

令和2年度 金沢大学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

日時 令和3年 2月 5^(金)日・12^(金)日・19^(金)日・26^(金)日
いずれも14時開始

場所 オンライン開催 (Zoom)

発表要旨

目 次

研究成果報告会プログラム	1
研究成果報告会にご参加の皆様へ	3
【共同研究成果報告1】	
膵臓の発癌過程におけるテロメア異常	4
松田 陽子 香川大学医学部 病理病態学・生体防御医学講座 腫瘍病理学	
【共同研究成果報告2】	
血管新生阻害剤への治療抵抗性を生みだす腫瘍血管のダイナミズム	5
木戸屋 浩康 大阪大学微生物病研究所 情報伝達分野	
【共同研究成果報告3】	
パイロトーシス阻害剤の開発と作用機序解析	6
閼闔 孝介 理化学研究所開拓研究本部 袖岡有機合成化学研究室	
【共同研究成果報告4】	
Interleukin-11は、癌ならびに炎症関連線維芽細胞のマーカーであり、 腫瘍形成を促進する因子である	7
仁科 隆史 東邦大学医学部医学科 生化学講座 病態生化学分野	
【共同研究成果報告5】	
組織工学技術を応用した <i>in vitro</i> がん転移モデル構築研究	8
関谷 佐智子 東京女子医科大学先端生命医科学研究所	
【共同研究成果報告6】	
染色体転座陽性肉腫におけるPI3K阻害剤のアポトーシス誘導メカニズムの解析	9
礒山 翔 がん研究会がん化学療法センター分子薬理部	
【共同研究成果報告7】	
脂肪細胞によるがん幹細胞性制御能の解析	10
下野 洋平 藤田医科大学医学部生化学講座	
【共同研究成果報告8】	
脂肪酸伸長酵素ELOVL6の膀胱がんにおける役割	11
松坂 賢 筑波大学医学医療系	
【共同研究成果報告9】	
細胞性粘菌の分化誘導因子DIF-3は哺乳動物培養細胞の mTOR pathwayを阻害する	12
山下 克美 金沢大学医薬保健研究域薬学系	
【共同研究成果報告10】	
皮膚発がんにおける骨髄由来間葉系前駆細胞とケモカインの相互関係および 病態生理学的役割解明	13
石田 裕子 和歌山県立医科大学医学部法医学教室	
【共同研究成果報告11】	
ストレス応答によるEphA2の非定型的活性化を介したがん細胞の遊走機構	14
周 越 富山大学学術研究部 薬学・和漢系	
【共同研究成果報告12】	
Glioma stem cell 標的型 Boron Neutron Capture Therapy 抵抗性の 機序解明	15
近藤 夏子 京都大学複合原子力科学研究所	

令和2年度 金沢大学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

第1回 成果報告会

2月5日(金)

14:00~14:05 開会のあいさつ 金沢大学がん進展制御研究所 所長 平尾 敦

共同研究成果報告1 座長：金沢大学がん進展制御研究所 腫瘍制御研究分野 源 利成

14:05~14:35 膵臓の発癌過程におけるテロメア異常
香川大学医学部 病理病態学・生体防御医学講座 腫瘍病理学 松田 陽子

共同研究成果報告2 座長：金沢大学がん進展制御研究所 遺伝子・染色体構築研究分野 平尾 敦

14:40~15:10 血管新生阻害剤への治療抵抗性を生み出す腫瘍血管のダイナミズム
大阪大学微生物病研究所 情報伝達分野 木戸屋 浩康

共同研究成果報告3 座長：金沢大学がん進展制御研究所 免疫炎症制御研究分野 須田 貴司

15:15~15:45 パイロトーシス阻害剤の開発と作用機序解析
理化学研究所開拓研究本部 袖岡有機合成化学研究室 関 孝介

第2回 成果報告会

2月12日(金)

