細胞の発現する未同定のセリンプロテアーゼが間葉系形態の維持に必要であることが示唆された。HT1080 細胞における HAI-1 結合セリンプロテアーゼの同定，および同細胞の悪性化形質との関連を検討中である。

【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

原著論文

（研究室主体）

1. Takino T, Yoshimoto T, Nakada M, Li Z, Domoto T, Kawashiri S, Sato H. Membrane-type 1 matrix metalloproteinase regulates fibronectin assembly and N-cadherin adhesion. Biochem Biophys Res Commun. 450, 1016-1020, 2014.

2. Yoshimoto T, Takino T, Li Z, Domoto T, Sato H
Vinculin negatively regulates transcription of MT1-MMP through MEK/ERK pathway. Biochem Biophys Res Commun. 455, 251-255, 2014.

（共同研究）

1. Sabit H, Nakada M, Furuta T, Watanabe T, Hayashi Y, Sato H, Kato Y, Hamada J. Characterizing invading glioma cells based on IDH1-R132H and Ki-67 immunofluorescence. Brain Tumor Pathol. 31, 242-246, 2014.

2. Chikano Y, Domoto T, Furuta T, Sabit H, Kitano-Tamura A, Ilya V. Pyko1,4, Takino T, Sai Y, Hayashi Y, Sato H, Miyamoto K, Nakada M, MinamotoT. Glycogen synthase kinase 3β sustains invasion of glioblastoma via the focal adhesion kinase, Rac1 and c-Jun N-terminal kinase-mediated pathway. Molecular Cancer Therapeutics. (in press).

3. Oshima H, Nakayama M, Han T, Ju X, Maeda Y, Robine S, Sato H, Taketo MM, Oshim M. TGFβ suppression in regenerating epithelial cells in an inflammatory microenvironment leads to development of invasive gastrointestinal cancer. Cancer Res. (in press)

＜学会発表＞

1. 滝野隆久，吉本泰祐，佐藤博
「MT1-MMP による細胞接着斑を介したフィブロネクチンマトリックス形成制御」
第７３回日本癌学会学術総会（平成２６年９月２７日　横浜）

2. 芝一休，遠藤良夫，佐藤博，宇都義浩
「TX-2137 をリード化合物とした Akt 選択的抗転移低酸素サイトトキシン TX-２２８２の開発」

第７３回日本癌学会学術総会（平成２６年９月２７日　横浜）

3. 大島浩子，中山瑞穂，佐藤博，武藤誠，大島正伸
「慢性炎症と TGF b シグナル抑制による消化管腫瘍の浸潤誘導」
第７３回日本癌学会学術総会（平成２６年９月２５日　横浜）

4. 吉本泰祐，滝野隆久，川尻修一，佐藤博
「MT1-MMP によるフィブロネクチン重合と N-カドヘリン接着の制御」
第２３回日本がん転移学会学術総会（平成２６年７月１０日　金沢）

＜外部資金＞

1. 基盤研究（C）（代表）佐藤　博
「膜型マトリックスメタロプロテアーゼによるセリンプロテアーゼ活性化機構の解析」　1,300 千円

＜共同研究＞

1. 坂本　毅治（東京大学医科学研究所）
がん組織における MT1-MMP の新規機能の解析
2. 望月　早月（慶應義塾大学医学部病理）
「ヒト型 ADAM28 抗体開発と ADAM28 活性調節機構の解析」
3. 東 昌市（横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科）
「標的 MMPs に対する高特異性阻害剤の分子設計とがん悪性進展抑制の開発」
4. 宇都 義浩（徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部）・遠藤 義男
「ヒトがん細胞を用いた Akt/MMP-9 阻害性抗転移剤の開発」

分子生体応答研究分野

＜研究スタッフ＞
教授：向田直史
助教：馬場智久
助教：佐々木宗一郎（2014 年 8 月まで博士研究員，9 月から助教）
研究補助員：南邦子　　東海林芙沙恵（2014 年 12 月から）
大学院生：　宋瑶（医薬保健学総合研究科・博士課程）
大学院生：　崔平方（医薬保健学総合研究科・博士課程）
大学院生：　Heny Ekowati（医薬保健学総合研究科・博士課程，2014 年 10 月入学）
大学院生：　内藤達志（福井大・医・大学院生）
大学院生：　田辺和（自然科学研究科・修士課程）

【 研 究 概 要 】

① 炎症性サイトカイン・ケモカインの発がん・がんの進展過程での役割の解析に基づく，治療法の開発。
② 前がん～がん病変で発現が亢進しているセリン／スレオニン・キナーゼ Pim-3 の発がん・がんの進展過程での役割の解析に基づく，治療法の開発。

＜2014 年の成果＞
１）放射線非照射のヌードマウスの骨髄内に Bcr-Abl 遺伝子導入した骨髄前駆細胞を投与して生じる慢性骨髄性白血病モデルでは，白血病細胞などによって産生される CCL3 が白血病発症に重要な役割を果たしていることを明らかにしている。このモデルにおいても，Bcr-Abl 遺伝子非発現の非白血病細胞も CCL3 を発現していた。正常骨髄においても，特定の細胞集団が CCL3 を恒常的に発現していることを認めた。CCL3 ならびに CCL3 に対するレセプターである CCR1・CCR5 が欠損していると，骨髄移植後の骨髄幹細胞の生着が亢進したことから，CCL3 が骨髄幹細胞に対して抑制的に作用していることが示唆された。
２）昨年度，マウス乳がん細胞株 4T1 細胞株から乳腺脂肪組織に接種することで，骨に自然転移する 4T1.3 クローンを樹立した。4T1.3 クローンは，親株と比較して，乳腺脂肪組織での増殖速度ならびに短期遊走能アッセイでは有意な差を示さない一方で，幹細胞マーカーである CD44 発現が亢進していて，骨髄内に直接投与した時の増殖能も高く，ケモカイン CCL4・CCL3 の発現が亢進していた。4T1.3 クローンの CCL4 発現を shRNA で抑制すると，CD44 発現にはほとんど影響がないのもかかわらず，骨転移が減弱したことから，CCL4 がこの骨転移過程に必須の役割を果たしていることが示唆された。

３）マウス大腸がん細胞株 colon 26 の盲腸への接種モデルに対して，ケモカイン・レセプターCCR5 に対して拮抗作用を示す Maraviroc を投与すると，腫瘍内線維芽細胞数の減少とともに，腫瘍容積の減弱が起きた。このことから，大腸がんの進展過程において CCR5 発現線維芽細胞が重要な役割を果たしていることが示唆された。
４）gemcitabine によって，ヒト膵臓がん細胞株での細胞老化とケモカイン CXCL8／IL-8 産生が，試験管内のみならず担がん個体でも誘導されることを見出した。産生される CXCL8／IL-8 が細胞老化には関与しない一方で，担がん個体では血管新生を誘導することで，gemcitabine の抗がん作用に拮抗することが示唆された。
５）マウス肝臓がん細胞株 BNL を接種されたマウスに，シクロホスファミド（CTX）投与すると，腫瘍が消失するとともに，BNL を再接種しても拒絶されることから，特異的免疫反応が成立したと考えられた。CTX による BNL によるがん組織消失は，ヌードマウスでは認められず，CD4 抗体投与によっても認められないことから，CD4 陽性 T 細胞に依存して起きると考えられた。CTX 投与直後の腫瘍部位の解析結果から，細胞障害顆粒 CD107a 発現 CD4 陽性 T 細胞が浸潤していたことから，CTX 投与によって，抗原に依存しない，細胞障害性 CD4 陽性 T 細胞の腫瘍内への浸潤が誘導されたと考えられた。

＜今後の研究計画＞
１）骨髄内で恒常的に CCL3 を産生している細胞を同定するとともに，恒常的 CCL3 産生の正常造血機構での役割を解明する。
２）乳がん骨転移過程における CCL4・CCL3 系の役割を，主にマウスモデルで解明し，CCL4 または CCL3 の阻害剤の骨転移治療薬としての可能性を検証する。
３）大腸がん組織形成過程での，線維芽細胞集積過程への CCL3/CCR5 系の関与を県とするとともに，大腸がん治療法への CCR5 阻害剤の応用の可能性を検証する。
４）CTX 投与によって誘導される，細胞障害性 CD4 陽性 T 細胞の腫瘍内浸潤過程について，細胞・分子レベルで解析を加える。
５）がんの進展過程における腸内細菌叢とケモカイン・システムとのクロストークの解明を目指した研究を始める。

【 研 究 業 績 】（所属研究者は下線で示した）

＜原著論文＞
分野主体の研究論文

1. Hamano R, Baba T, Sasaki S, Tomaru U, Ishizu A, Kawano M, Yamagishi M, and Mukaida N. Ag and IL-2 immune complexes efficiently expand Ag-specific Treg cells that migrate in response to chemokines and reduce localized immune responses. *Eur J Immunol* 2014; 44 (4): 1005–1015. doi: 10.1002/eji.201343434.

2. Sasaki S, Baba T, Shinagwa K, Matsushima K, and Mukaida N. Crucial involvement of the CCL3-CCR5 axis-mediated fibroblast accumulation in colitis-associated carcinogenesis in mice. *Int J Cancer* 2014; 135 (6): 1297-1306. doi: 10.1002/ijc.28779.

他の研究室との共同研究

3. Oshima H, Ishikawa T, Yoshida GJ, Naoi K, Maeda Y, Naka K, Ju X, Yamada Y, Minamoto T, Mukaida N, Saya H, and Oshima M. TNF-α/TNFR1 signaling promotes gastric tumorigenesis through induction of Noxo1and Gna14 in tumor cells. *Oncogene* 2014; 33 (29): 3820-3829. doi: 10.1038/onc.2013.356.
4. Khan K, Schneider-Poetsch, Ishfaq M, Ito A, Yoshimoto R, Mukaida N, and Yoshida M. Splicing inhibition induces gene expression through canonical NF-κB pathway and extracellular signal-related kinase activation. *FEBS Letter* 2014 March; 588 (6): 1053-1057. doi: 10.1016/j.febslet.2014.02.018.
5. Kitahara M, Mizukoshi E, Nakamoto Y, Mukaida N, Matsushima K, and Kaneko S. Efficient generation of highly immunocompetent dendritic cells from peripheral blood of patients with hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *Int Immunopharmacol* 2014; 21(2): 346-353. doi: 10.1016/j.intimp.2014.05.023
6. Tabata S, Ikeda R, Yamamoto M, Shimaoka S, Mukaida N, Takeda Y, Yamda K, Soga T, Furukawa T, and Akiyama S. Thymidine phosphorylase activates NFκB and stimulates the expression of angiogenic and metastatic factors in human cancer cells. *Oncotarget* 2014; 5 (21): 10473-10485.
7. Murayama T, Kikuchi M, Miita T, Yamada R, Matsubara K, Sadanari H, and Mukaida N. Human cytomegalovirus replication supported by virus-induced activation of CCL2-CCR2 interactions. *Biochem Biophys Res Commun* (in press).
8. Mazzocca A, Dituri F, De Santis F, Filannino A, Lopane C, Betz RC, Li Y-Y, Mukaida N, Winter P, Tortorella C, Giannelli G, and Sabbà C. Lysophosphatidic acid receptor LPAR6 supports the tumorigenicity of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* (in press).

総説論文ならびに著書(英文論文に限る)

1. Mukaida N. Intestinal microbiota: unexpected alliance with tumor therapy. *Immunotherapy* 2014; 6(3): 231-233. doi:10.2217/IMT.13.170.
2. Mukaida N, Sasaki S, and Baba T. Chemokines in cancer development and progression, and their potentials as targeting molecules for cancer treatment. *Mediators Inflamm* 2014; Article ID 170381, 15 pages, 2014. doi:10.1155/2014/170381.
3. Li Y-Y and Mukaida N. The pathophysiological roles of Pim-3 kinase in pancreas tumor development and progression. *World J Gastroenterol* 2014; 20 (28): 9392-9404. doi: 10.3748/wjg.v20.i28.9392.

＜学会発表＞（筆頭発表者が分野所属の者に限る）

1. Mukaida N and Baba T. Crucial roles of CCL3 in leukemogenesis and hematopoiesis. *Gordon Research Conference on Chemotactic Cytokines*. Jul. 27 to Aug. 1, 2014, West Dover, VT, USA（招待講演）
2. Baba T. Pathophysiological role of a stem cell inhibitory chemokine, CCL3, in chronic myeloid leukemia. International Symposium on Tumor Microenvironment. Nov. 21, 2014, Kanazawa, Japan.
3. 向田直史。ケモカインと Cancer-associated Fibroblast (CAF)。第 79 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会（招待講演）。2014 年 6 月 19 日～20 日。札幌。
4. 向田直史。　急性細菌感染における好中球－単球間のクロストークにおけるケモカインの役割。 第 51 回日本細菌学会中部支部総会・特別講演（招待講演）。 2014 年 10 月 17 日。金沢。
5. 向田直史，小松則夫。　慢性骨髄性白血病のチロシンキナーゼ阻害剤（TKI）療法におけるケモカイン CCL3 の関与。 第 18 回日本がん分子標的治療学会。2014 年 6 月 25 日～27 日。仙台。
6. 佐々木宗一郎，馬場智久，向田直史。　マウス乳がん細胞の同所移植による骨転移過程におけるケモカインの役割の解析。 第 23 回日本がん転移学会学術集会。2014 年 7 月 10 日～11 日。金沢。
7. 内藤達志，馬場智久，中本安成，向田直史。　細胞障害性 $CD4^+$細胞はシクロフホスファミドによる細胞障害に抗原非依存的に関与する。　第 73 回日本癌学会学術集会。　2014 年 9 月 25 日～27 日。横浜。
8. 田辺和，佐々木宗一郎，馬場智久，向田直史。　大腸がんにおける線維化の蓄積および進展に関する CCL3/CCR5 の役割。 第 73 回日本癌学会学術集会。 2014 年 9 月 25 日～27 日。横浜。
9. Yao Song，Tomohisa Baba，Naodfumi Mukaida。　Gemcitabine-induced CXCL8 expression and cell senescence in human pancreatic cancer cell lines. 第 73 回日本癌学会学術集会。　2014 年 9 月 25 日～27 日。横浜。
10. 佐々木宗一郎，馬場智久，向田直史。 マウス乳がん細胞の骨転移過程におけるケモカインの役割の解析。　第 73 回日本癌学会学術集会。 2014 年 9 月 25 日～27 日。横浜。

11. 向田直史，佐々木宗一郎，馬場智久。　マウス乳がん骨転移株での CC ケモカインの過剰発現とその病態生理学的意義。　第 17 回癌と骨病変研究会。　2014 年 11 月 14 日。　東京。
12. Sasaki S, Baba T, and Mukaida N. Potential roles of CC chemokines, in survival of murine breast cancer cell line in bone marrow.　第43回日本免疫学会・学術集会。2014 年 12 月 10 日～12 日。京都。

知的財産
発明者：長野哲雄，中野浩史，長谷川司，斎藤奈英，小島宏建，岡部隆義，向田直史。　発明の名称：キナーゼ阻害剤。　特願2014-025781。2014年2月13日出願。

＜外部資金＞
向田直史
1．戦略的創造研究推進事業 CREST「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」研究領域（分担）
慢性炎症に伴う臓器線維化の分子・細胞基盤
（直接経費 2,650 千円，間接経費 795 千円）
2．二国間交流事業・オープンパートナーシップ共同研究（代表）
腸内細菌叢とケモカインとのクロストークによるがん病態制御機構の解明
（直接経費 2,500 千円）
3．次世代がん研究シーズ戦略的育成プログラム（代表）
骨髄微小環境内での，ケモカインを介する細胞競合を標的とした治療法の開発
（直接経費 16,670 千円，間接経費 1,667 千円）

馬場智久
１．科学研究費・基盤研究（C）（代表）
慢性骨髄性白血病発症における正常骨髄細胞との相互作用機構の解明
（直接経費 1,300 千円，間接経費 390 千円）
２．北陸銀行若手研究者助成
慢性骨髄性白血病における炎症性ケモカインの分子病態生理学的役割の解明
（900 千円）
３．北國がん研究振興財団・研究助成
慢性骨髄性白血病の増悪に関与する，炎症性ケモカインを介した骨髄内微小環境の構築機序の解明　（1,000 千円）
４．かなえ医薬振興財団・研究助成
炎症性ケモカインを分子標的とした慢性骨髄性白血病の新規治療法の確立
（1,000 千円）

＜共同研究＞

学内との共同研究

１．医薬保健研究域・医学系　飯田宗穂助教
　　発がん過程と腸内細菌叢の相互作用の解析

２．医薬保健研究域・薬学系　谷口剛助教
　　Pim-3 キナーゼ阻害活性を指標とした，新規の抗がん剤の開発

３．医薬保健研究域・医学系　和田隆志教授
　　腎疾患におけるケモカインの病態生理学的役割の解析

４．医薬保健研究域・医学系　太田嗣人准教授
　　メタボリック症候群でのケモカインの病態生理学的役割の解析

学外との共同研究

１．東京大学・創薬オープンイノベーションセンター　岡部隆義教授
　Pim-3 活性阻害作用を指標とした低分子化合物のスクリーニング

２．東京大学・医学研究科　松島綱治教授
　慢性炎症・がん化過程におけるケモカインの病態生理学的役割の解析

３．北陸大学・薬学部　村山次哉教授
　　サイトメガロウイルス感染とケモカイン

４．神奈川歯科大学・歯学部　畑隆一郎教授
　　ケモカイン BRAK/CXCL14 のがん病態での病態生理学的役割の解析

５．和歌山県立医科大学・医学部　近藤捻和教授
　慢性炎症ならびに発がん過程におけるケモカインの病態生理学的役割の解析

６．和歌山県立医科大学・医学部　井筧一彦教授
　　卵巣がん進展過程におけるケモカインの病態生理学的役割の解析

７．福井大学・医学部　中本安成教授
　　ケモカインを標的としたがん免疫療法の開発

８．順天堂大学・医学部　小松則夫教授
　　骨髄増殖性疾患とケモカイン

９．富山大学・和漢医薬学総合研究所　早川芳弘准教授
　　浸潤・転移過程におけるケモカイン

１０．　米国国立がん研究所 Giorgio Trinchieri 博士
　発がん過程と腸内細菌叢の相互作用の解析

１１．　中国・復旦大学・医学部　李影奕准教授
　　Pim-3 の病態生化学的解析

その他

Associate Editor, Cytokine (Official Journal of International Cytokine Society)
2012 年 4 月～