共同研究成果報告4 座長：金沢大学がん進展制御研究所 腫瘍遺伝学研究分野 大島 正伸

14:00~14:30 Interleukin-11は、癌ならびに炎症関連線維芽細胞のマーカーであり、
腫瘍形成を促進する因子である
東邦大学医学部医学科 生化学講座 病態生化学分野 仁科 隆史

共同研究成果報告5 座長：金沢大学がん進展制御研究所 腫瘍動態制御研究分野 松本 邦夫

14:35~15:05 組織工学技術を応用した *in vitro* がん転移モデル構築研究
東京女子医科大学先端生命医科学研究所 関谷 佐智子

共同研究成果報告6 座長：金沢大学がん進展制御研究所 機能ゲノミクス研究分野 鈴木 健之

15:10~15:40 染色体転座陽性肉腫におけるPI3K阻害剤のアポトーシス誘導メカニズ
ムの解析
がん研究会がん化学療法センター分子薬理部 磯山 翔

第3回 成果報告会

2月19日(金)

共同研究成果報告7 座長：金沢大学がん進展制御研究所 分子病態研究分野 後藤 典子

14:00～14:30 脂肪細胞によるがん幹細胞性制御能の解析

藤田医科大学医学部生化学講座 下野 洋平

共同研究成果報告8 座長：金沢大学がん進展制御研究所 腫瘍分子生物学研究分野 高橋 智聡

14:35～15:05 脂肪酸伸長酵素ELOVL6の膀胱がんにおける役割

筑波大学医学医療系 松坂 賢

共同研究成果報告9 座長：金沢大学がん進展制御研究所 シグナル伝達研究分野 善岡 克次

15:10～15:40 細胞性粘菌の分化誘導因子DIF-3は哺乳動物培養細胞の
mTOR pathwayを阻害する

金沢大学医薬保健研究域薬学系 山下 克美

第4回 成果報告会

2月26日(金)

共同研究成果報告10 座長：金沢大学がん進展制御研究所 分子生体応答研究分野 向田 直史

14:00～14:30 皮膚発がんにおける骨髄由来間葉系前駆細胞とケモカインの相互関係
および病態生理学的役割解明

和歌山県立医科大学医学部法医学教室 石田 裕子

共同研究成果報告11 座長：金沢大学がん進展制御研究所 腫瘍内科研究分野 矢野 聖二

14:35～15:05 ストレス応答によるEphA2の非定型的活性化を介したがん細胞の遊走機構

富山大学学術研究部 薬学・和漢系 周 越

共同研究成果報告12 座長：金沢大学がん進展制御研究所 腫瘍細胞生物学研究分野 平田 英周

15:10～15:40 Glioma stem cell 標的型 Boron Neutron Capture Therapy 抵抗性
の機序解明

京都大学複合原子力科学研究所 近藤 夏子

令和2年度共同利用・共同研究拠点成果報告会にご参加の皆様へ

平素より、共同利用・共同研究拠点活動にご協力いただき、心よりお礼を申し上げます。現在、ゲノム医療の発展を背景に、世界中で、がんの克服に向けた取り組みが精力的に進行していますが、薬剤耐性や転移など、難治がんの本態解明は十分進んでいるとは言えません。本拠点は、「がんの転移・薬剤耐性に関わる先導的共同研究拠点」として、全国のがん研究者との共同研究を基盤として難治がんの克服に取り組んでいます。現在、平成28年度から開始した第二期の拠点活動として、「先進的がんモデル」、「がん幹細胞」、「がん微小環境」、「分子治療標的」に集中して研究を進め、がんの本態解明に関わる優れた基礎研究を推進すること、基礎研究で得られた成果の臨床応用を進め、新しいがんの診断・治療を創出することを目標に掲げ、日々活動しています。

本年度の主な活動としては、国内から応募のあった66件の共同研究課題を進めています。そのうち、28件は若手研究者を対象としたものであり、この活動が、次世代のがん研究者育成に貢献するようにと考えています。さらに、難治がんの本態解明のための新たな取り組みとして、本学の強みである、「ナノ計測学、超分子化学、数理計算科学」など、異分野の卓越した研究者との共同研究開発を進めています。そのため、共同研究として融合研究枠を設定し、随時課題を受けつけ、支援することで、本拠点の独自の活動の強化を図っています。その他、国際共同研究も積極的に推進し、国際的な研究活動の発展を目指しています。本年度は、新型コロナウイルス感染症拡大のため、本拠点事業においても、共同研究が予定通り進まず、少なからず影響を受けているグループが多いことと存じます。私たちも、この難局を克服するため様々な工夫をすることで、一歩でも前に進めるよう努力して参りたいと思います。その一環として、本年度の成果報告会は、オンラインでの開催と致しました。ウイズコロナ、新しい生活の中で、私たちも新たな方法を模索しなければなりません。今回の取り組みをきっかけに、さらなる工夫を続け、これまでも増して多くのがん研究者の方々とのネットワーク作りに努めて参りたいと存じます。どうか一層のご指導とお力添えを賜りますよう、お願い申し上げます。

令和3年2月

金沢大学がん進展制御研究所 所長 平尾 敦

膵臓の発癌過程におけるテロメア異常

香川大学医学部 病理病態学・生体防御医学講座 腫瘍病理学・松田 陽子
金沢大学がん進展制御研究所 腫瘍制御研究分野・源 利成

癌は日本の死因の一位を占め、その中でも、膵癌はきわめて予後不良であり5年生存率は10%以下である。その理由として早期診断が困難であり、約7割の症例は診断時に既に手術不能癌であること、及び進行癌に対する有効な治療法が確立されていないことが挙げられる。膵癌は40歳代より若い世代にはほとんど発症せず、中高年者に多いため、高齢化社会においてますます膵癌の罹患率が上昇すると予測されている。

テロメアは染色体末端の保護装置であり、細胞分裂のたびに短くなるため、命の回数券とも呼ばれる。テロメア長の変化を fluorescence *in situ* hybridization 法を用いて調べた結果、膵臓の発癌過程の進行に伴って、テロメア長が短縮し、染色体不安定性が惹起されることが明らかとなった (PLoS ONE, 2015)。加齢とともに膵臓の様々な細胞のテロメア長が短縮し、膵癌症例では、対照症例と比べ、膵管上皮と腺房中心細胞のテロメア長の短縮を認めた。テロメア長の短縮などのテロメアの異常は、膵癌の全症例で認められた。さらに、テロメアを伸長する酵素、テロメラーズのサブユニットであるテロメラーズ逆転写酵素のリン酸化は、膵臓の発癌過程の進行に伴って亢進し、膵癌の悪性度と関連を示した (Nat Comm, 2020)。

以上より、テロメア・テロメラーズの異常は、膵臓の発癌過程において中心的役割を担っている。さらなる検討により、難治性膵癌の新規治療法開発に結び付く可能性がある。

参考文献

1. CDK1 dependent phosphorylation of hTERT contributes to cancer progression. Yasukawa M, Ando Y, Yamashita T, Matsuda Y, Shoji S, Morioka MS, Kawaji H, Shiozawa K, Machitani M, Abe T, Yamada S, Kaneko MK, Kato Y, Furuta Y, Kondo T, Shirouzu M, Hayashizaki Y, Kaneko S, Masutomi K. Nat Commun. 2020 Mar 25;11(1):1557.
2. Gradual telomere shortening and increasing chromosomal instability among PanIN grades and normal ductal epithelia with and without cancer in the pancreas. Matsuda Y, Ishiwata T, Izumiyama-Shimomura N, Hamayasu H, Fujiwara M, Tomita K, Hiraishi N, Nakamura K, Ishikawa N, Aida J, Takubo K, Arai T. PLoS One. 2015 Feb 6;10(2):e0117575.