免疫炎症制御研究分野

＜研究スタッフ＞

教　授　　須田　貴司

助　教　　木下　健　　助　教　　今村　龍（～8 月）

博士研究員　張　培培　　博士研究員　中嶋　伸介

大学院生（博士課程）　串山　裕子

大学院生（修士課程）　趙　天祥

技術補佐員　齋藤　翔子（～6 月）　　技術補佐員　櫻井　真由美

【 研 究 概 要 】

細胞死と炎症は共にがん微小環境に大きな影響を及ぼすことから，我々は細胞死と炎症のシグナル伝達の接点で働く蛋白分子群や死細胞から放出される炎症シグナル分子に着目した研究を行っている。現在，1) がん微小環境におけるがん細胞死の役割の研究，2) パイロトーシスの分子機構の研究，3) がん細胞における NLRP3 の役割の研究，4) ビタミン B6 の IL-1β 産生抑制作用の研究などを行っている。詳細は以下の通りである。

＜2014 年の研究成果，進捗状況及び今後の計画＞

1) がん微小環境におけるがん細胞死の役割の研究：

これまで，細胞死はプログラム細胞死であるアポトーシスと非プログラム細胞死であるネクローシスの二元論で論じられてきた。ところが近年，アポトーシスの他にパイロトーシスやネクロトーシスなど，分子機構や様態の異なる様々なプログラム細胞死が存在することが明らかになってきた。また，一般にアポトーシスは炎症を誘導しないと言われているが，我々は炎症を誘導するように仕組まれたアポトーシスも存在することを示してきた。一方，腫瘍組織においては，酸素や栄養の欠乏，免疫応答，がん治療などにより多くの細胞が死ぬが，最近，死細胞からは様々なシグナル分子が放出され，炎症，免疫，細胞増殖，再生など様々な生体応答を制御していることが明らかになりつつある。細胞の死に方が違えば，放出されるシグナル分子のレパートリーも異なると考えられる。そこで，がん細胞の死に方の違いががん微小環境に及ぼす影響を評価する目的で，新しい実験系の構築を進めている。

2) パイロトーシスの分子機構の研究：

パイロトーシスは細菌などに感染したマクロファージで見られる細胞死として発見されたカスパーゼ 1 依存性の炎症誘導性プログラム細胞死である。我々は，カスパーゼ 1 を発現する多くのがん細胞株にパイロトーシスを誘導しうることを見出した。そこで，shRNA ライブラリーを利用したパイロトーシス関連遺伝子の同定を行い，これまでに複数の候補遺伝子を同定した。現在，これらの候補遺伝子が実際にパイロトーシスに重要な分子であるか検証を行うとともに，カスパーゼ 1 との相互作用やカスパーゼ 1 の基質となりうるかなどの検討を行っている。

3) がん細胞における NLRP3 の役割の研究：

NLRP3 はカスパーゼ 1 の活性化に働き，細胞死と炎症に重要な役割を果たす細胞質蛋白である。我々は NLRP3 が NF-κB の活性化も誘導しうることを見出し，これまでに各種がん細胞株において NLRP3 をノックダウンすると IL-1β mRNA 発現が減弱すること，また HT1080 線維肉腫細胞株や U87MG グリオーマ細胞株の NLRP3 発現をノックダウンすると MT1-MMP の発現が減弱し，MT1-MMP の基質（MMP2）切断活性が抑制されること，*in vitro* での浸潤能が低下することを見いだしている。本年度は NLRP3 下流のシグナル伝達分子を同定することを試み，（1）TNF レセプター下流の NF-κB 活性化に関わる FADD が NLRP3 と結合しうることを，HEK293 細胞を用いた免疫沈降試験で明らかにし，（2）FADD の下流分子 caspase-8 をノックダウンすると U87MG の MMP2 活性化能が減弱することを見いだした。今後は，内在性 NLRP3-FADD 結合試験，ゲノム編集技術を利用した FADD ノックアウト細胞樹立とその *in vitro*, *in vivo* 解析により，NLRP3 による各種遺伝子発現誘導の分子機構とそのがん細胞における役割を明らかにすることを試みる。

4) ビタミン B6 の IL-1β 産生抑制作用の研究：

ビタミン B6 はトランスアミナーゼなどの補酵素として働く水溶性ビタミンである。近年，炎症により血中の B6 が減少すること，B6 欠乏と大腸炎，リューマチ関節炎，心血管疾患との関連などが報告されている。また，最近，広島大学の加藤範久教授のグループが炎症誘導性大腸がんの動物モデルでビタミン B6 が発がん抑制効果を示すことを報告した。そこで我々は，加藤教授らと共同で，ビタミン B6 の炎症抑制作用の研究を行っている。我々はこれまでに，ビタミン B6 がマクロファージによる IL-1β などの炎症性サイトカインの産生を強く抑制することを見出し，その分子機構を解析している。

【 研 究 業 績 】

＜論文発表＞

1. Kinoshita, T., Imamura, R., Kushiyama, H., and Suda, T.: NLRP3 mediates NF-κB activation and cytokine induction in microbially induced and sterile inflammation. PLoS One. 2015, 10(3):e0119179

＜学会発表＞

1. Hiroko Kushiyama, Ryu Imamura, Takeshi Kinoshita and Takashi Suda: HDAC inhibitors induce IL-1β production in human monocytes by activating NLRP3 inflammasome. 第 73 回日本癌学会学術総会（横浜）2014 年 9 月
2. 木下健，今村龍，須田貴司: がん細胞における自然免疫センサー分子 NLRP3 の役割. 第 37 回日本分子生物学会学術集会（横浜）2014 年 11 月
3. 須田貴司：パイロトーシスの分子機構と役割. 文部科学省科学研究費補助金新学術領域「細胞死を起点とする生体制御ネットワークの解明」キックオフシンポジウム（東京）2014 年 11 月
4. Ryu Imamura and Takashi Suda: Role of PYNOD (NLRP10) in the migration of effector T cells to inflamed tissues. 第 43 回日本免疫学会学術集会（京都）2014 年 12 月
5. Yoshino Miya, Imamura Ryu, Murata Akihiko, Shimoda Yuhki, Hikosaka Mari, Suda Takashi, and Hayashi Shin-Ichi: Migration of skin antigen-transporting cells in PYNOD-deficient mice. 第 43 回日本免疫学会学術集会（京都）2014 年 12 月

＜外部資金＞

1. 須田貴司，科学研究費補助金　新学術領域研究「細胞死を起点とする生体制御ネットワークの解明」（代表）：パイロトーシスの分子機構と役割.　18,500 千円
2. 須田貴司，武田科学振興財団特定研究助成（分担）：死細胞応答性マクロファージ制御による臓器虚血の克服.　9,000 千円

＜共同研究＞

学外

1. 広島大学生物圏科学研究科 加藤 範久 教授
   NLRP3 インフラマソーム活性化におけるビタミン B6 の効果の検討

2. 鳥取大学医学部　林 眞一 教授，吉野 三也 准教授
   PYNOD 遺伝子が獲得免疫反応に及ぼす影響の検討
3. 東京大学大学院理学研究科　菅　裕明教授
   Fas および Fas リガンドに対するアゴニスト，アンタゴニスト環状ペプチドの開発
4. 東京大学大学院新領域創成科学研究科　鈴木　穣　教授
   shRNA ライブラリーを用いたパイロトーシス関連遺伝子の網羅的同定
5. 東京薬科大学生命科学部　田中 正人 教授，西躰 元 助教
   腫瘍随伴マクロファージによるがん死細胞貪食とがん免疫抑制機構の解明
6. 琉球大学熱帯生物圏研究センター　松﨑 吾朗 教授，梅村 正幸 助教
   BCG の抗癌活性発現における炎症反応および免疫応答の分子基盤の確立
7. 京都府立医科大学大学院医学研究科 鈴木孝禎 教授
   HDAC 阻害剤の IL-1β 産生誘導機構の解析

腫瘍動態制御研究分野

＜研究スタッフ＞

教　授	松本　邦夫		
助　教	酒井　克也	助教	今村　龍
研究員	足立　恵理		
大学院生	Miao Wenyu	大学院生	平井　智子
大学院生	広川卓也	大学院生	冨増　和暉
技術補佐員	丹保　智佳子	技能補佐員	端谷　泉

【 研 究 概 要 】

HGF（hepatocyte growth factor）は Met チロシンキナーゼを受容体とし，主として間葉由来の因子として，上皮組織の３次元（3-D）形態形成，肝臓や神経系をはじめとする組織の再生・保護を担う。一方，HGF はとりわけがん細胞の 3-D 浸潤や細胞の生存を促す生物活性が強く，がん転移に深く関与するとともに，分子標的抗がん剤に対する耐性獲得に関与する。HGF-Met 系を介した組織修復の仕組みは悪性腫瘍の生物学的特性に深く関与すると考えられる。私達はがん微小環境を介したがん悪性化ならびに組織再生制御における HGF-Met 系の意義とメカニズムの研究を中心に進めており，とりわけがん悪性進展（浸潤・転移・薬剤耐性）における HGF-Met 系の機能，構造生物学を基盤とする HGF-Met 阻害剤ならびに人工 HGF の創薬研究などを行っている。また，HGF による疾患治療への応用にも力を注いでいる。

良性腫瘍と悪性腫瘍の明確な違いが浸潤性である。がんの 3-D 浸潤性制御の研究から，自律的浸潤性を示す細胞と，非浸潤性細胞に分けられることを観察し，両者の性質の違いを制御するメカニズムの研究を進めた。その結果，ポリコーム抑制系複合体を介したエピゲノム制御異常が浸潤性やがんの悪性形質に関わる遺伝子群の発現に関与することを見出した。

＜2014 年の研究成果，進行状況＞

1. 人工 HGF の創製

サイトカインや細胞増殖因子のいくつかは，難治性疾患に対する組換えタンパク質医薬として応用されているが，合成化合物に比べ高い製造コストが難点である。分子サイズの小さなものに置き換える試みが長年にわたりされているがその手法は確立されていない。菅裕明教授（東京大学）と共同で，Rapid Peptide Integrated Display 法により得られた環状ペプチドを基盤に，環状ペプチド性人工 HGF の創製に成功した。Met 高親和性環状ペプチドとして絞込まれた 3 種について，HGF-Met 系阻害作用を調べた結果，HGF-Met 系に対する阻害作用は認められなかった。一方，Met 結合ペプチドを 2 量体化し，複数種のヒト正常細胞（表皮角化細胞，尿細管細胞，血管内皮細胞など）を用いて生物活性を調べた結果，それぞれの 2 量体化環状ペプチドは，増殖促進，遊走促進，管腔形成誘導など，Met 受容体を介した特徴的な生物活性を示すとともに，HGF と同等の活性を示した。本技術は人工サイトカイン/増殖

因子を創製する普遍的な技術となると考えられる。HGF タンパク質に置き換わるペプチド性人工 HGF は，再生医療用医薬としての大きな可能性をもっている。

2. 構造生物学を基盤とする低分子 HGF-Met 系阻害剤創製研究
HGF と Met 受容体相互作用を阻害する低分子創薬研究を進めている。HGF-Met 系を標的分子として，Rapid Peptide Integrated Display 法によって HGF による Met 活性化を阻害する環状ペプチドを見出した。一方，HGF-Met 相互作用を阻害する低分子化合物の創製を並行して進めている。IC_{50} 値が 10-20 μM のヒット化合物が複数得られているが活性向上に時間を要している。化合物のドッキング構造に基づく分子設計を着実にすべく，糖鎖欠損 HGF や HGF 分子内ドメインの発現・精製・結晶化条件の探索を進めた。

3. 悪性黒色腫における Met 発現の階層性と腫瘍形質制御の研究
悪性黒色腫は高い転移性や抗がん剤に対する抵抗性を特徴とし，分子標的薬に対して比較的短期で耐性に至る。高転移性 B16F10 マウスメラノーマ細胞を用いて，転移・薬剤抵抗性における Met 受容体発現の動態と意義を調べた。細胞表面 Met 発現の違いから B16F10 細胞には Met-low/Met-high 両細胞集団が混在し， Met-low ポピュレーションは幹細胞性の遺伝子発現，抗がん剤耐性，マウス移植モデルでの活発な腫瘍成長能を示した。一方，Met-high はメラニン産生に関わる遺伝子発現，肺への高い転移能を特徴とした。両ポピュレーションの動態を調べた結果，Met-low 細胞からは Met-low と Met-high 細胞が生じるのに対して，Met-high からは Met-high 細胞のみが生じた。以上より，Met-low →Met-high の動的な発現転換によって B16F10 細胞集団内に Met 発現の多様性が生じるとともに，Met 発現の相違が，抗がん剤に対する耐性，腫瘍成長能，転移性において多様な細胞集団を生み出す要因の1つと考えられた。

4. CBX/ポリコーム抑制系制御異常を介したがん悪性進展制御の研究
ヒト悪性中皮腫細胞を用いて，非浸潤性と浸潤性を区別するメカニズムとして，1) 浸潤に必須の細胞外マトリックス分解酵素の遺伝子発現がポリコーム抑制系複合体（PRC）によって制御されること，2) PRC 構成分子 CBX のプロテアソーム分解が浸潤関連遺伝子セットの発現抑制の異常/破綻に関与すること，3) ポリコーム抑制系は浸潤性，サイトカイン，血管新生，炎症など，悪性進展に関与する複数の遺伝子群の発現に関与することを明らかにした。CBX のタンパク質分解系制御が新しい治療標的となりうる可能性が考えられる。

＜今後の計画＞

1. 悪性黒色腫における Met 発現の階層性と腫瘍形質制御の研究: Met 高発現による Met 含有エキソソーム生成と肺転移，BRAF 阻害剤耐性と Met 発現に関するデータを準備し論文としてまとめる。
2. 人工 HGF の創製と構造解析: 人工 HGF と Met 複合体の構造解析を進め，HGF-Met 系制御の構造基盤を明らかにするとともに，病態モデルを用いて HGF に置き換わる医薬候補分子としての研究を進める。
3. HGF-Met 系阻害剤創製: 環状ペプチド性 HGF-Met 阻害分子の制がん作用の解析，化合物-HGF のドッキング構造解析と分子設計による活性向上を目指す。

【 研 究 業 績 】

＜論文発表＞

原著

（研究室主体）

1. Ito K[†], Sakai K[†], Suzuki Y, Ozawa N, Hatta T, Natsume T, Matsumoto K[§], Suga H[§]. Artificial human Met agonists based on macrocycle scaffolds. ***Nat Commun***, 6: 6373, 2015. ([†]equal contribution; [§]corresponding authors)

2. Adachi E, Hirose-Sugiura T, Kato Y, Ikebuchi F, Yamashita A, Abe T, Fukuta K, Adachi K, Matsumoto K. Pharmacokinetics and pharmacodynamics following intravenous administration of recombinant human hepatocyte growth factor in rats with renal injury. ***Pharmacology***, 94: 190-197, 2014.

（共同研究）

1. Oyanagi J, Kojima N, Higashi S, Kikuchi K, Sakai K, Matsumoto K, Miyazaki K. Inhibitor of transforming growth factor-β potentiates fibroblast-dependent tumor cell invasion into collagen matrix by increasing secretion of hepatocyte growth factor from fibroblasts. ***Exp Cell Res***, 326: 267-279, 2014.

2. Nakade J, Takeuchi S, Nakagawa T, Ishikawa D, Sano T, Nanjo S, Yamada T, Ebi H, Zhao L, Yasumoto K, Matsumoto K, Yonekura K, Yano S, Triple inhibition of EGFR, Met, and VEGF suppresses regrowth of HGF-triggered, erlotinib-resistant lung cancer harboring an *EGFR* mutation. ***J Thorac Oncol***, 9: 775-783, 2014.

3. Tanimoto A, Yamada T, Takeuchi S, Ebi H, Kita K, Matsumoto K, Yano S. Receptor ligand-triggered resistance to alectinib and its circumvention by Hsp90 inhibition in EML4-ALK lung cancer cells. ***Oncotarget***, 5: 4920-4928, 2014.

総説

1. Matsumoto K, Funakoshi H, Takahashi H, Sakai K. HGF-Met pathway in regeneration and drug discovery. Biomedicines, 2: 275-300, 2014.

2. Sakai K, Kinoshita T, Matsumoto K. Hepatocyte growth factor. “Reference Module in Biomedical Research”, Elsevier Inc.

3. 酒井克也, 松本邦夫: “Msp と Msp 受容体（Ron）”,「サイトカイン・増殖因子キーワード事典」, 羊土社, pp. 261-263, 2015.

4. 松本邦夫: “HGF”,「サイトカイン・増殖因子キーワード事典」, 羊土社, pp. 258-259., 2015.

5. 酒井克也: “HGF 受容体”,「サイトカイン・増殖因子キーワード事典」, 羊土社.

6. 酒井克也, 松本邦夫: “MSP と MSP 受容体”,「サイトカイン・増殖因子キーワード事典」, 羊土社, pp. 259-261, 2015.