血管新生阻害剤への治療抵抗性を生み出す腫瘍血管のダイナミズム

大阪大学微生物病研究所・木戸屋 浩康

金沢大学がん進展制御研究所 遺伝子・染色体構築研究分野・平尾 敦

組織の隅々にまで張り巡らされた血管ネットワークは、酸素や栄養分を供給することで生体の成長と恒常性の維持に働いている。この血管の役割は腫瘍組織でも同様であり、そのために腫瘍血管を標的とすることで間接的に腫瘍増殖を抑制する治療法の開発が進められてきた。しかしながら、腫瘍血管抑制剤は期待に反して際立った癌治療効果を示すことができていない。では、腫瘍血管の抑制による癌治療という概念は誤りだったのであろうか？この問いの答えを得るための最も単純で確実な方法は、血管の形成過程を直接「観る」ことである。

我々は腫瘍組織の生体内イメージング解析系を構築し、血管形成過程および腫瘍血管阻害剤の投与による変化の観察を進めた。その結果として観察された腫瘍血管の姿は、予想を超えたダイナミクスを示していた。特に、血管が管腔構造を保ったまま組織内を移動する「血管束移動」と名付けた現象が腫瘍組織の中で起きていることを発見した。この血管束移動は血管阻害剤の投与に応じて誘導されることから、治療抵抗性への関与が示されている。我々は血管束移動の制御メカニズムの解明を進め、腫瘍組織内に浸潤してきたミエロイド系細胞群によって制御されることを見出した。さらに、シングルセル遺伝子発現解析から、このミエロイド系細胞群が規定の分類に当てはまらない新規のサブセットであることを明らかにした。本発表では、生体内で進行する腫瘍血管形成の真実について既成の概念との相違点を含めて説明し、次世代の腫瘍血管阻害療法ビジョンを共有したい。

参考文献

1. Kidoya H, Naito H, Muramatsu F, Yamakawa D, Jia W, Ikawa M, Sonobe T, Tsuchimochi H, Shirai M, Adams RH, Fukamizu A, Takakura N. APJ Regulates Parallel Alignment of Arteries and Veins in the Skin. Dev Cell. 2015. 33(3):247-59.

パイロトーシス阻害剤の開発と作用機序解析

理化学研究所開拓研究本部 袖岡有機合成化学研究室・闖闖 孝介
金沢大学がん進展制御研究所 免疫炎症制御研究分野・須田 貴司

パイロトーシス (Pyroptosis) は細菌感染などで誘導される炎症誘導性のプログラム細胞死の一つであり、近年様々な生理現象や病態との関連が報告されている。その誘導機構としては caspase-1, 4, 5, 11 の活性化と、それに伴う Gasdermin D の切断・活性化を経て細胞膜上にポアが形成され、IL-1 β などの炎症性サイトカインが放出されるメカニズムが明らかになっている¹。一方でパイロトーシスの阻害剤としては、cathepsin B の阻害剤として知られる CA-074Me が見出されており、パイロトーシスに cathepsin B が関与すると推定されていた²。

このような背景で我々は acyloxymethyl ketone (AOMK) という官能基を持つ cathepsin B 阻害剤にアルキンと呼ばれる非常に小さなタグを導入し、独自に開発したケミカルバイオロジー手法と組み合わせることで、この阻害剤が cathepsin B の触媒部位に存在するシステイン残基と選択的に共有結合を形成することを明らかにした³。さらにこの研究の中で開発した化合物群から NOMO1 細胞を用いた評価系⁴により、パイロトーシスを阻害する新規誘導体を見出すことに成功した。さらにその作用機序を解析する中で、その標的が従来考えられていた cathepsin B とは異なることも明らかにした。本発表ではパイロトーシス阻害剤の開発と作用機序解析の結果を示すと共に、ケミカルバイオロジー手法を用いた解析法についても紹介したい。

参考文献

1. J. Shi, W. Gao and F. Shao, *Trends Biochem. Sci.*, 2017, 42, 245-254.
2. A. Fujisawa, N. Kambe, M. Saito, R. Nishikomori, H. Tanizaki, N. Kanazawa, S. Adachi, T. Heike, J. Sagara, T. Suda, T. Nakahata and Y. Miyachi, *Blood*, 2007, 109, 2903-11.
3. J. Ando, M. Asanuma, K. Dodo, H. Yamakoshi, S. Kawata, K. Fujita and M. Sodeoka, *J. Am. Chem. Soc.*, 2016, 138, 13901-13910.
4. K. Motani, H. Kushiya, R. Imamura, T. Kinoshita, T. Nishiuchi and T. Suda, *J. Biol. Chem.*, 2011, 286, 33963-72.