＜学会発表＞

1. 松本邦夫, 酒井克也, 伊藤健一郎, 菅裕明: Met/HGF 受容体を標的とする環状ペプチドの創製. シンポジウム“新たな分子標的と次世代創薬スクリーニング”, 第 73 回日本癌学会学術総会, 2014 年 9 月 27 日（横浜）

2. 足立恵理, 酒井克也, 松本邦夫: B16F10 メラノーマの造腫瘍性/転移性における Met 階層的発現の意義. 第 73 回日本癌学会学術総会, 2014 年 9 月 26 日（横浜）

3. 宮崎香, 小柳潤, 東昌市, 菊池慶司, 酒井克也, 松本邦夫: 三次元コラーゲンゲル共培養モデルを利用したがん浸潤機構の研究: HGFとTGF-βの役割. 第73回日本癌学会学術総会, 2014年9月26日(横浜)

4. 平井智子, 酒井克也, 鈴木健之, 矢野聖二, 高橋智聡, 西内巧, 松本邦夫: CBX/PRCのプロテアソーム分解を介したヒト悪性中皮腫細胞の浸潤性制御. 第87回 日本生化学会大会, 2014年10月16日(京都)

5. 櫨川舞, 松本邦夫, 酒井芳紀, 原口珠実, 吉田都, 内田享弘: c-Metのダウンレギュレーションを伴わない新規PGI_2アゴニスト反復投与の血管新生作用. 日本薬学会第133年会, 2013年3月28日(横浜)

＜外部資金＞

1. 松本邦夫：科学研究費補助金　基盤研究（B）「３−D浸潤性獲得と上皮形態形成制御を基盤とする腫瘍悪性化機構の研究」　6,500千円
2. 松本邦夫：次世代がん研究推進プロジェクト「結晶構造を基盤とするリード化合物の最適化による低分子HGF-Met阻害剤の創製研究」　3,950千円
3. 松本邦夫: (独)新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)による「研究開発費補助金(ベンチャー企業への実用化助成事業): 組換えヒトHGF蛋白質の次世代製造方法の確立」に関わるクリングルファーマ株式会社との産学連携共同研究　1,029千円

＜共同研究＞

1. 大阪府立大学大学院理学系研究科 構造生物学 木下誉富准教授: 結晶構造に基づくHGF-Met系阻害剤創成の研究
2. 東京大学大学院理学系研究科 菅裕明教授: HGF-Met系を制御する特殊環状ペプチドの創製と作用機作の研究
3. 神戸大学大学院医学系研究科 西田満准教授・南康博教授: 肺がんEGFR阻害剤に対する耐性獲得におけるRor-Met系の意義とメカニズムの研究
4. 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 木浦勝行教授: HGF-Met系活性化を介した肺がん分子標的薬薬剤耐性獲得の研究
5. 九州工業大学情報工学研究院 青木俊介准教授: HGF-Metタンパク質間相互作用を制御するための計算科学的な創薬基盤の確立
6. 千葉県がんセンター細胞治療開発研究部 田川雅敏教授: NK4遺伝子治療による悪性中皮腫治療の研究
7. 横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科 宮崎香教授: がん細胞浸潤におけるTGF-βとHGFの相互作用
8. 金沢大学大学院医学系研究科（組織発達構築学）井関尚一教授・若山友彦准教授: 精巣機能におけるHGF-Met系の役割についての研究

他

がん分子標的探索プログラム

分子病態研究分野

＜研究スタッフ＞
教授　　後藤　典子
助教　　中田　飛鳥
博士研究員　西村　建徳
博士研究員　伊藤　千秋
技能補佐員　武　紀代子
＜大学院生＞
博士課程１年　須賀　淳子
博士課程１年　苅谷　文子
修士課程２年　村山　貴彦

【 研 究 概 要 】

癌と癌幹細胞に注目し，基礎研究から臨床へと連続する研究の展開を目指している。最先端の分子生物学，細胞生物学的手法，さらにはシステム生物学的理論を組み合わせて，癌の早期発見や個々の患者に最適な治療法を選択するための診断マーカーの抽出，そして新しい抗がん剤開発のための新たな分子標的の発見を試み，トランスレーショナルリサーチへと展開している。

＜2014 年の研究成果，進捗状況＞

1）乳がん幹細胞の安定性を決定する HER2/3-NFκB-IGF2-ID1 シグナルサーキットへの依存メカニズム

乳がんは，日本女性の罹患数第一のがんであり，近年益々増加傾向にある。現在では日本人女性の 20 人に一人，米国では８人に一人が一生のうち一回は乳がんを経験するとの統計があり，身近な問題である。ここ数年で，がん組織は，がん幹細胞が元となってその娘細胞が増えた組織であるという考え方が提示され，「がん幹細胞説」として，広く信じられるようになってきている。しかも最近，分化したがん細胞自体ががん幹細胞へ変貌するという可塑性も指摘されている。このように，がん幹細胞的な性質を持った細胞はがん組織内で安定的に存在しやすいことがわかってきているものの，その分子機構は依然不明である。我々は，以前 HER2/3-PI3 kinase-NFκB パスウエイの活性化が，がん幹細胞の維持に重要な役割を果たしていることを報告した。そこで，このパスウエイの下流にがん幹細胞の安定化にクリティカルな鍵分子があると考え，その候補分子を網羅的に探索することとし，独特のシステム的解析法を編み出して解析した。その結果，約 100 の候補分子が得られ，増殖因子，サイトカイン，

ケモカインなどの細胞外因子が多く含まれていた。

私どもは，難易度高いとされている乳がん臨床検体の培養系ならびにがん幹細胞性を評価できるスフィア培養系ならびにPatient-derived xenograft モデルの系を立ち上げ，カタログ化している。そこで，この系を用いて，がん幹細胞の安定化を司る候補分子の評価を行った。その結果，HER2/3-PI3 kinase-NFκB パスウエイは，がん幹細胞ニッチとして機能するがん細胞内に，IGF2 サイトカインの産生を促すことがわかった。また，IGF2 の受容体である IGF1 受容体(IGF1R)ががん幹細胞の性質を持った細胞に特異的に発現しており，IGF1R シグナルをがん幹細胞内で活性化，その下流で未分化性のマスター調節因子である ID1 転写制御因子の発現を上昇させ，さらにその下流で IGF2 自身が産生されることがわかった。つまり，ポジティブフィードバックメカニズムにより IGF2-IGF1R-ID1-IGF2 サーキットが回転し，一旦これが回転しはじめるとがん幹細胞はこれに依存し安定化されることが明らかになった。

2）肺がんの gefitinib 耐性の新たな分子機構：AKT-beta-catenin パスウエイの活性化

Gefitinib 感受性 PC9 細胞より，我々が樹立した gefitinib 耐性亜株 PC9M2 細胞の特性を解析し，AKT-beta-catenin パスウエイの活性化により，耐性が引き起こされることがわかった。Beta-catenin に対する siRNA もしくは beta-catenin の阻害剤を用いると，gefitinib に対する感受性が回復した。親株の PC9 細胞と PC9M2 細胞を，免疫不全マウスの皮下に移植して形成された腫瘍を beta-catenin 抗体を用いて免疫染色を行った。Beta-catenin は，AKT の活性化により，細胞膜から細胞質，そして核へ移行することが知られている。PC9M2 細胞由来の腫瘍は，PC9 細胞由来の腫瘍に比較し，beta-catenin の細胞質ならびに核への局在が強かった。さらに，32 例の gefitinib 使用したヒト肺癌臨床検体の治療前検体を解析した。その結果，gefitinib 奏功例に比較し，gefitinib 耐性例のほうで，有意に beta-catenin の細胞膜の局在が弱く，細胞質へ移行する傾向がみられた。以上より，gefitinib 耐性の症例のなかには，beta-catenin の活性化が，耐性獲得の分子機構になっている症例が存在することが示唆された。

【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

原著論文

1. Shima T, Miyamoto T, Kikushige Y, Yoda J, Tochigi T, Yoshimoto G, Kato K, Takenaka K, Iwasaki H, Mizuno S, Goto N, Akashi K.: The ordered acquisition of Class II and Class I mutations directs formation of human t(8;21) acute myelogenous leukemia stem cell. *Exp Hematol,*

42, 955-965, 2014. （共同研究）

2. Hamabe A, Konno M, Tanuma N, Shima H, Tsunekuni K, Kawamoto K, Nishida N, Koseki J, Mimori K, Gotoh N, Yamamoto H, Doki Y, Mori M, Ishii H.: Role of pyruvate kinase M2 in transcriptional regulation leading to epithelial-mesenchymal transition. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 111, 15526-31. （共同研究）

3. Hasegawa S, Eguchi H, Nagano H, Konno M, Tomimaru Y, Wada H, Hama N, Kawamoto K, Kobayashi S, Nishida N, Koseki J, Nishimura T, Gotoh N, Ohno S, Yabuta N, Nojima H, Mori M, Doki Y, Ishii H.: MicroRNA-1246 expression associated with CCNG2-mediated chemoresistance and stemness in pancreatic cancer. *Br J Cancer*, 111, 1572-80. （共同研究）

4. Kohsaka S, Hinohara K, Wang L, Nishimura T, Urushido M, Yachi K, Tsuda M, Tanino M, Kimura T, Nishihara H, Gotoh N, Tanaka S.: Epiregulin enhances tumorigenicity activating ERK/MAPK pathway in glioblastoma. *Neuro. Oncol*., 16, 960-70. （共同研究）

5. Ono K, Kita T, Sato S, O'Neill P, Mak S-S., Paschaki M, It, M, Gotoh, N, Kawakami K, Ladher RK.: Fgfr1-Frs2/3 Signalling Maintains Sensory Progenitors during Inner Ear Hair Cell Formation. *PLOS Genetics*., 10, e1004118, 2014. （共同研究）

6. Li H, Ta, C, Cai Z., Hertzler-Schaefer K, Collins TN, Wang F, Feng G-S, Gotoh N, Zhang X.: Frs2alpha and Shp2 signal independently of Gab to mediate FGF signaling in lens development. *J. Cell Sci*., 127, 571-582, 2014. （共同研究）

＜学会発表＞

国際学会

1. Noriko Gotoh : "Novel molecular targets in breast cancer stem cells in patient-derived sphere cells." **Japanese-German Cancer Workshop**, 2014 年 11 月 14～16 日，ベルリン，ドイツ。
2. Noriko Gotoh : "Novel molecular targets in breast cancer stem cells in patient-derived sphere cells." **The 10th Annual Meeting of Korean Society for Stem Cell Research**, 2014 年 8 月 28・29 日，ソウル，韓国。
3. Noriko Gotoh : "Insulin-like growth factor regulates breast cancer stem cell properties." **2014 SNUCRI Cancer Symposium,** 2014 年 4 月 15～19 日，Mokpo，韓国。
4. Asuka Nakata："Novel mechanisms of acquired resistance to EGFR-TKI in lung cancer".

金沢国際シンポジウム，2014 年 1 月，金沢市

5. Asuka Nakata, Rui Yamaguchi, Mai Yamauchi, Teppei Shimamura, Seiya Imoto, Masaharu Nomura, Seiji Yano, Satoru Miyano, Noriko Gotoh : ”Novel molecular mechanisms of acquired resistance to gefitinib in Non-small lung cancer.” **Keystone Symposium, Developmental Pathways and Cancer: Wnt, Notch and Hedgehog,** 2014 年 2 月 2～7 日，バンフ，カナダ

全国学会

1. 後藤典子：”Growth factor controls breast cancer stem cells and their niche.” 第 73 回日本癌学会学術総会，腫瘍別シンポジウム「乳がん研究の新展開：基礎科学から臨床医学へ」，2014 年 9 月 25～27 日，横浜

2. 後藤典子:「臨床検体乳がんスフィア培養を用いたがん幹細胞の新規分子標的の探索」第 32 回日本ヒト細胞学会学術集会，シンポジウム「癌幹細胞」，2014 年 8 月 30～31 日，東京

3. 後藤典子:「EGF 受容体チロシンキナーゼ制御遺伝子による肺癌の予後予測診断と乳癌幹細胞の分子標的」日本薬学会第 134 回年会，シンポジウム，2014 年 3 月 30 日，熊本

4. 中田飛鳥：” Development of the prognostic system with gene signature in early stage lung cancer.” 第 73 回日本癌学会学術総会，2014 年 9 月 25～27 日，横浜

5. 西村建徳：”MTHFD2 is a key molecule in EGF receptor tyrosine kinase and regulates lung cancer cell growth.” 第 73 回日本癌学会学術総会，2014 年 9 月 25～27 日，横浜

6. 村山貴彦：” CD74-NRG1 is a potential oncoprotein that promotes cancer stem cell properties.” 第 73 回日本癌学会学術総会，2014 年 9 月 25～27 日，横浜

7. 西村建徳：” MTHFD2 is a key molecule in EGF receptor tyrosine kinase and contributes to lung cancer cell growth.” 第 2 回がんと代謝研究会，2014 年 7 月 10・11 日，東京

8. 西村建徳：”EGF 受容体チロシンキナーゼ鍵分子 MTHFD2 は肺がん細胞の増殖を制御する” 第 18 回日本がん分子標的治療学会，2014 年 6 月 27 日，仙台

9. 村山貴彦：” CD74-NRG1 is a potential oncoprotein that promotes cancer stem cell properties.” 第 12 回幹細胞シンポジウム，2014 年，福岡

＜外部資金＞

1. 後藤典子，新学術領域研究・研究領域提案型「癌幹細胞」計画研究，代表，12,000 千円
2. 後藤典子，挑戦的萌芽研究，代表，2,100 千円
3. 後藤典子，次世代がん研究シーズ戦略的育成プログラム，代表， 11,730 千円

4.　中田飛鳥，若手研究 B（一般），代表，1,400 千円

＜共同研究＞

1. 井上純一郎　東京大学医科学研究所　「悪性乳癌幹細胞維持における転写因子 NF-kB の役割解明」
2. 河野隆志　国立がん研究センター　「がん幹細胞形質を増強する肺がん遺伝子異常の同定」
3. 石井秀始，森正樹　大阪大学消化器外科学　「膵臓がんの薬剤耐性に関わる miRNA の同定」
4. 北嶋俊輔，高橋智聡　金沢大学がん進展制御研究所　「細胞自律的炎症とメタボリック・リプログラミングによるがん幹細胞維持機構」
5. 鈴木穣　東京大学新領域創成科　「臨床検体乳がんスフェア培養細胞のゲノム解析」
6. Anna Akhmanova,　Utrecht University, オランダ　「MICAL3 の乳がん幹細胞における役割」
7. 北林一生（国立がん研究センター），佐谷秀行（慶応大学），赤司浩一（九州大学）「乳がん幹細胞の発生機構の解析」
8. Joseph Schlessinger, Yale University, 米国　「FRS2beta を介するシグナル伝達」
9. 東條有伸，東京大学医科学研究所「固形がんのがん幹細胞培養系を用いたがん悪性化の分子機構の解析」
10. Mats Nilsson（Stockholm University，スエーデン），岡本康司（国立がん研究センター）「乳がん幹細胞のシングルセル解析」

シグナル伝達研究分野

＜研究スタッフ＞

教　授　　善岡　克次
助　教　　佐藤　時春
博士研究員　Radnaa Enkhtuya
大学院生（博士課程）　Baljinnyam Tuvshintugs（～H26.9.30）
大学院生（博士課程）　宮田　大史　　大学院生（博士課程）　石川　桃絵
大学院生（博士課程）　李　蓉　　大学院生（博士課程）　I Ketut Gunarta
大学院生（博士課程）　Dewi Yuliana
大学院生（修士課程）　関　斉　　大学院生（修士課程）　高橋　佑斗
大学院生（修士課程）　Purvee Erdenebaatar
技術補佐員　猪谷　久世

【 研 究 概 要 】

哺乳類 MAP キナーゼ（MAPK）経路は，細胞の増殖・分化・死など細胞の様々な局面において重要な役割を担う細胞内シグナル伝達経路である。このシグナル伝達経路の異常は細胞のがん化と密接に関係しており，多くの MAPK シグナル伝達系分子が原がん遺伝子産物として報告されている。MAPK 経路に関する研究は世界中で精力的に行われているが，シグナル伝達経路間の相互作用を含む MAPK シグナル伝達系全体の制御機構や各シグナル伝達モジュールの *in vivo* における機能については不明な点が多い。本研究分野では，我々が同定した哺乳類 MAPK 経路の足場タンパク質 JSAP1 及び JLP（JSAP1 ファミリーメンバー）を切り口として，シグナル伝達の特異性維持機構，MAPK モジュールの *in vivo* における役割，及び MAPK 経路の時間的・空間的制御機構の解析を行い，最終的には細胞のがん化やがんの悪性化における JSAP1, JLP の役割とその分子機構の解明を目指して研究を行っている。また，足場タンパク質 JSAP1, JLP は，MAPK シグナル伝達系以外においても重要な役割を担っていると考えられる。そこで，JSAP1, JLP の生理的機能の解明に向けた研究にも取り組んでいる。一方, 当研究所が共同利用・共同研究拠点に認定されたことを契機として，ヘッジホッグ経路とがん転移に焦点を当てた研究に着手した。

＜2014 年の研究成果，進捗状況と今後の計画＞

１．初代培養系を用いた JSAP1, JLP の生理的機能の解析

JSAP1, JLP の生理的機能の解明に向け，JSAP1, JLP 欠失が誘導可能な初代培養系の

構築・解析を行った。その結果，JSAP1, JLP タンパク質は kinesin-1 依存的な物質輸送の制御因子であり，その破綻は細胞死を引き起こすことを見出した（*Cell Death Differ*, in press）。

２．マウスを用いた JSAP1, JLP の生理的機能の解析

Cre-loxP システム及びタモキシフェンを用いて全身で JSAP1, JLP の欠失が誘導可能なマウスを作出した。今後，このマウスを用いた解析を行い，JSAP1, JLP の新たな生理的機能を明らかにする予定である。

３．細胞質分裂における JSAP1, JLP の役割とその分子機構

これまでの多くの研究から，JSAP1, JLP は哺乳類 MAPK 経路の足場タンパク質やキネシンアダプターとして機能することが報告されている。また最近，我々は JSAP1, JLP タンパク質がキネシン- 微小管相互作用の制御に関わる因子であることを報告した（*Cell Death Differ*, in press）。本年は，JSAP1, JLP 欠失が誘導可能なマウス胚性繊維芽細胞を用いた解析を行い，JSAP1, JLP は細胞質分裂の制御因子として働くという JSAP1, JLP の新たな機能を明らかにした（*Genes Cells*, 2014a）。

４．紫外線誘導性アポトーシスにおける JLP の役割とその分子機構

JLP 単純ノックアウト（KO）マウスおよび基底細胞特異的 JLP KO マウスの作出・解析を行い，JLP-p38 MAPK シグナル経路は UVB 誘導性アポトーシスにおいて重要な役割を担うことを明らかにした（*Genes Cells*, 2014b）。

５．ヘッジホッグ（Hh）経路と MAPK 経路のクロストーク

これまでの研究から，Hh 経路は小脳顆粒前駆細胞（GCP）の増殖・分化制御において重要な役割を担っており，その制御破綻は髄芽腫を引き起こすことが知られている。一方，我々を含む複数のグループの研究により，GCP の増殖・分化制御における Hh 経路と MAPK 経路のクロストークが示唆されている。本年は，本クロストークの解析において，HEK293T 細胞が有用な実験系であることを見出した。今後，さらに解析を進め，Hh 経路と MAPK 経路のクロストークを詳細に検討する予定である。

６．がん転移における転写因子 Gli1 の役割とその分子機構

転写因子 Gli ががんの転移に関与することは知られているが，その詳細については不明な点が多い。我々は，マウスメラノーマ由来の B16 細胞を用いて，Gli1 を安定に高発現する細胞株や Gli1 ノックダウン細胞株の樹立・解析を行っている。本年は，B16-Gli1#8（Gli1 高発現細胞株）の遺伝子発現プロファイル解析を行い，Gli1 が低酸素応答因子の発現調節に関わることを示唆する結果を得た。

【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

原著（研究分野主体）

1. Sato, T., Ishikawa, M., Mochizuki, M., Ohta, M., Ohkura, M., Nakai, J., Takamatsu, N., Yoshioka, K. JSAP1/JIP3 and JLP regulate kinesin-1-dependent axonal transport to prevent neuronal degeneration. ***Cell Death Differ.*** (in press, doi:10.1038/cdd.2014.207)

2. Tuvshintugs, B., Sato, T., Enkhtuya, R., Yamashita, K., Yoshioka, K. JSAP1 and JLP are required for ARF6 localization to the midbody in cytokinesis. ***Genes Cells*** 19: 692-703, 2014.

3. Enkhtuya, R., Sato, T., Wakasugi, M., Tuvshintugs, B., Miyata, H., Sakurai, T., Matsunaga, T., Yoshioka, K. The scaffold protein JLP plays a key role in regulating ultraviolet B-induced apoptosis in mice. ***Genes Cells*** 19: 350-358, 2014.

＜学会発表＞

１．Sato, T., Tuvshintugs, B., Enkhtuya, R., Yoshioka, K.
Scaffold proteins JSAP1 and JLP are required for cytokinesis by regulating localization of ARF6
第 73 回 日本癌学会学術総会，2014 年 9 月 27 日，横浜

２．Sato, T., Ohkura, M., Nakai, J., Takamatsu, N., Yoshioka, K.
JSAP1 and JLP regulate kinesin-1-dependent axonal transport to prevent neuronal degeneration
第 37 回 日本神経科学大会，2014 年 9 月 13 日，横浜

＜外部資金＞

平成２６年度

日本学術振興会・研究拠点形成事業　アジア・アフリカ学術基盤形成型 6,800 千円（分担）

「東アジア地域における B 型肝炎ウイルス関連肝疾患の撲滅を目指した医学系人材の育成」

＜学内外との共同研究＞

１．共同研究者：福永 理己郎（大阪薬科大学）
「がん細胞の増殖における Mnk プロテインキナーゼと JSAP の機能的相互作用の解析」

２．共同研究者：上田 健（広島大学）
「ヘッジホッグシグナルを介した癌転移制御機構」

３．共同研究者：松永 司（金沢大学）
「紫外線応答における足場タンパク質 JSAP1, JLP の役割とその分子メカニズム」

４．共同研究者：高松 信彦（北里大学）

「足場タンパク質 JSAP1, JLP の機能解析」

５．共同研究者：山田 洋一（金沢大学）
「がん転移に関わる遺伝子発現制御ネットワークの情報学的解析」

腫瘍制御研究分野

＜研究室メンバー＞（2014 年現在）　　下線は研究指導

教授： 源 利成；　助教(TT)： 堂本貴寛
博士研究員： 廣瀬まゆみ(～3 月)，Ilia V. Pyko，堂口裕士(～11 月)
大学院博士課程：金子真美(本学心肺総合外科学)，北村祥貴(本学心肺総合外科学)，
下崎真吾(本学整形外科学)，富田泰斗(金沢医科大学一般・消化器外科学)
大学院修士課程： 佐々木規雄(本学保健学系；6 月～)
技能補佐員： 浅香敦子；　技能補佐員(ヒトがん組織バンク)： 阿部尚子
共同研究員： 小竹優範(厚生連高岡病院消化器外科)

【研究分野の概要と研究成果】

当研究分野は 1998 年に遺伝子診断の名称で開設されてから一貫して，消化器がんを中心にがんの多様な分子細胞病態と腫瘍外科学的特性について，基礎と臨床を密接に関係づける方向で研究を続けている．そして，その成果を難治がんや希少がんの病態解明と制御に応用することを検討している．川上和之(前准教授)の退職後，大腸がんの分子病理学的特性は外科系大学院の研究課題として継続している．

１．Wnt 経路に関わる新しい分子細胞機構の検討

Wnt 経路の制御破綻が固有のがん化シグナルを誘発する仕組みと，それを修飾する分子細胞機構について β-カテニンを中心に研究している．これまでに，大腸がんの腫瘍−宿主境界の腫瘍環境で活性化される β-カテニンを機軸とするがん化経路の病理作用を明らかにしてきた．そのなかで，β-カテニンが転写誘導する RNA 安定化因子として我々が同定した CRD-BP(coding region determinant-binding protein; Nature 2006)は c-Myc や IGF-II の mRNA 安定化や発現と相関し，大腸がんのリンパ節転移や病期の分子指標になることを示唆する結果が得られた(論文準備中)．

がんにおける β-カテニン活性化について，その分解複合体の構成因子やユビキチン経路による蛋白質安定性の調節異常を明らかにしてきた．β-カテニンの核移入は Wnt 経路活性化に必須であるが，分子内に核局在構造を持たない β-カテニンが細胞質と核を行き来する仕組みは明らかではない．本学 Richard Wong 教授の発案で，分子の核移送や排出に機能する核膜孔複合体因子(nucleoporins: Nups)と β-カテニンの発現の関連性，相互作用や機能解析を行い，β-カテニンの核−細胞質間移送に機能する Nup(s)の検索を始めた．これまでに，大腸がん細胞ではある種の Nup が β-カテニンや Tcf7L2(Tcf-4)の核内発現を調節していることを見出した．少数例の大腸がん症例を対象に，この Nup の発現が病期と逆相関する予備結果が得られ，β-カテニンの発現や局在との比較解析を開始した．この課題は大腸がんの Wnt 経路の分子病態の理解とともに，個体発生や分化など多様な生命現象の研究へ応用が期待される．

２．glycogen synthase kinase (GSK) 3β 阻害によるがん治療法の開発と応用

上記の Wnt 経路研究の過程で，大腸がんにおいて発現と活性亢進をしめす glycogen synthase kinase（GSK）3β が固有の分子経路を誘導して，がん細胞の生存，不死化，増殖を推進することを発見した（特願 2005-000133）．本学脳神経外科学，整形外科学，金沢医科大学腫瘍内科学・総医研と連携し，この「がん促進作用」は膵がんや膠芽腫，骨肉腫など難治，希少がんでも観察され，腫瘍細胞に高度の浸潤性と治療（抗がん剤，放射線）抵抗性を賦与することを見出した．そして，GSK3β 阻害の強力かつ特異的な抗腫瘍効果を細胞レベルと担がん動物で実証した．GSK3β 阻害作用を示す既存医薬品の転用（repurposing/repositioning）と抗がん剤を併用するがん治療法を共同開発し（特願 2010-185691, 2013-093072），膠芽腫（本学附属病院脳神経外科）と膵がん（金沢医科大学病院）を対象とする医師主導型臨床研究によりその安全性と抗腫瘍効果を試験している（UMIN-CTR 登録）．現在，GSK3β の病理作用をがんの代謝特性やオートファジーに着目して検討している．そして，がんの原始的な糖代謝（Warburg 効果）における GSK3β の責任作用を示唆する代謝産物の変化と，解糖系から酸化的リン酸化経路への起点を触媒する代謝酵素に GSK3β が影響していることを見出した．また，本酵素の阻害による消化管発がん予防や骨転移前立腺がん治療について，本学消化器外科学，同整形外科学，米国カリフォルニア大学サンディエゴ校外科学と共同研究を開始した．国内製薬企業 TM 社が開発した新規阻害剤や，GSK3β 制御性 micro-RNA の配列をもとに東工大生命理工学科と共同開発するアンチセンスオリゴ核酸のがん治療効果の解析，cell-based ELISA による新規阻害剤スクリーニング技術の開発などを通じて，GSK3β 経路を標的とするがんの病態解明と治療法開発の基盤を形成する．

３．エピジェネティクスを標的にするがん診断・治療法の開発

大腸がんを対象に，発がん径路をジェネティック・エピジェネティックな変化により説明・細分類し，診断・治療に応用することを目的としている．本課題は川上（前准教授）の指導で，本学心肺総合外科学大学院生と共同研究員が継続中である．

４．ヒト消化管がん組織検体資源化プロジェクト

がんの分子・細胞レベルの変化，代謝変動やがん動物モデルの解析から得られる結果を実際の病巣で具現化してはじめて，がんの臨床に導入できる．医科学研究に共通の要請である．この目的で，消化管がん研究や臨床研究の基礎資源として，2008 年から本事業を開始した．2010 年にこの事業を当研究所ヒトがん組織バンクに継承し，現在に至っている．この組織・バイオバンクをもとに国内外の機関と共同研究により，胃がんや大腸がんにおける Wnt 経路の分子病理特性（Nature 2006, Cancer Res 2009）やレトロポゾン，トレフォイル因子，RUNX3 などを対象とするエピジェネティック変化の解析による発がん，進行の分子機構を明らかにしてきた（Oncogene 2014, Gastroenterology 2011, Clin Cancer Res 2010, Gastroenterology 2010）．

【研究業績】

[註] 下線は研究室メンバー，在籍者，研究協力員および共同研究員

論文発表

原著

1. Chikano Y, Domoto T, Furuta T, Sabit H, Kitano-Tamura A, Pyko IV, Takino T, Sai Y, Hayashi Y, Sato H, Miyamoto KI, Nakada M, Minamoto T. Glycogen synthase kinase 3β sustains invasion of glioblastoma via the focal adhesion kinase, Rac1 and c-Jun N-terminal kinase-mediated pathway. *Mol Cancer Ther*, 2015, in press. 2014 Dec 10. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-14-0479. [Epub ahead of print]
2. Yoshimoto T, Takino T, Li Z, Domoto T, Sato H. Vinculin negatively regulates transcription of MT1-MMP through MEK/ERK pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 455 (3-4): 251-5, 2014. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.10.154. Epub 2014 Nov 6.
3. Kurklu B, Whitehead RH, Ong EK, Minamoto T, Fox JG, Mann JR, Judd LM, Giraud AS, Menheniott TR. Lineage-specific RUNX3 hypomethylation marks the preneoplastic immune component of gastric cancer. *Oncogene*, in press, 2015. 2014 Aug 4. doi: 10. 1038/onc.2014.233. [Epub ahead of print]
4. Oshima H, Ishikawa T, Yoshida GJ, Naoi K, Maeda Y, Naka K, Ju X, Yamada Y, Minamoto T, Mukaida N, Saya H, Oshima M. TNF-α/TNFR1 signaling promotes gastric tumorigenesis through induction of Noxo1 and Gna14 in tumor cells. *Oncogene* 33 (29): 3820-9, 2014. doi: 10.1038/onc.2013.356. Epub 2013 Aug 26.
5. Takino T, Yoshimoto T, Nakada M, Li Z, Domoto T, Kawashiri S, Sato H. Membrane-type 1 matrix metalloproteinase regulates fibronectin assembly and N-cadherin adhesion. *Biochem Biophys Res Commun* 450 (2): 1016-20, 2014. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.06.100. Epub 2014 Jun 26.

著書・総説

6. Minamoto T. Detection and characterization of oncogene mutations in preneoplastic and early neoplastic lesions. *Methods Mol Biol* 1105: 381-98, 2014. doi: 10.1007/978-1-62703-739-6_29.
7. 中田光俊，源 利成．脳腫瘍に対するドラッグリポジショニング—GSK3βを標的とした膠芽腫治療法—．癌と化学療法 41 (6): 720-4, 2014.

学会発表

国際学会

1. Toshinari Minamoto. GSK3β in cancer metabolism. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa（金沢国際がん生物学シンポジウム）& Symposium on Drug Discovery in Academics, January 23rd~24th, 2014, Kanazawa Excel Hotel Tokyu, Kanazawa, Japan.
2. Takahiro Domoto, Mayumi Hirose, Kenjiro Kami, Tomoyoshi Soga, Hiroyasu Esumi, Toshinari Minamoto. Inhibition of GSK3β rectifies aberrant glucose metabolism in colon cancer cells. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa（金沢国際がん生

物学シンポジウム）& Symposium on Drug Discovery in Academics, January 23rd~24th, 2014, Kanazawa Excel Hotel Tokyu, Kanazawa, Japan.

3. Mayumi Hirose, Takahiro Domoto, Toshinari Minamoto. Therapeutic effect of the cocktail of GSK3β-inhibiting drugs. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa（金沢国際がん生物学シンポジウム）& Symposium on Drug Discovery in Academics, January 23rd~24th, 2014, Kanazawa Excel Hotel Tokyu, Kanazawa, Japan.

4. Takeo Shimasaki, Nobuhiko Ueda, Natsuko Kawada,Tomoe Nomura, Kaho Yamada, Hideto Yamada, Ranji Hayashi, Kazuhiro Matsunaga, Tomoki Fukuyama, Toshimi Otsuka, Masakatsu Nakamura, Nobuyuki Toshikuni, Hisakazu Shiroeda, Takeo Kosaka, Naohisa Tomosugi, Toshinari Minamoto, Tomiyasu Arisawa. Phase I clinical trial of the combination therapy using gemcitabine and GSK3β inhibiting drugs for gemcitabine-resistant advanced pancreatic cancer patients. Digestive Disease Week (DDW) 2014, May 3rd~6th, 2014, McCormick Place Convention Center, Chicago, Illinois, U. S. A.

5. Shingo Shimozaki, Norio Yamamoto, Hideji Nishida, Hiroaki Kimura, Akihiko Takeuchi, Takashi Kato, Yu Aoki, Takashi Higuchi, Toshinari Minamoto, Hiroyuki Tsuchiya. Molecular targeted therapy for osteosarcoma using glycogen synthase kinase-3 beta (GSK-3β) inhibitors. American Society of Clinical Oncology (ASCO) Annual Meeting 2014, May 30th~June 3rd, 2014, McCormick Place, Chicago, Illinois, U. S. A.

6. Akane Moyori, Akiko Kobayashi, Kayo Imamoto, Hidehito Tochio, Toshinari Minamoto, Richard Wong. Diverse function of Rae1 in cell cycle. The 26th International Conference of the Korean Society for Molecular and Cellular Biology, October 21st~23rd, 2014, Seoul, Korea.

7. Takuya Furuta, Mitsutoshi Nakada, Hemuragul Sabit, Dong Yu, Katsuyoshi Miyashita, Toshinari Minamoto, Yutaka Hayashi. GSK3β inhibitory drugs attenuate invasion of glioblastoma cell**s.** 19th Annual Scientific Meeting and Education Day of the Society for Neuro-Oncology, November 13th~16th, 2014; Loews Hotel South Beach, Miami, Florida, U. S. A.

8. Takeo Shimasaki, Naohisa Tomosugi, Toshinari Minamoto. Identification of the GSK3β-mediated secretory protein responsible for chemotherapy-induced epithelial-mesenchymal transition (EMT) in pancreatic cancer cells. The 8th International Conference of the International Society of Gastroenterological Carcinogenesis: Symposium 4 “New Mechanisms of Cancer Metastasis and Invasion”, November 13th~14th, 2014, Hotel Nikko Fukuoka, Fukuoka, Japan.

9. Yasuto Tomita, Seiko Miura, Jun Fujita, Emi Morioka, Daisuke Kaida, Toshio Oonishi, Yukako Oono, Miki Noguchi, Hiroshi Funaki, Hideto Fujita, Shinichi Kinami, Yasuharu Nakano, Nobuhiko Ueda, Takeo Kosaka, Toshinari Minamoto. Expression and clinical relevance of CRD-BP in colorectal cancer. The 8th International Conference of the International Society of Gastroenterological Carcinogenesis: Symposium 2 “New Frontier in Cancer Genome Research”, November 13th~14th, 2014, Hotel Nikko Fukuoka, Fukuoka, Japan.