Interleukin-11は、癌ならびに炎症関連線維芽細胞のマーカーであり、腫瘍形成を促進する因子である

東邦大学 医学部・仁科 隆史
金沢大学がん進展制御研究所 腫瘍遺伝学研究分野・大島 正伸

Interleukin (IL)-11は、IL-6 サイトカインファミリーに属するサイトカインである。IL-11は腫瘍形成を含む、様々な生体応答に関与することが知られている。また、ヒト大腸がん検体においてはIL-11の発現が認められ、大腸がんマウスモデルを用いた解析から、IL-11が腫瘍形成に寄与することが報告されている。しかしながら、生体におけるIL-11産生細胞や産生機構については依然として不明な点が多い。我々は、*in vivo*におけるIL-11産生細胞を同定するためにIL-11-EGFPレポーターマウスを樹立した。IL-11-EGFPレポーターマウスを用いて大腸癌モデルマウスおよび大腸炎モデルマウスを作出し解析した結果、通常的环境下ではIL-11産生は認められないが、大腸癌形成や大腸炎に伴い線維芽細胞より産生されることを見出した。IL-11産生線維芽細胞の特性を明らかにするために、IL-11産生線維芽細胞において高発現している遺伝子をゲノムワイドに探索した結果、組織修復や細胞増殖を促進する遺伝子を高く発現していることが明らかとなった。さらに、IL-11産生線維芽細胞で高発現している遺伝子群の一部は、IL-11刺激により誘導されることが示唆された。IL-11-EGFPレポーターマウスより得られたIL-11産生線維芽細胞の特性の情報と、ヒト大腸がんとの相関を明らかにするために、ヒトの大腸がん遺伝子発現データベースをもとに解析した結果、IL-11陽性細胞で特異的な発現が認められた遺伝子は、ヒト大腸癌部においても高発現しており、その中の一部の遺伝子群の発現は大腸癌の予後の悪さと相関していた。以上より腫瘍微小環境においては、腫瘍間質に存在する線維芽細胞から産生されたIL-11が、オートクリンまたパラクリンの作用し、腫瘍形成促進に働く可能性が示唆された。

参考文献

1. Nishina T*, Deguchi Y, Takeda W, Ohtsuka M, Ohshima D, Yamazaki S, Kawauchi M, Nakamura E, Nishiyama C, Kojima Y, Adachi-Akahane S, Hasegawa M, Nakayama M, Oshima M, Yagita H, Shibuya K, Mikami T, Inohara N, Tada N, Nakano H*: Interleukin-11 is a Marker for Both Cancer- and Inflammation-Associated Fibroblasts that Contribute to Colorectal Cancer Progression. (*; co-correspondence), *Nature Communications, under revision*, 2020.