国内学会

10. 堂本貴寛，廣瀬まゆみ，紙 健次郎，曽我朋義，江角浩安，源 利成．大腸がんの糖代謝における GSK3β の機能解析．第 2 回がんと代謝研究会，2014 年 7 月 10 日～11 日，東京理科大学葛飾キャンパス，東京．

11. 島崎猛夫，中田光俊，上田順彦，有沢富康，小坂健夫，源 利成，友杉直久．GSK3β 阻害作用を持つ医薬品のリポジショニングによる進行膵癌の新規治療法開発．第 12 回日本臨床腫瘍学会学術集会，2014 年 07 月 17 日～19 日，福岡国際会議場，福岡．

12. Takahiro Domoto, Kenjiro Kami, Mayumi Hirose, Ilia V. Pyko, Tomoyoshi Soga, Hiroyasu Esumi, Toshinari Minamoto. Involvement of GSK3β in aberrant glucose metabolism in colon cancer.（堂本貴寛，紙 健次郎，廣瀬まゆみ，ピコ イリア，曽我朋義，江角浩安，源 利成．大腸がんの糖代謝における GSK3β の機能解析）第 73 回日本癌学会学術総会，2014 年 9 月 25 日～27 日，パシフィコ横浜，横浜．

13. Mayumi Hirose, Takahiro Domoto, Toshinari Minamoto. Repurposing of the GSK3β-inhibiting drugs for treatment of gastrointestinal cancer.（廣瀬まゆみ，堂本貴寛，源 利成．GSK3β 阻害効果を持つ医薬品の適用転換による消化器がん治療法の検討）第 73 回日本癌学会学術総会，2014 年 9 月 25 日～27 日，パシフィコ横浜，横浜．

14. Takeo Shimasaki, Naohisa Tomosugi, Tomiyasu Arisawa, Toshinari Minamoto. Gemcitabine triggers epithelial-mesenchymal transition (EMT)-like change and enhances cell motility in pancreatic cancer cells.（島崎猛夫，友杉直久，有沢富康，源 利成．化学療法による膵がん細胞の EMT 誘導と細胞遊走能への影響）第 73 回日本癌学会学術総会，2014 年 9 月 25 日～27 日，パシフィコ横浜，横浜．

15. Hiroshi Doguchi. Hyperbaric oxygen therapy (HBOT) has impacted on mouse skin two-stage chemical carcinogenesis.（堂口裕士．マウス皮膚二段階化学発がんに対する高圧酸素療法の影響）第 73 回日本癌学会学術総会，2014 年 9 月 25 日～27 日，パシフィコ横浜，横浜．

16. 古田拓也，中田光俊，淑瑠ヘムラサビット，宮下勝吉，源 利成，林 裕．GSK3β 阻害医薬品の膠芽腫浸潤抑制効果（Attenuation of glioblastoma cell invasion by GSK3β-inhibitory drugs）．第 73 回日本脳神経外科学会学術総会，2014 年 10 月 09 日～11 日，グランドプリンスホテル新高輪，東京．

17. 島崎猛夫，友杉直久，源 利成．膵癌細胞の抗がん剤誘導性上皮間葉転換（EMT）を誘発する分泌型蛋白質の同定と GSK3β による制御．第 25 回日本消化器癌発生学会総会：シンポジウム４「がん転移・浸潤の新たなメカニズム」，2014 年 11 月 13 日，14 日，ホテル日航福岡，福岡．

18. 富田泰斗，三浦聖子，藤田 純，森岡絵美，甲斐田大資，大西敏雄，大野由夏子，野口美樹，舟木 洋，藤田秀人，木南伸一，中野泰治，上田順彦，小坂健夫，源 利成．大腸癌における CRD-BP の発現と臨床病理学的因子との関連．第 25 回日本消化器癌発生学会総会：シンポジウム２「がんゲノム研究の新展開」，2014 年 11 月 13 日，14 日，ホテル日航福岡，福岡．

19. 古田拓也，中田光俊，淑瑠ヘムラサビット，董 宇，宮下勝吉，源 利成，林 裕．既存薬転用による膠芽腫の GSK3β 標的療法（GSK3β-targeted therapy against glioblastoma by drug repositioning）．第32回日本脳腫瘍学会学術集会，2014年11月30日～12月02日，シェラトン・グランデ・トウキョウベイ・ホテル，千葉浦安．

講演，その他

20. 源 利成．がんのエネルギー代謝ーがんは甘いものが大好きー．石川県立金沢泉丘高等学校 SSH 模擬講義，2014 年 1 月 17 日，金沢大学医学類，金沢．

21. 源 利成．大腸がん研究から見つけた新しいがん治療法．金沢大学公開講座：がん研究の最前線，2013 年 6 月 28 日，金沢大学サテライトプラザ西町，金沢．

22. 源 利成．がんの研究と医療・看護の資質向上．2014（平成 26）年度看護師資質向上研修【がん看護】，2014 年 10 月 10 日，金沢大学附属病院，金沢．

外部資金（2014 年度が含まれる課題）

1. 2014－2015 年度 科学研究費補助金（研究活動スタート支援）：課題番号 26893096
   ピコ イリア（代表）
   課題：Development of combined cellular and molecular target-directed therapies for glioblastoma
   研究経費：2,300 千円

2. 2013－2014 年度 科学研究費補助金（挑戦的萌芽）：課題番号 25670572
   源 利成（代表），杉山直幸（連携）
   課題：蛋白質リン酸化特性の網羅的解析による大腸がんの病態解明と制御への応用
   研究経費：3,770 千円

3. 2013－2015 年度 科学研究費補助金（若手研究Ｂ）：課題番号 25860233
   堂本貴寛（代表）
   課題：エネルギー代謝特性に基づく消化器がん病態解明と制御への応用
   研究経費：3,770 千円

4. 2014－2016 年度 科学研究費補助金（基盤研究Ｂ）：課題番号 26293322
   中田光俊（代表），源 利成（連携）
   課題：ドラッグリポジショニングによる悪性グリオーマに対する新規化学療法の基盤構築
   研究経費：6,760 千円

奨学寄附金

5. 2014 年 3 月　財団法人石川県予防医学協会　800 千円

6. 2014 年 3 月　財団法人石川県予防医学協会　400 千円

共同研究

1. 2014 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
   島崎猛夫，ほか
   課題：膵がんエキソソームと GSK3β の交絡的病理作用の解明とがん治療薬スク

リーニングへの応用

2. 2014 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
松田陽子，ほか
課題：Nestin のリン酸化制御による，膵癌分子標的治療の開発

3. 2014 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
小坂健夫，富田泰斗，ほか
課題：大腸がんにおける Wnt 経路標的分子 CRD-BP の分子病理学的特性と病態の解明

4. 2014 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
吉村健太郎，ほか
課題：質量分析型迅速がん診断システムを用いた大腸がんの新規診断法の開発と発がんメカニズムの解明

5. 2014 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
宮下知治，ほか
課題：GSK3β 阻害による食道発癌の予防とその機序の解明

6. 2014 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
山本憲男，下崎真吾，ほか
課題：骨肉腫の GSK3β を標的とする新規治療法の開発と分子メカニズム

特許出願

なし

報　道

該当なし

機能ゲノミクス研究分野

＜研究スタッフ＞

教授：　鈴木健之　　助教：　石村昭彦

助教：　寺島農　　博士研究員：　丹下正一朗

事務補佐員：　小田原敦子

大学院生（博士課程）：　Zanabazar Enkhbaatar　Dulamsuren Oktyabri

大学院生（修士課程）：　松本晃汰

【 研 究 概 要 】

当研究分野では，レトロウイルス感染発がんモデルマウスを用いて，がん関連遺伝子の探索を進め，新しい候補としてヒストンやDNAのメチル化修飾に関与する酵素の遺伝子を同定してきた。これらの酵素が引き起こすエピジェネティックな制御の異常は，様々ながんにおいて検出されており，次世代のがん治療の標的として現在注目されている。これまでの解析から，これらの酵素は，がん細胞の増殖ばかりでなく，細胞の運動・浸潤，上皮･間葉転換，薬剤耐性獲得，低酸素応答など，がんの悪性進展のさまざまな過程にも関与することが示唆されており，酵素の新しい役割を明らかにするため，機能解析を継続している。

＜今年度の研究成果，進行状況と今後の計画＞

１）上皮-間葉転換（EMT）におけるヒストンH3のメチル化制御

ヒストンH3の4番目のLys（H3K4）の脱メチル化酵素KDM5Bは，様々な種類のがんで高発現が見られ，がん細胞の浸潤および上皮･間葉転換（EMT）を促進する活性をもつことをこれまでに報告した。しかし，KDM5Bの発現をノックダウンしても，TGF-βなど外部刺激によるEMTの誘導は阻害できないことがわかった。そこで今回，EMTにおいてH3K4と同様に重要なH3K27のメチル化制御に関わる酵素の役割を解析した。PRC2（Polycomb repressive complex-2）は，H3K27のメチル化を担う酵素複合体であり，EZH2メチル化酵素およびSUZ12，EED，RBBP4/7のコアコンポーネントから構成される。私達は，これらの構成因子のうちH3K27me3修飾を認識するEEDタンパク質だけが，TGF-β刺激によるEMTプロセスで発現誘導されることを見いだした。EEDの発現をノックダウンすると，PRC2のH3K27メチル化活性が低下し，転写抑制的クロマチン構造の誘導が阻害されることによって，EMTに重要なE-cadherinやmicroRNA-200ファミリー遺伝子の発現抑制が解除され，TGF-βによるEMT誘導がブロックされることが示された（論文１）。さらに私達は，PRC2コアコ

ンポーネント以外にも，PRC2 複合体をクロマチンにリクルートする役割を担うJARID2 タンパク質が，TGF-β刺激による EMT プロセスで顕著に発現誘導されることを見つけた。JARID2 の発現をノックダウンすると，PRC2 の標的遺伝子へのリクルートが阻害されて，標的遺伝子の発現抑制が解除され，TGF-βによる EMT 誘導がブロックされることが示された（論文２）。このように，PRC2 によるヒストン H3K27 のメチル化の制御が，TGF-βなどの外部刺激による EMT の進行に極めて重要であることが示された。さらに，PRC2 の触媒サブユニットである EZH2 メチル化酵素の阻害剤 GSK126 を用いると，EMT の誘導をブロックできたことから，この阻害剤のがん治療への有用性が示された。また, 細胞内で JARID2 を強制発現させただけでは, PRC2 の標的遺伝子へのリクルートや EMT の誘導が起こらないことから，TGF-β刺激によって誘導あるいは活性化される何らかの因子が PRC2 の機能に必要であることが示唆される。私達は，この新しい制御因子の有力な候補を現在同定しており，その機能を詳細に調べている。

２）がん関連遺伝子候補 JMJD5 の乳癌における機能

候補遺伝子のひとつ JMJD5 の生理機能や発がんにおける役割を解明するために，*Jmjd5* 欠損マウスを作製して解析してきた。その結果，JMJD5 はがん抑制遺伝子産物 p53 のシグナル経路を制御し，正常な個体発生に必須な因子であることがわかった。本年度は，JMJD5 とヒトのがん発症・悪性化との関係を重点的に調べ，悪性度の高い乳癌として知られるトリプルネガティブ型乳癌で顕著に JMJD5 の発現が低下していることや，低酸素刺激後の乳癌細胞株において JMJD5 の発現抑制が起きることを検出した。さらに，乳癌細胞株において JMJD5 の発現をノックダウンすると，癌幹細胞様の性質を有するスフィアの形成能が有意に上昇することを見いだした。こうした結果をふまえて，乳癌の悪性進展過程における JMJD5 の役割と分子レベルでの作用機序について解析を進行中である。

３）DNA の脱メチル化に関与する酵素のがん発症・悪性化における役割

DNA の積極的脱メチル化の第一段階を担う TET1 酵素の発現は, がん細胞株の間で高発現と極端な低発現という二極化の傾向を示し，細胞のゲノムの CpG アイランドメチル化形質(CIMP)と関係性があることをこれまでに見いだしてきた。本年度は，TET1 の発現抑制と CIMP 表現型が，細胞に炎症を誘導するシグナル経路と密接に関係することを見いだし，CIMP の誘導と成立のメカニズムを明らかにするきっかけを得ることができたと考える。また，がん細胞において TET1 酵素の発現をノックダウンすると，EMT の誘導が阻害されることが明らかになった。EMT 誘導プロセスにおいては, TET1 が DNA の脱メチル化制御以外の機能を利用している可能性が示唆されており，TET1 の新しい作用機構を解明するため実験を進めている。

【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

原著

（研究室主体）

1. Oktyabri D, Tange S, Terashima M, Ishimura A and Suzuki T. EED regulates epithelial-mesenchymal transition of cancer cells induced by TGF-beta. Biochem. Biophys. Res. Commun, 453, 124-130, 2014.
2. Tange S, Oktyabri D, Terashima M, Ishimura A and Suzuki T. JARID2 is involved in Transforming Growth Factor-beta-induced epithelial-mesenchymal transition of lung and colon cancer cell lines. PLoS One, 9(12):e115684, 2014.

＜学会発表＞

国際学会

1. Tange S. KDM5B histone demethylase controls EMT of cancer cells by regulating the expression of microRNA-200 family. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa & Symposium on Drug Discovery in Academics (金沢 2014 年 1 月)
2. Ishimura A, Tange S, Oktyabri D, Enkhbaatar Z, Hara T and Suzuki T. Physiological role of Jmjd5, a novel p53 signal regulator, in embryonic development. International Symposium in Tumor Biology in Kanazawa & Symposium on Drug Discovery in Academics (金沢 2014 年 1 月)
3. Tange S, Enkhbaatar Z, Terashima M and Suzuki T. A role for KDM5B on epithelial-mesenchymal transition in cancer cells. The 9th International Symposium of Institute Network (大阪 2014 年 6 月)

国内学会

1. Suzuki T, Tange S, Oktyabri D, Terashima M and Ishimura A. Functional characterization of histone demethylases in the process of epithelial-mesenchymal transition of cancer cells. 第73回日本癌学会学術総会（横浜2014年9月）
2. Tange S, Enkhbaatar Z, Terashima M and Suzuki T. A Role for PLU1 on epithelial-mesenchymal transition in cancer cells. 平成26年度がん若手研究者ワークショップ（蓼科2014年9月）
3. Ishimura A, Tange S, Oktyabri D, Terashima M and Suzuki T. Screening of histone modifying enzymes involved in cancer malignancies. 第37回日本分子生物学会年会（横浜2014年11月）

4.　Tange S, Oktyabri D, Terashima M, Ishimura A and Suzuki T.　EED regulates epithelial-mesenchymal transition of cancer cells induced by TGF-beta. 第37回日本分子生物学会年会（横浜2014年11月）

＜外部資金＞

1. 文部科学省科学研究費補助金, 基盤研究（C）, 研究代表者　鈴木健之,　1,200 千円
研究課題名「ウイルス挿入変異法で同定されたエピゲノム制御因子による疾患発症機構の解析」

2. 文部科学省科学研究費補助金, 新学術領域研究（がん微小環境）, 研究分担者　鈴木健之,　1,000 千円
研究課題名「呼吸器悪性腫瘍の微小環境の特性を標的とした新規制御法の開発」

3. 文部科学省科学研究費補助金, 基盤研究（C）, 研究代表者　石村昭彦,　1,300 千円
研究課題名「がん関連遺伝子 Jmjd5 の新しい遺伝子発現制御機構の解析」

4. 文部科学省科学研究費補助金, 若手研究（B）, 研究代表者　丹下正一朗,　1,700 千円
研究課題名「DNA 脱メチル化酵素 TET1 のがん細胞における機能解析」

5. 文部科学省科学研究費補助金, 研究活動スタート支援, 研究代表者　寺島農, 1,100 千円
研究課題名「がん発症，悪性化における non-coding RNA の新しい役割」

＜共同研究＞

1.　木村　宏　教授　東京工業大学大学院生命理工学研究科　がんの悪性進展過程におけるヒストンの翻訳後修飾変化の解析

2.　小出　寛　准教授　金沢大学医薬保健研究域医学系　DNA の積極的脱メチル化に関わる酵素群の幹細胞およびがん細胞における役割の解析

3.　中田　光俊　教授　金沢大学医薬保健研究域医学系　神経腫瘍における IDH 酵素と TET 酵素の関係性の解析

4.　仙波　憲太郎　教授　早稲田大学理工学術院先進理工学部　アンプリコン導入乳癌発症モデルにおけるエピゲノム変化の解析

がん分子標的医療開発プログラム

腫瘍内科研究分野

＜研究スタッフ＞

教　授	矢野　聖二		
准教授	安本　和生	臨床准教授	大坪　公士郎
講　師	毛利　久継	助　教	山下　要
助　教	竹内　伸司	助　教	衣斐　寛倫
助　教	南條　成輝	助　教	小谷　浩
医　員	谷本　梓	特任助手	北　賢二
博士研究員	福田　康二	修士研究員	新井　祥子
大学院生	北井　秀典		
事務補佐員	岡本　恵子	事務補佐員	堂林　淳子

【 研 究 概 要 】

がん治療の最大の障壁は，転移と薬剤耐性である。当研究室では，肺がん，胸膜中皮腫，膵がん，胃がんについて，転移や浸潤の分子機構解明とそれに基づいた分子標的治療開発および薬剤耐性（自然耐性および獲得耐性）の克服に向けたトランスレーショナルリサーチを行っている。特にわが国のがん死亡原因第 1 位の肺がんにおいて，EGFR（上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害薬（EGFR-TKI : イレッサやタルセバ）耐性の診断および治療法確立を目指し総力を挙げて研究を進めている。今年度は，BIM 遺伝子多型に起因した耐性をヒストン脱アセチル化酵素(HDAC）阻害薬併用にて解除できることを明らかにし，医師主導治験開始に向けた準備を進めた。

また，診療部門であるがん高度先進治療センターとしては，外来および入院患者の診療に加え，石川県がん診療連携拠点病院である金沢大学附属病院のがん医療の中核として，化学療法，がん相談，がん登録，がん研修会などの推進のための活動を担っている。

＜2014 年の研究成果，進捗状況＞

1. 東アジア人特異的に存在する BIM 遺伝子多型が惹起する EGFR 変異肺がんの EGFR-TKI 耐性を HDAC 阻害薬が克服することを明らかにした（Cancer Res 2013）。その基礎研究成果をもとに，EGFR 変異肺がん 400 例の BIM 遺伝子多型を前向きに解析し，BIM 遺伝子多型を有する EGFR 変異肺がんの臨床的特徴を明らかにする研究（PEOPLE-J）を 22 施設の多施設共同研究として開始し，平成 26 年 12 月 15 日現在で 228 例を登録し 24 例の BIM 遺伝子多型陽性症例を検出した。さらに，BIM 遺伝子多型陽性 EGFR 変異肺がんを対象にゲフィチニブと HDAC 阻害薬（ボリノスタット）併用の安全性を検討する多施設共同第 I 相試験（VICTORY-J : NCT02151721）を医師主導治験として平成 26 年 6 月から開始した。（竹内，南條，矢野）

2. 健常人（942 例）および肺がん症例（765 例）の末梢血単核球から抽出した DNA を用い，PCR 法で BIM 遺伝子多型の有無を測定し，健常人と肺がん患者における多型の頻度，肺がん症例における BIM 遺伝子多型と年齢，性別，組織型，EGFR 変異などとの相関を検討した。BIM 遺伝子多型の頻度は健常人 13.4%，肺がん患者 13.2%と差がなかった。また，肺がん患者において BIM 遺伝子多型は，年齢，

性別，組織型，EGFR 変異の有無とも有意な相関がなかった。以上より，EGFR 変異肺がんにおける EGFR-TKI 抵抗性と相関するとされている BIM 遺伝子多型は，EGFR 変異肺がんを含む肺発がんには無関係であることが明らかとなった。（衣斐，竹内，矢野）

3. ALK 融合遺伝子陽性肺がんに認可された ALK 阻害薬アレクチニブの耐性を，微小環境が産生しうる増殖因子が誘導することを明らかにした。さらに，HGF が MET 活性化により誘導する耐性は MET 阻害薬の併用で, EGFR リガンドが EGFR 活性化により誘導する耐性は EGFR 阻害薬の併用で解除できることを報告した。（谷本，竹内，南條，矢野）

4. Ganglioside GM2(GM2)は細胞膜上に発現される糖脂質で，神経芽腫や膠芽腫，小細胞肺がんに高発現されており，正常細胞にはほとんど発現がないことから，がん治療標的の一つと考えられている。今回ヒト中皮腫細胞が GM2 を高発現していることを見出した。さらに，抗 GM2 抗体(BIW-8962)が単核球の ADCC を誘導し，GM2 を発現する中皮腫の細胞死を誘導し，SCID マウスにおける同所移植モデルにおいても中皮腫細胞の進展を抑制することを明らかにし特許出願した（米国出願 61/734087）。さらに，26 例の臨床検体の解析で，58%の中皮腫が GM2 を高発現していること明らかにし，抗 GM2 抗体が中皮腫に有望な分子標的薬であることを報告した。（Li，Wang，矢野）

5. HGF は EGFR 変異肺がんにおいて EGFR-TKI 耐性を誘導するのみならず，MET 活性化によりがん細胞からの VEGF 産生を刺激し血管新生を促進することで腫瘍進展を促進しているが，EGFR-TKI に MET 阻害薬に加え VEGF 阻害薬を併用すると，最も強力に血管新生を阻害するのみならず，休薬後の血管新生のリバウンドも抑制し，腫瘍の再増大を抑制することを明らかにした。（竹内，南條，矢野）

＜今後の計画＞

1. BIM 遺伝子多型を有する EGFR 変異肺がんの臨床的特徴を明らかにする疫学研究（NEJ002-BIM, PEOPLE-J）を継続して行う。

2. BIM 遺伝子多型を有する EGFR 変異肺がんにおけるボリノスタット＋ゲフィチニブ併用療法の安全性を検討する医師主導治験(VICTORY-J)を継続して実施する。

3. EGFR-TKI 耐性を克服する治療法を開発する HGF による EGFR-TKI 耐性肺がん症例の実用的な診断法を確立する。

4. 肺がんの分子標的薬耐性の新たな分子機構を解明し，有効な耐性克服治療法の確立を目指した研究を推進する。

5. *in vivo* イメージングを用いた肺がんの脳転移および骨転移モデルを確立し，分子機構解析および治療法開発を推進する。

6. 胃がん，膵がん，胸膜中皮腫などに対する分子標的治療法の開発に向けた基礎的検討を展開する。

【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

原著論文

（研究室主体）

1. Nanjo S, Nakagawa T, Takeuchi S, Kita K, Fukuda K, Nakada M, Uehara H, Nishihara H, Hara E, Uramoto H, Tanaka F, Yano S. *In vivo* imaging models of bone and brain metastases and pleural carcinomatosis with a novel human EML4-ALK lung cancer cell line. **Cancer Sci** in press.

2. Ebi H, Oze I, Nakagawa T, Ito H, Hosono S, Matsuda F, Takahashi M, Takeuchi S, Sakao Y, Hida T, Faber AC, Tanaka H, Yatabe Y, Mitsudomi T, Yano S, Matsuo K. Lack of association between the BIM deletion polymorphism and the risk of lung cancer with and without EGFR mutations. **J Thorac Oncol** 2014; [Epub ahead of print]

3. Li Q, Wang W, Machino Y, Yamada T, Kita K, Oshima M, Sekido Y, Tsuchiya M, Suzuki Y, Nan-Ya K, Iida S, Nakamura K, Iwakiri S, Itoi K, Yano S. Therapeutic activity of glycoengineered anti-GM2 antibodies against malignant pleural mesothelioma. **Cancer Sci** 2014; [Epub ahead of print]

4. Ohtsubo K, Yamada T, Zhao L, Jin TF, Takeuchi S, Mouri H, Yamashita K, Yasumoto K, Fujita N, Kitagawa H, Ohta T, Ikeda H, Yano S. Expression of Akt kinase-interacting protein 1, a scaffold protein of the PI3K/PDK1/Akt pathway, in pancreatic cancer. **Pancreas** 2014; 43(7): 1093-100.

5. Nakade J, Takeuchi S, Nakagawa T, Ishikawa D, Sano T, Nanjo S, Yamada T, Ebi H, Zhao L, Yasumoto K, Matsumoto K, Yonekura K, Yano S. Triple inhibition of EGFR, Met, and VEGF suppresses regrowth of HGF-triggered, erlotinib-resistant lung cancer harboring an EGFR mutation. **J Thorac Oncol** 2014; 9(6): 775-83.

6. Tanimoto A, Yamada T, Nanjo S, Takeuchi S, Ebi H, Kita K, Matsumoto K, Yano S. Receptor ligand-triggered resistance to alectinib and its circumvention by Hsp90 inhibition in EML4-ALK lung cancer cells. **Oncotarget** 2014; 15; 5(13): 4920-8.

（共同研究）

1. Ozaki S, Kawahara E, Maenaka S, Hoang NV, Oyama T, Imai M, Oda M, Yano S. Distinct allelic expression patterns of imprinted IGF2 in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung. **Oncol Lett** 2014; 8(6): 2561-2564.

2. Moriya M, Yamada T, Tamura M, Ishikawa D, Hoda MA, Matsumoto I, Klepetko W, Oda M, Yano S, Watanabe G. Antitumor effect and antiangiogenic potential of the mTOR

inhibitor temsirolimus against malignant pleural mesothelioma. **Oncol Rep** 2014; 31(3): 1109-15.

3. Faber AC, Coffee EM, Costa C, Dastur A, Ebi H, Hata AN, Yeo AT, Edelman EJ, Song Y, Tam AT, Boisvert JL, Milano RJ, Roper J, Kodack DP, Jain RK, Corcoran RB, Rivera MN, Ramaswamy S, Hung KE, Benes CH, Engelman JA. mTOR inhibition specifically sensitizes colorectal cancers with KRAS or BRAF mutations to BCL-2/BCL-XL inhibition by suppressing MCL-1. **Cancer Discov** 2014; 4(1): 42-52.

4. Costa C, Ebi H, Martini M, Beausoleil S, Faber AC, Jakubik C, Huang A, Wang Y, Nishtala M, Zhao J, Rikova K, Hirsch E, Benes CH, Engelman JA. Measurement of PIP3 levels reveals an unexpected role for p110β in early adaptive responses to p110α-specific inhibitors in luminal breast cancers. **Cancer Cell,** in press.

5. Terashima T, Mizukoshi E, Arai K, Yamashita T, Yoshida M, Ota H, Onishi I, Kayahara M, Ohtsubo K, Kagaya T, Honda M, Kaneko S. P53, hTERT, WT-1, and VEGFR2 are the most suitable targets for cancer vaccine therapy in HLA-A24 positive pancreatic adenocarcinoma. **Cancer Immunol Immunother** 2014; 63(5): 479-89.

総説

1. Takeuchi S, Yano S. Clinical significance of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors: Sensitivity and resistance. **Respiratory Investigation** 2014; 52(6): 348-56.

2. Yano S, Nakagawa T. The current state of molecularly targeted drugs targeting HGF/Met. **Jpn J Clin Oncol** 2014; 44(1): 9-12.

3. Ebi H, Faber AC, Engelman JA, Yano S. Not just gRASping at flaws: finding vulnerabilities to develop novel therapies for treating KRAS mutant cancers. **Cancer Science** 2014; 105(5): 499-505.

4. 矢野聖二. 肺がん治療の進歩 **日本内科学会雑誌** 103(3): 699-704, 2014

5. 矢野聖二. EGFR 阻害薬耐性とその克服. **Pharma Media** 32(11): 21-5, 2014

6. 毛利久継, 矢野聖二. 腎毒性 **消化器癌化学療法** (改)4: 345-7, 2014

7. 安本和生, 矢野聖二. MET を標的としたがん治療の可能性 **腫瘍内科** 13(6): 730-40, 2014

8. 山下　要, 矢野聖二. 分子標的治療薬：悪性黒色腫・甲状腺癌 **日本胸部臨床**

73(2): 179-90, 2014

9. 竹内伸司, 矢野聖二. BIM 遺伝子多型と EGFR-TKI 耐性. **分子呼吸病** 18(1): 66-9, 2014

10. 衣斐寛倫, 矢野聖二. 低分子化合物の現状と展望：概論 **最新がん薬物療法学** 72(増 2): 165-9, 2014

11. 衣斐寛倫. ゲノム解析技術を用いた薬物療法の最適化へのアプローチ **腫瘍内科** 14: 62-8, 2014

12. 衣斐寛倫, 矢野聖二. 抗悪性腫瘍薬（分子標的薬）**Pocket Drugs 2014** 636-54, 2014

13. 谷本　梓, 矢野聖二. ROS1 融合遺伝子と分子標的治療薬(解説) **呼吸器内科** 26(2): 126-32, 2014

＜学会発表・国内＞

1. 第 68 回日本胃癌学会総会　安本和生. WS「スキルス胃癌の治療戦略」 スキルス胃癌進展におけるサイトカインからみた分子機構の解明と特異的な標的療法の開発. 2014 年 3 月　横浜

2. 第 111 回日本内科学会講演会　矢野聖二.　日本における腫瘍内科教育の今後～分子標的薬体制の克服絵を目指した研究を通して～. 2014 年 4 月　東京

3. 第 111 回日本内科学会講演会　毛利久継, 谷本　梓, 小谷　浩, 南條成輝, 竹内伸司, 衣斐寛倫, 大坪公士郎, 矢野聖二. 当科における原発不明癌の治療成績. 2014 年 4 月　東京

4. 第 111 回日本内科学会講演会　小谷　浩, 谷本　梓, 南條成輝, 竹内伸司, 衣斐寛倫, 毛利久継, 山下　要, 大坪公士郎, 安本和生, 矢野聖二.　当科における高用量シスプラチン併用化学療法時のホスアプレピタントの使用経験. 2014 年 4 月　東京

5. 第 111 回日本内科学会講演会　谷本　梓, 小谷　浩, 南條成輝, 竹内伸司, 衣斐寛倫, 毛利久継, 大坪公士郎, 矢野聖二. 当科における悪性軟部腫瘍に対する Pazopanib の使用経験. 2014 年 4 月　東京

6. 第 100 回日本消化器病学会総会　大坪公士郎, 毛利久継, 山下　要, 安本和生, 矢野聖二. 膵疾患に合併した膵外分泌機能不全に対するパンクレリパーゼの効

果に関する検討.　2014 年 4 月　東京

7. 第 54 回日本呼吸器学会学術講演会　竹内伸司,　矢野聖二.　EGFR 変異肺がんの EGFR-TKI 耐性.　2013 年 4 月　京都

8. 第 54 回日本呼吸器学会学術講演会　谷本　梓,　山田忠明,　南條成輝,　竹内伸司,　衣斐寛倫,　矢野聖二.　ALK 転座陽性肺癌においてリガンド依存性バイパスシグナルが惹起する選択的 ALK 阻害薬耐性に対する Hsp90 阻害薬の効果.　2014 年 4 月　京都

9. 第 87 回日本消化器内視鏡学会総会　大坪公士郎,　毛利久継,　山下　要,　安本和生,　井上　大,　蒲田敏文,　池田博子,　矢野聖二.　自己免疫性膵炎における EUS, EUS-FNA の有用性に関する検討.　2014 年 5 月　博多

10. 第 87 回日本消化器内視鏡学会総会　毛利久継,　大坪公士郎,　山下　要,　安本和生,　中川原寿俊,　太田哲生,　矢野聖二.　膵・胆道癌に合併した胆道出血 3 例の検討.　2014 年 5 月　博多

11. 第 23 回日本癌病態治療研究会　安本和生.　HGF/EGFR リガンドを標的とした胃癌標的治療法の開発.　2014 年 6 月　岐阜

12. 第 18 回日本がん分子標的治療学会学術集会　矢野聖二.　肺がんの分子標的治療薬耐性の機構解明と耐性克服治療開発.　2014 年 6 月　仙台

13. 第 18 回日本がん分子標的治療学会学術集会　竹内伸司,　矢野聖二.　EGFR-TKI 耐性とその克服.　2014 年 6 月　仙台

14. 第 23 回日本がん転移学会学術集会・総会　矢野聖二.　肺がんの骨転移のメカニズムと分子標的治療.　2014 年 7 月　金沢

15. 第 23 回日本がん転移学会学術集会・総会　安本和生,　矢野聖二.　MET を標的した腹膜播種胃癌標的治療法の開発.　2014 年 7 月　金沢

16. 第 23 回日本がん転移学会学術集会・総会　竹内伸司,　佐野峻子,　原 英二,　矢野聖二.　発光イメージングを用いたマウス小細胞肺癌多臓器転移モデルにおける Hsp90 阻害薬の効果.　2014 年 7 月　金沢

17. 第 23 回日本がん転移学会学術集会･総会　南條成輝,　中川学之,　竹内伸司,　原英二,　矢野聖二.　in vivo イメージングモデルを用いた EML4-ALK 融合遺伝子肺がん株の胸腔移植モデル.　2014 年 7 月　金沢

18. 第 45 日本膵臓学会大会　大坪公士郎,　山田忠明,　金　鉄峰,　Lu Zhao,　竹内伸

司, 毛利久継, 山下　要, 安本和生, 藤田直也, 北川裕久, 太田哲生, 池田博子, 矢野聖二. 膵癌における新規足場蛋白 Akt kinase-interacting protein1(Aki1)の発現. 2014 年 7 月　北九州

19. 第 45 日本膵臓学会大会　大坪公士郎, 毛利久継, 山下　要, 安本和生, 矢野聖二. 超音波内視鏡（EUS）にて診断された特発性早期慢性膵炎の臨床的検討. 2014 年 7 月　北九州

20. 第 12 回日本臨床腫瘍学会学術集会　竹内伸司, 矢野聖二. Therapeutic strategies for overcoming resistance to EGFR-TKI and ALK-TKI by inhibition of Hsp90 or HDAC. 2014 年 7 月　福岡

21. 第 12 回日本臨床腫瘍学会学術集会　衣斐寛倫. Translational research for targeting BRAF and KRAS mutant cancers. 2014 年 7 月　福岡

22. 第 12 回日本臨床腫瘍学会学術集会　小谷　浩, 衣斐寛倫, 矢野聖二. FGFR1 遺伝子増幅を有する肺癌細胞株に対する FGFR-TKI の意義. 2014 年 7 月　福岡

23. 第 12 回日本臨床腫瘍学会学術集会　谷本　梓, 山田忠明, 南條成輝, 竹内伸司, 衣斐寛倫, 松本邦夫, 矢野聖二. Effect of Hsp90 inhibitor 17-DMAG on ligand-triggered resistance to Alectinib in EML4-ALK NSCLC cells. 2014 年 7 月　福岡

24. 第 52 回日本癌治療学会学術集会　矢野聖二. 脳転移：腫瘍内科の視点から. 2014 年 8 月　横浜

25. 第 52 回日本癌治療学会学術集会　安本和生, 矢野聖二. 肛門管癌原発神経内分泌癌の 1 例. 2014 年 8 月　横浜

26. 第 52 回日本癌治療学会学術集会　山下　要, 毛利久継, 谷本　梓, 小谷　浩, 南條成輝, 衣斐寛倫, 竹内伸司, 大坪公士郎, 安本和生, 矢野聖二. 当センターに原発不明癌として紹介された症例の検討. 2014 年 8 月　横浜

27. 第 9 回肺癌分子病態研究会　谷本　梓, 山田忠明, 南條成輝, 竹内伸司, 衣斐寛倫, 松本邦夫, 矢野聖二. リガンド刺激による Alectinib 耐性と Hsp90 阻害薬による治療の試み. 2014 年 9 月　東京

28. 第 73 回日本癌学会学術総会　矢野聖二. Resistance to EGFR-TKI in EGFR mutant lung cancer. 2014 年 10 月　横浜

29. 第 73 回日本癌学会学術総会　安本和生, Lu Zhao, 川島篤弘, 南條成輝, 竹内伸司, 大坪公士郎, 矢野聖二. Novel targeting therapy in peritoneal carcinomatosis

of scirrhous gastric cancer.　2014 年 10 月　横浜

30. 第73回日本癌学会学術総会　衣斐寛倫.　Development of novel therapies by targeting kinase pathways deregulated in solid tumors.　2014 年 10 月　横浜

31. 第 73 回日本癌学会学術総会　衣斐寛倫,　小谷 浩,　矢野聖二.　非小細胞肺がんの薬物治療の最前線.　2014 年 10 月　横浜

32. 第 73 回日本癌学会学術総会　小谷 浩,　衣斐寛倫,　矢野聖二.　Definition of sensitivity to FGFRI-TKI in FGFRI-amplified lung cancer.　2014 年 10 月　横浜

33. 第 73 回日本癌学会学術総会　谷本　梓,　竹内伸司,　新井祥子,　福田康二,　北賢二,　小谷 浩,　南條成輝,　衣斐寛倫,　矢野聖二.　Effect of HDAC inhibition on BIM polymorphism-mediated resistance to new generation EGFR-TKIs in EGFR mutant lung cancer.　2014 年 10 月　横浜

34. 第 22 回日本消化器関連学会週間　大坪公士郎,　毛利久継,　矢野聖二.　特発性早期慢性膵炎における EUS 診断と治療経過に関する検討.　2014 年 10 月　神戸

35. 第 55 回日本肺癌学会総会　竹内伸司,　矢野聖二.　BIM 遺伝子多型に起因する EGFR-TKI 耐性の治療法開発の現状.　2014 年 11 月　京都

36. 第 55 回日本肺癌学会総会　南條成輝,　竹内伸司,　藤田史郎,　富井啓介,　片上信之,　柿内聡司,　西岡安彦,　岡野義夫,　大串文隆,　矢野聖二.　肺腺癌における EGFR-TKI 治療前の効果予測における血液中 HGF 測定の意義（多施設共同前向き観察研究）.　2014 年 11 月　京都

37. 第 55 回日本肺癌学会総会　小谷　浩,　衣斐寛倫,　矢野聖二.　FGFR1 遺伝子増幅を有する肺癌細胞株における FGFR 阻害剤の基礎的検討.　2014 年 11 月　京都

＜学会発表・国際＞

1. Third AACR-IASLC Joint Conference on the Molecular Origins of Lung Cancer. Yano S. Mechanisms of EGFR-TKI resistance in EGFR mutant lung cancer and its therapeutic strategy. 2014 年 1 月　San Diego, USA

2. Third AACR-IASLC Joint Conference on the Molecular Origins of Lung Cancer. Tanimoto A, Yamada T, Takeuchi T, Yano S. Effect of Hsp90 inhibitor 17-DMAG on ligand-triggered resistance to Alectinib in EML4-ALK NSCLC cells. 2014 年 1 月　San Diego, USA

3. International symposium on Tumor Biology in Kanazawa & Symposium Drug Discovery

in Academics. Zhao L, Yasumoto K, Kawashima A, Nakagawa T, Takeuchi S, Yamada T, Matsumoto K, Yonekura K, Yoshie O, Yano S. Paracrine activation of MET promotes peritoneal carcinomatosis in scirrhous gastric cancer. 2014 年 1 月 Kanazawa, Japan

4. Combined EPC & IAP Meeting 2014. Ohtsubo K, Yamada T, Zhao L, Jin TF, Takeuchi S, Mouri H, Yamashita K, Yasumoto K, Fujita N, Kitagawa H, Ohta T, Ikeda H, Yano S. Expression of Akt kinase-interacting protein 1(Aki1),a scaffold protein of the PI3K/PDK1/Akt pathway, in pancreatic cancer. 2014 年 6 月 Southampton, UK

5. The 19th Japanese Foundation for Cancer Research International Symposium on Lung Cancer Chemotherapy.(JFCR-ISCC) Kotani H, Ebi H, Yano S. Role of EGFR inhibitor in FGFR1 amplified non-small cell lung cancer. 2014 年 12 月 Tokyo, Japan

＜外部資金＞

1. 次世代がん研究 文部科学省
   矢野聖二
   研究代表者
   分子標的薬の感受性・耐性を規定する新たな分子機構の解明　19,450千円

2. 新学術領域 日本学術振興会
   矢野聖二
   研究代表者
   呼吸器悪性腫瘍の微小環境の特性を標的とした新規制御法の開発　9,400千円

3. 基盤研究（B）日本学術振興会
   矢野聖二
   研究代表者
   肺がんの転移と分子標的薬耐性を克服する統合的研究　2,300千円

4. 厚生労働省 創薬基盤推進研究事業
   矢野聖二
   研究代表者
   BIM遺伝子多型に起因するEGFR変異肺がんのEGFRチロシンキナーゼ阻害薬
   耐性をボリノスタット併用で克服する研究　25,071千円

5. 厚生労働省　革新的がん医療実用化研究事業
   矢野聖二

研究代表者
BIM遺伝子多型陽性癌におけるHDAC阻害薬の耐性克服効果を最適化する薬力学的効果の指標を探索する研究　　21,769千円

6.　基盤研究（C）日本学術振興会
研究分担者
矢野聖二
スキルス胃癌の癌間質増生と癌性腹膜炎発症機構の本態解明　　100千円

7.　基盤研究（B）日本学術振興会
研究分担者
矢野聖二
癌幹細胞化を阻止する画期的分子標的治療薬の開発　　500千円

8.　基盤研究（B）日本学術振興会
研究分担者
大坪公士郎
肺がんの転移と分子標的薬耐性を克服する統合的研究　　1,000千円

9.　若手研究（B）日本学術振興会
竹内伸司
研究代表者
EGFR変異肺癌のBIM遺伝子多型に起因するEGFR-TKI耐性克服治療の開発
900千円

10.　若手研究（B）日本学術振興会
衣斐寛倫
研究代表者
PI3KおよびERKパスウェイを標的としたKRAS変異腫瘍に対する新規治療開発
1,500千円

11.　若手研究（B）日本学術振興会
福田康二
研究代表者
EGFR変異肺癌のEMTに起因する変異型EGFR選択的TKI耐性克服治療の開発
2,000千円

12.　新学術領域　日本学術振興会

衣斐寛倫
研究分担者
呼吸器悪性腫瘍の微小環境の特性を標的とした新規制御法の開発　　500千円

13. 挑戦的萌芽研究 日本学術振興会
北 賢二
研究代表者
肺癌脳転移のMetastasis initiating cell　　800千円

14. 基盤研究（C）日本学術振興会
安本和生
研究代表者
スキルス胃癌の癌間質増生と癌性腹膜炎発症機構の本態解明　　1,400千円

15. 厚生労働省 創薬基盤推進研究事業
研究分担者
竹内伸司
BIM遺伝子多型に起因するEGFR変異肺がんのEGFRチロシンキナーゼ阻害薬
耐性をボリノスタット併用で克服する研究　　3,000千円

16. 厚生労働省　革新的がん医療実用化研究事業
竹内伸司
研究分担者
BIM遺伝子多型陽性癌におけるHDAC阻害薬の耐性克服効果を最適化する薬力学的
効果の指標を探索する研究　　1,000千円

17. 共同研究　積水メデイカル株式会社
矢野聖二
研究代表者
イレッサ・ポリノスタット併用療法のためコンパニオン診断薬の開発
1,300千円

18. 共同研究　株式会社ヤクルト本社
矢野聖二
研究代表者
非小細胞肺がんに対するEGFR TKI治療におけるBIM多型とHDAC阻害剤の併用
効果に関する研究　　8,228千円

19. 共同研究　第一三共株式会社
矢野聖二
研究代表者
胸膜中皮腫に対するAXL阻害薬の治療効果の検討　　3,809千円

20. 共同研究　第一三共株式会社
矢野聖二
研究代表者
次世代EGFR阻害薬（WZ4002）耐性NSCLCに対するAXL阻害薬の治療効果
3,809千円

＜共同研究＞

1. がん研究会がん化学療法センター 基礎研究部　藤田直也
「中皮腫の進展におけるAggrusの関与を解明する研究」

2. 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 呼吸器・膠原病内科　西岡安彦
「悪性胸膜中皮腫に対する特異的免疫療法の開発」
「肺がん・中皮腫における血管新生阻害薬耐性機構の解析」

3. 愛知県がんセンター　分子腫瘍部　関戸好孝
「胸膜中皮腫に対する新規分子標的治療法を開発する研究」

4. 兵庫県立尼崎病院呼吸器外科　糸井和美，岩切章太郎
「胸膜中皮腫の分子標的の臨床検体における解析」

5. 協和発酵キリン
「悪性中皮腫に対する抗GM2抗体の活性評価」

6. 特殊免疫研究所
「肺がんのEGFR-TKI治療の効果予測における血液中HGFおよび関連因子測定の意義を検討する研究」

7. 北海道大学大学院医学科研究科探索病理学講座　西原広史
「分子標的薬耐性を克服する治療の安全性の前臨床評価」

8. 北海道大学病院呼吸器内科　大泉聡史
順天堂大学浦安病院呼吸器内科 佐々木信一
大阪府立成人病センター呼吸器内科　熊谷　融

神戸市立医療センター中央市民病院呼吸器内科 片上信之、富井啓介
先端医療センター総合腫瘍科　片上信之
兵庫県立がんセンター呼吸器内科　里内美弥子
名古屋医療センター呼吸器科・臨床腫瘍科　小暮啓人
東京医科大学茨城医療センター呼吸器内科　中村博幸
水戸済生会総合病院呼吸器内科　橋本俊夫
徳島大学病院呼吸器・膠原病内科　西岡安彦
松山赤十字病院呼吸器内科　兼松貴則
久留米大学病院内科学講座 呼吸器・神経・膠原病内科　星野友昭
東京大学大学院医学系研究科ゲノム医学講座　間野博行、曽田　学
「肺がん分子標的薬耐性の分子機構を明らかにする研究」

9. 東京大学大学院医学系研究科ゲノム医学講座　間野博行
埼玉医科大学呼吸器内科　萩原弘一
名古屋大学呼吸器内科　長谷川好規
東北大学病院臨床試験推進センター　井上　彰
静岡県立静岡がんセンター呼吸器内科　高橋利明
徳島大学病院呼吸器・膠原病内科　西岡安彦
先端医療センター総合腫瘍科　片上信之
兵庫県立がんセンター呼吸器内科　里内美弥子
名古屋大学医学部附属病院先端医療・臨床研究支援センター　安藤昌彦
名古屋大学医学部附属病院先端医療・臨床研究支援センター　清水　忍
名古屋大学医学部附属病院先端医療・臨床研究支援センター　藤原忠美
金沢大学附属病院先端医療開発センター　長瀬克彦
「BIM遺伝子多型に起因するEGFR変異肺がんのEGFRチロシンキナーゼ阻害薬耐性をボリノスタット併用で克服する研究(NEJ002-BIM, PEOPLE-J, VICTORY-J)」

10. がん研究会がん化学療法センター 基礎研究部　藤田直也
金沢医科大学病理学I　清川悦子
名古屋大学呼吸器内科　長谷川好規
東北大学病院臨床試験推進センター　井上　彰
先端医療センター総合腫瘍科　片上信之
名古屋大学医学部附属病院先端医療・臨床研究支援センター　安藤昌彦
名古屋大学医学部附属病院先端医療・臨床研究支援センター　清水　忍
名古屋大学医学部附属病院先端医療・臨床研究支援センター　藤原忠美
「BIM遺伝子多型陽性癌におけるHDAC阻害薬の耐性克服効果を最適化する薬力学的効果の指標を探索する研究(PhD Study)」

中央実験施設

中央実験施設

＜研究スタッフ＞

施設長（併）　松本　邦夫
准教授　黒木　和之　　准教授　遠藤　良夫
准教授　久野　耕嗣
技術補佐員　志村　瞳

【 研 究 概 要 】

中央実験施設では，がん研究所共同利用施設および中央研究室の運営に携わると共に，黒木はB型肝炎ウイルス感染の分子メカニズムの解明，遠藤はがんの光線力学的療法の新たな応用研究を中心に，久野は遺伝子欠損マウスを用いたADAMTS1の雌生殖機能における役割とその生理活性の解析をテーマに研究を進めている。

＜2014年の研究成果，進行状況と今後の計画＞

B型肝炎ウイルスの増殖と感染の分子機構（黒木）

肝炎，肝がん発生の原因ウイルスであるＢ型肝炎ウイルスのLife cycleを理解することは，このウイルスの感染・増殖を阻止する新たな方策を探る上で大切である。アヒルのＢ型肝炎ウイルスであるDHBVの感染成立には宿主分子gp180と共にNTCPが必要であることがわかりNTCPは各種Ｂ型肝炎ウイルスに共通の宿主特異的レセプターである可能性を考えている。HBVレセプターNTCPの関与も含めたHBV感染の分子メカニズム解明のため，ツールとしての新規HBVベクターの構築とHBV感染培養細胞系の樹立を進めている。本年はHBVベクター産生のためのパッケージング細胞の改良を行いより多くの成熟HBV粒子が産生されるシステムを構築した。iPS細胞Dotcomより分化誘導した肝細胞に組換えHBVが感染することを報告したが，現在新規に多数のiPS細胞を樹立しており，これらの中から肝細胞への分化に適しHBV感染効率のよいクローンを選び出して感染メカニズムの解明およびHBV感染・増殖を阻止する化合物の探索と創薬をめざす。

5-ALAを用いる光線力学的療法の新たな応用（遠藤）

光線力学的治療（PDT）は光感受性物質と光線を用いる低侵襲性のがん治療法の一つである。５-アミノレブリン酸（以下ALA）は，従来のPDTで用いられてきたポルフィリン関連化合物とは異なり，腫瘍細胞内でヘム生合成経路の酵素群によりプロトポルフィリンIX（PpIX）に代謝され，光感受性物質として活性化される。5-ALAを用い

る光線力学的療法では異なる励起光を照射することでがんの治療（630 nm付近，ALA-PDT）とがん組織の可視化と診断（405-410 nm，ALA-PDD）に使い分けることが可能であり，がん治療における有用性は極めて大きい。最近，我々は徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部（宇都教授）との共同研究によりALAと同時処理をすることでPDT効果を相乗的に増強することができる低分子化合物N-3',5'-ジクロロ-2'-ヒドロキシベンジリデン-2-クロロ-4-ニトロアニリン（TX-816）を見出した。興味深いことにこの TX-816はALA-PDT獲得耐性株の感受性を一部回復できることも明らかになった。シッフ塩基であるTX-816は溶液中で加水分解により3,5-ジクロロサリチルアルデヒド（DCSA）と2-クロロ-4-ニトロアニリン（CNA）を生じるが，ALA-PDTにおける効果増強作用は DCSAによることが明らかになった。
〈今後の計画〉多様ながん腫の診断や治療に広く応用可能な5-ALAを用いる光線力学的療法を確立すべく，TX-816およびDCSAの誘導体展開を実施し，ALA-PDTに対する感受性増強剤としてより有用なリード化合物を探求する。

ADAMTS-1 の雌生殖機能における役割の解析（久野）

ADAMTS-1$^{-/-}$マウス（129/B6 遺伝子背景）は，腎盂尿管移行部閉塞症を発症するだけでなく，排卵過程，卵胞生育過程における卵胞構造の構築，卵巣髄質部の血管形成などにも異常を示す。一方，BALB/c 遺伝子背景の ADAMTS-1$^{-/-}$マウスは分娩異常を示すことを見い出している。また同マウスの子宮平滑筋ではオキシトシン，プロスタグランジン等に対する収縮応答性が低下し，またオキシトシン受容体等の収縮調節関連遺伝子群の発現が低下していることを見い出している。今回，分娩時の子宮平滑筋機能における ADAMTS-1 の役割について詳しく調べるため，ADAMTS-1$^{-/-}$マウス子宮平滑筋の自発収縮（自動運動）について解析を行った。その結果，妊娠 19 日目分娩前の野生型マウスから調製した子宮筋条片では，強い規則的な自発収縮が観察された。一方，（自発収縮による張力/hypotonic shock 時の張力）で標準化を行った場合，ADAMTS-1$^{-/-}$マウスの子宮筋条片の自発収縮力は，野生型マウスの子宮筋条片と比較して有意に低下していることがわかった。これらの結果から，分娩前の ADAMTS-1$^{-/-}$マウスの子宮平滑筋では，uterotonin への応答性だけでなく，自発収縮能も低下していることが明らかとなり，このことが同マウスの分娩異常の主な原因と考えられた。今後，ADAMTS-1$^{-/-}$マウスの子宮組織における組織学的変化や ECM 構成成分の変化，他の子宮収縮調節因子の変化を調べ，分娩前の子宮平滑筋の活性化過程における ADAMTS-1 の役割を解明する。また子宮頚管熟化過程についても解析を行い，ADAMTS-1 の分娩過程全般における役割を明らかにする。

【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

（共同研究）

1. Uto Y, Tamatani D, Mizuki Y, Endo Y, Nakanishi I, Ohkubo K, Fukuzumi S, Ishizuka M, Tanaka T, Kuchiike D, Kubo K, Inui T, Hori H. Evaluation of the sonosensitizing activities of 5-aminolevulinic acid and Sn(IV) chlorin e6 in tumor-bearing chick embryos. Anticancer Res. 2014 Aug;34(8):4583-7.
2. Liu Y, Endo Y, Fujita T, Ishibashi H, Nishioka T, Canbay E, Li Y, Ogura SI, Yonemura Y: Cytoreductive Surgery Under Aminolevulinic Acid-Mediated Photodynamic Diagnosis Plus Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy in Patients with Peritoneal Carcinomatosis from Ovarian Cancer and Primary Peritoneal Carcinoma: Results of a Phase I Trial. Ann Surg Oncol. 2014 Jul 24. [Epub ahead of print] doi: 10.1245/s10434-014-3901-5
3. Yonemura Y, Canbay E, Endou Y, Ishibashi H, Mizumoto A, Miura M, Li Y, Liu Y, Takeshita K, Ichinose M, Takao N, Hirano M, Sako S, Tsukiyama G: Peritoneal cancer treatment. Expert Opin Pharmacother. 2014 Apr;15(5):623-36. doi: 10.1517/14656566.2014.879571.
4. Abe C, Uto Y, Kawasaki A, Noguchi C, Tanaka R, Yoshitomi T, Nagasaki Y, Endo Y, Hori H: Evaluation of the in vivo antioxidative activity of redox nanoparticles by using a developing chicken egg as an alternative animal model. J Control Release. 2014 May 28;182:67-72. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.03.015. Epub 2014 Mar 15.

＜学会発表＞

1. 宇都義浩，玉谷　大，水木佑輔，遠藤良夫，大久保　敬，中西郁夫，石塚昌宏，田中　徹，口池大輔，久保健太郎，乾　利夫，堀　均：癌の超音波療法に対する5-aminolevulinic acidの増感作用の検討　第16回癌治療増感研究シンポジウム 2014年(平成26年)2月7日(金) 13時-18時～8日(土) 9時-15時(奈良，奈良県文化会館　小ホール)
2. 玉谷　大，宇都義浩，水木佑輔，國安翔太，野口智帆，遠藤良夫，中西郁夫，大久保敬，石塚昌宏，田中　徹，口池大輔，久保健太郎，乾　利夫，堀　均：腫瘍移植鶏卵モデルを用いた5-aminolevulinic acidおよびTin chlorin e6の超音

波増感活性の評価　日本薬学会第 134 年会　2014 年 3 月 29 日（3 月 27 日～30 日）（熊本，熊本市総合体育館）

3. 遠藤良夫，小倉　俊一郎，米村　豊：ABCG2 阻害剤による 5-アミノレブリン酸を用いるがん光線力学的療法の効果増強　日本薬学会第 134 年会　2014 年 3 月 30 日（3 月 27 日～30 日）（熊本，熊本市総合体育館）
4. 村上和也,片桐英樹,遠藤良夫,桑野裕昭,加藤浩介,宇野剛史,米村豊:EST profile を用いた腹膜偽粘液腫のマーカー遺伝子探索　2014 IEEE SMC Hiroshima Chapter 若手研究会　2014 年 7 月 19 日（土）（広島，広島市立大学講義棟）
5. 松永司，斎藤臣雄，長田裕之，遠藤良夫：シスプラチン抵抗性関連因子 ERCC1 を分解誘導する新規定分子化合物の同定　第 18 回日本がん分子標的治療学会学術集会　2014 年 6 月 26 日（木）（仙台，TKP ガーデンシティ仙台）
6. 黒木和之：Ｂ型肝炎ウイルス感染の分子基盤　平成 26 年度遺伝子病制御研究所研究集会「感染，免疫，炎症，発癌」　2014 年 7 月 3～4 日（札幌，北海道大学学友会館）
7. 村上和也,片桐英樹,遠藤良夫,桑野裕昭,加藤浩介,宇都剛史,米村豊:EST profile を用いた腹膜気粘液腫のマーカー遺伝子探索 2014 IEEE SMC Hiroshima Chapter 若手研究会 2014 年 7 月 19 日（土）（広島，広島市立大学）
8. 宇都義浩，國安翔太，玉谷　大，野口智帆，堀　均，遠藤良夫，富永正英，福本修一：発育鶏卵を用いたニムフェオール類を含有するオオバギ葉抽出物の放射線防護活性の評価第67回日本酸化ストレス学会学術集会　2014年9月4日（木）・9月5日（金）（京都，同志社大学　今出川キャンパス）
9. Yoshio Endo, Uto Yoshihiro, Yutaka Yonemura, Shun-ichiro Ogura, Chiaki Abe, Masashi Kimura: Enhancing efficacy of ALA-PDT by using the Schiff base derivative TX-816　第73回日本癌学会学術総会2014年9月25日（木）～27日（土）（横浜，パシフィコ横浜）
10. Hideki Katagiri, Takeshi Uno, Kosuke Kato, Hiroyuki Kuwano, Kohei Sasaki, Yutaka Yonemura, Yoshio Endo: A gene ontology-based microarray gene expression data analysis for diagnosing pseudomyxoma peritonei. 2014 IEEE 7th International Workshop on Computational Intelligence and Applications 2014年11月7日（金）・11月8日（土）（広島,広島市立大学）
11. 生水真紀夫,多久和陽，岡本安雄，栗原裕基，松島綱治，○久野耕嗣（○発表者）「ADAMTS-1遺伝子欠損マウスにおける子宮平滑筋収縮能の解析」第３７回日本分子生物学会年会（2014年12月，横浜）

＜外部資金＞

1. 厚生労働科学研究費補助金 Ｂ型肝炎創薬実用化等研究事業 分担：黒木和之
   直接経費：10,000千円
2. 科学研究費補助金（基盤研究Ｃ）代表：遠藤良夫
   直接経費：1,300千円
3. 寄付金　代表：遠藤良夫　直接経費：500千円

＜共同研究＞

1. HBV エンベロープタンパク質と相互作用する細胞膜表面分子の網羅的探索　（大阪大学大学院医学系研究科ウイルス学）（黒木和之）
2. 5-ALA を用いた転移性胃癌の術中診断および治療法の開発（東工大・フロンティア研究機構，徳島大・ソシオテクノサイエンス研究部，NPO 腹膜播種治療支援機構）（遠藤良夫）
3. 受精鶏卵を用いる放射線増感剤感受性試験の確立
   ヒトがん細胞を用いた Akt/MMP-9 阻害性抗転移剤の開発（徳島大・ソシオテクノサイエンス研究部）（遠藤良夫）
4. 腹膜偽粘液腫の本邦における発生頻度・病態の解明・治療法の開発（NPO 腹膜播種治療支援機構）（遠藤良夫）

基 礎 統 計

決算額（運営費交付金）

（単位：千円）

区　　分		平成 22 年度	平成 23 年度	平成 24 年度	平成 25 年度	平成 26 年度
運営費交付金		507, 414	564, 308	624, 321	567, 178	589, 380
内　訳	人件費	386, 797	411, 774	475, 998	382, 253	464, 514
	物件費等	120, 617	152, 534	148, 323	184, 925	124, 866

科学研究費補助金（間接経費を含む）

（単位：千円）

年度 / 研究種目	平成 22 年度		平成 23 年度		平成 24 年度		平成 25 年度		平成 26 年度	
	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額
特定領域研究	1	3, 500	0	0	0	0	0	0	0	0
新学術領域研究	2	47, 840	5	65, 520	5	60, 710	4	41, 600	6	88, 010
基盤研究（A）	1	16, 510	1	14, 560	1	26, 910	1	15, 210	1	14, 560
基盤研究（B）	8	45, 500	7	43, 290	7	35, 620	4	35, 620	7	28, 860
基盤研究（C）	7	12, 090	9	15, 210	9	17, 745	15	25, 805	16	19, 760
挑戦的萌芽研究	3	5, 600	4	8, 840	4	4, 810	4	5, 590	9	11, 830
若手研究（S）	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
若手研究（A）	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
若手研究（B）	7	13, 130	9	20, 800	9	16, 640	7	15, 210	11	15, 080
研究活動スタート支援	1	1, 260	1	1, 508	0	0	0	0	4	2, 200
特別研究員奨励費	3	2, 700	1	900	1	900	0	0	0	0
最先端・次世代研究開発支援プログラム	2	20, 150	2	149, 500	2	78, 390	2	75, 390	0	0
合　計	35	168, 280	39	320, 128	38	241, 725	37	214, 425	54	180, 300

外部資金（間接経費を含む）

（単位：千円）

年度 / 研究種目	平成 22 年度		平成 23 年度		平成 24 年度		平成 25 年度		平成 26 年度	
	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額
受託研究	7	89, 060	7	82, 343	7	123, 460	9	155, 459	10	171, 432
受託事業経費	1	18, 000	2	17, 668	1	16, 600	0	0	2	2, 965
補助金	0	0	0	0	0	0	2	14, 500	2	21, 940
民間等との共同研究	4	12, 850	5	8, 285	3	6, 570	5	24, 650	4	17, 721
寄附金	27	32, 897	22	30, 018	16	24, 774	23	32, 635	14	18, 774
合　計	39	152, 807	36	138, 314	27	171, 404	39	227, 244	32	232, 832

土地・建物

区　　分		研究所
建築面積		894 ㎡
建物延床面積	鉄骨コンクリート造	（6F）5,072 ㎡

教育活動

大学院生・研究生数

平成 27 年 5 月 1 日現在

				プログラム				合計
				がん幹細胞研究	がん微小環境研究	がん分子標的探索	がん分子標的医療開発	（人）
大学院生	医薬保健学総合研究科	修士課程	Ⅰ	1		1		33
			Ⅱ	1	3	2		
		博士課程	Ⅰ	2	2		1	
			Ⅱ	3	1	2		
			Ⅲ	1	2	2	1	
			Ⅳ		1			
	医学系研究科	博士課程	Ⅰ					
			Ⅱ					
			Ⅲ					
			Ⅳ	3	3	1		
	自然科学研究科	前期課程	Ⅰ	2		2		10
			Ⅱ	1		2		
		後期課程	Ⅰ					
			Ⅱ			1		
			Ⅲ	1		1		
研究生（特別研究学生含む）				1	1	3	3	8

※平成 24 年度に医学系研究科から医薬保健学総合研究科へ改組

交流協定校

平成 27 年 5 月 1 日現在

交流協定校	協定大学・部局等名	国（都市名）
大学間交流協定	蘇州大学	中国（蘇州）
	四川大学	中国（成都）
	ハルビン医科大学	中国（ハルビン）
	釜山国立大学校	韓国（釜山）
	バルナ医科大学	ブルガリア（バルナ）
	モンゴル国立大学	モンゴル（ウランバートル）
	ナレースワン大学	タイ（ピサヌローク）
	台北医学大学	台湾（タイペイ）
	シャルジャ大学	アラブ首長国連邦（シャルジャ）
部局間交流協定	韓国科学技術研究院遺伝工学研究所	韓国（大田）
	モンゴル科学アカデミー生物学研究所	モンゴル（ウランバートル）
	復旦大学上海がん病院	中国（上海）
	ソウル大学校がん研究所	韓国（ソウル）

各種シンポジウム開催状況

1．日本癌学会シンポジウム／共同利用・共同研究拠点ジンポジウム

Japanese Cancer Association Symposium & Joint Usage/Research Center Symposium

目　　的：未来のがん治療開発に関する議論を深めることを企図し，共同利用・共同研究拠点の活動の一環として毎年開催している「拠点シンポジウム」を，平成２６年度は日本癌学会のシンポジウムとして全国集会に拡大して開催。がん研究者コミュニティにおけるネットワーク構築を主要な目的とする。

日　　時：平成27年1月21日（水）・22日（木）

場　　所：石川県立音楽堂交流ホール

来場者数：３３４名（２日間延べ）

プログラム：

第一部：がん幹細胞

平尾　　敦（金沢大学がん進展制御研究所）
下野　洋平（神戸大学大学院医学研究科）
山田　泰広（京都大学iPS細胞研究所）
千葉　　勉（京都大学大学院医学研究科）
石井　秀始（大阪大学大学院医学系研究科）

第二部：ポスターセッション１

第三部：微小環境

大島　正伸（金沢大学がん進展制御研究所）
折茂　　彰（順天堂大学医学部）
石井　　優（大阪大学大学院医学系研究科）
落合　淳志（国立がん研究センター）
柳井　秀元（東京大学生産技術研究所）

第四部：ポスターセッション２

第五部：分子標的

矢野　聖二（金沢大学がん進展制御研究所）
酒井　敏行（京都府立医科大学）
清宮　啓之（がん研究会がん化学療法センター）
藤田　直也（がん研究会がん化学療法センター）
佐藤　靖史（東北大学加齢医学研究所）

日本癌学会シンポジウム／共同利用・共同研究拠点シンポジウム
がん幹細胞・微小環境・分子標的
〜がん進展制御への挑戦

２．金沢国際がん生物学シンポジウム

International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa

目　　的：金沢大学のみならず北陸におけるがんの基礎的ならびに臨床的研究の一層の発展を図ることを目的とし，「肺がん」「白血病」「エピジェネティクス」「幹細胞」「肝がん」をテーマに，米国，英国，カナダを含む国内外のがん研究領域をリードする研究者をシンポジストとして迎えて開催。

日　　時：平成26年11月４日（火）
９：30～18：00

場　　所：金沢東急ホテル

来場者数：１９６名

プログラム：

① セッションⅠ：Lung cancer
矢野　聖二（金沢大学がん進展制御研究所）
河野　隆志（国立がん研究センターがん研究所）

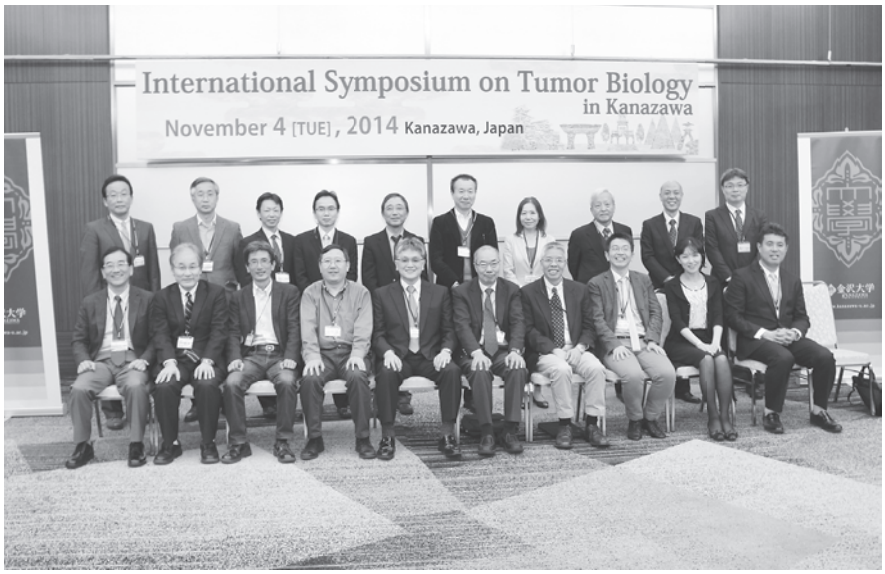
② セッションⅡ：Leukemia
平尾　　敦（金沢大学がん進展制御研究所）
北林　一生（国立がん研究センターがん研究所）

③ 特別講演：Future Anti-Cancer Therapeutic Targets―Put the Cart Before the Horses?―
Tak W Mak（トロント大学・カナダ）

④ セッションⅢ：Epigenetics
伊藤　隆司（九州大学大学院医学研究科）
佐々木裕之（九州大学生体防御医学研究所）

⑤ セッションⅣ：Stem cell
西村　栄美（東京医科歯科大学医学研究所）
Pentao Liu（ウェルカムトラストサンガー研究所・イギリス）

⑥ セッションⅤ：Liver cancer
山下　太郎（金沢大学付属病院）
Xin W Wang（国立がん研究所・アメリカ）



３．がん進展制御研究所 共同利用・共同研究拠点研究成果報告会

Joint Usage/Research Center Research results report meeting

目　　的：共同利用・共同研究拠点としての機能強化および共同研究活動活性化のため，当該年度に採択された共同研究課題の研究代表者数名を招へいし，研究成果報告会を開催するもの。平成２６年度は，本研究所拠点事業である「がんの転移・薬剤耐性に関わる先導的共同研究拠点」に関する研究成果を報告。

日　　時：平成26年12月15日（月）
13：00～17：30

場　　所：金沢大学自然科学系図書館棟　Ｇ１階
ＡＶホール

来場者数：８０人

プログラム：

①「白血病幹細胞のエピジェネティクス制御機構の解明」
岩間　厚志（千葉大学大学院医学研究院）

②「ＮＯＧマウスをプラットフォームとした消化器がん発生・悪性化研究のための新規モデルマウスの開発」
高橋　利一（公益財団法人実験動物中央研究所　動物資源基盤技術センター）

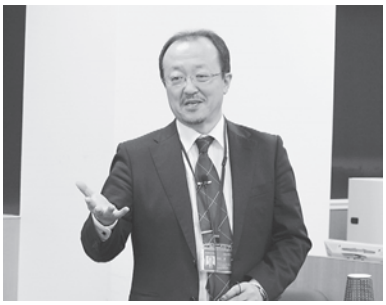
③「p53 - Rbネットワークによるがん幹細胞代謝制御機構の基盤的研究」
田中　知明（千葉大学大学院医学研究院）

④「がん幹細胞形質を指標とした新規がん治療標的分子の同定」
河野　隆志（国立がん研究センター研究所）

⑤「肺がん・中皮腫における血管新生阻害薬耐性機構の解析」
西岡　安彦（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部）

⑥「がん組織におけるＭＴ１―ＭＭＰの新規機能の解析」
坂本　毅治（東京大学医科学研究所）

⑦「ＥＲＣＣ１の高発現に起因するシスプラチン耐性化の機序に関する研究」
松永　　司（金沢大学医薬保健研究域薬学系）



４．金沢女性がん研究者フォーラム

Woman Researchers Forum on Cancer in Kanazawa

目　　的：共同利用・共同研究拠点研究所拠点「がんの転移・薬剤耐性に関わる先導的共同研究拠点」の事業の一環として開催。金沢大学男女共同参画キャリアデザインラボラトリーとの共同開催で，「平成２６年 度 Hokuriku Women Researchers' Network 第２回ワークショップ」としても開催。

日　　時：平成26年7月30日（水）
13：30～17：30

場　　所：金沢大学自然科学系図書館棟　Ｇ１階
ＡＶホール

来場者数：約７０人

プログラム：

① 早期肺癌における遺伝子発現シグネチャーによる予後予測診断システムの開発
中田　飛鳥（金沢大学がん進展制御研究所
分子病態研究分野　助教）

② Aktの新規抑制因子をコードするPHLDA3遺伝子は神経内分泌腫瘍のがん抑制遺伝子である
大木理恵子（国立がん研究センター研究所
難治がん研究分野　主任研究員）

③ 腫瘍血管の多様性と新たな治療法開発
樋田　京子（北海道大学遺伝子病制御研究所
フロンティア研究ユニット 血管
生物学研究室　特任准教授）

④ 乳がん幹細胞の起源とその維持の分子機構
後藤　典子（金沢大学がん進展制御研究所
分子病態研究分野　教授）

⑤ 蛍光ライブイメージングで生体情報を視る
清川　悦子（金沢医科大学医学部　病理学Ⅰ
講座　教授）

⑥ In vivo imaging-guided screeningによる治療標的の探索
近藤　科江（東京工業大学大学院生命理工学研
究科　生体分子機能工学　教授）

⑦ 金沢大学における女性研究者支援の取り組み
池本　良子（金沢大学　男女共同参画推進担
当学長補佐）

・パネルディスカッション