組織工学技術を応用した *in vitro* がん転移モデル構築研究

東京女子医科大学 先端生命医科学研究所・関谷 佐智子
金沢大学がん進展制御研究所 腫瘍動態制御研究分野・松本 邦夫

細胞から3次元組織を構築する組織工学研究は、近年めざましく進歩しており、再生医療への応用や創薬モデルへの活用が進められている。しかしながら、構造物が3次元に厚みを増すとともに、通常の静置培養では内部への栄養酸素供給が不十分となり、壊死のため組織崩壊が生じる。そこで、培養液を血流様にかん流、老廃物の除去や栄養供給を行い、組織維持を目指すかん流培養研究が盛んになっている。東京女子医科大学・先端生命医科学研究所では各種かん流装置が開発され、さらに未成熟組織や皮膚組織培養において活用される器官培養を維持した気-液界面かん流培養法を確立している。このような組織工学を利用し、生体外にてヒトのがん転移を再現可能となれば、転移メカニズムの新たな発見につながることを期待される。そこで本研究ではヒトがん転移 *in vitro* モデル構築を目的として、構築組織を用いたかん流を行い、がん研究への貢献を目指している。本研究では生体外において、主に①原発巣からの浸潤、組織外遊走②転移先への生着③転移先での増殖を解析すべく、2つの3次元構築組織を流路で連結し、培養液の循環を行うことでミニサーキットを作製し、検討を行っている。現在、がん細胞としてヒト小児腎芽腫細胞や松本研にて樹立された GFP 導入ヒト肺腺がん細胞を用い、がん細胞を含有する原発巣3次元組織から他方の3次元組織への培養液の流れを介した転移現象を解析している。現在までに①浸潤・遊走後に培地からの回収がん細胞における基質接着能力が低下や、CD44 や FN1 の遺伝子発現向上が確認されており、3次元組織浸潤・遊走後のがん細胞における高転移性質濃縮の可能性が示唆されている。今後は GFP 陽性がん細胞株でのがん転移を解析していく予定である。将来的には、手術によって採取したがん細胞の転移能予測や、転移抑制に関する創薬研究などへの応用を展望しており、今回金沢大学がん進展制御研究所の先生方からのアドバイス、ご意見などを頂ける機会になることを期待している。

染色体転座陽性肉腫におけるPI3K阻害剤のアポトーシス誘導メカニズムの解析

がん研究会がん化学療法センター 分子薬理部・磯山 翔
金沢大学がん進展制御研究所 機能ゲノミクス研究分野・鈴木 健之

肉腫は発生頻度が希少であることなどの理由から治療薬の開発が遅れており、新たな治療薬の開発が求められている。当研究室で見出された PI3K 阻害剤 ZSTK474 は、固形がんを対象にした第 I 相臨床試験の結果から、肉腫に対する有効性が示唆されている。われわれはこれまでに、肉腫サブタイプ 19 種計 34 細胞株に対する ZSTK474 の抗腫瘍活性を検討し本剤がユースイング肉腫や滑膜肉腫などの染色体転座陽性肉腫サブタイプ由来細胞株に選択的にアポトーシスを誘導することを示してきた。そこで本研究では、PI3K 阻害剤が上記のような染色体転座陽性肉腫に選択的にアポトーシスを誘導する分子メカニズムを明らかにすることを目的として以下の研究を進めた。

① 染色体転座陽性の肉腫サブタイプ由来細胞株において生存シグナルとして機能している PI3K アイソフォームを検討した結果、癌腫において主に機能している PI3K α だけでなく、PI3K β や PI3K δ も協調的に機能していることが分かった。

② PI3K 阻害剤によるアポトーシス誘導の際、ミトコンドリア膜電位の消失が認められ、その原因として PUMA、BIM、BAX などのアポトーシスを促進する Bcl2 family タンパク質の発現誘導が寄与していることが明らかとなった。

③ 染色体転座陽性肉腫サブタイプで認められる融合遺伝子は、クロマチンリモデリングによる幅広い遺伝子のエピジェネティックな発現制御によって細胞のがん化や生存を促進することが知られている。そこで本研究では、PI3K 阻害剤が融合遺伝子によるエピジェネティックな遺伝子発現機構に影響を与え、それに起因してアポトーシスが誘導されると仮説を立てた。それを実証するために、染色体転座陽性肉腫細胞株の各融合遺伝子をノックダウンした細胞と ZSTK474 などの PI3K 阻害剤を処理した細胞でゲノムワイドなヒストンの修飾状態の変化を ChIP-seq により解析・比較し、クロマチンリモデリング活性と PI3K 阻害剤によるアポトーシスの関連を網羅的に解析することとした。現在、クロマチン修飾抗体を用いた ChIP の条件検討を終え、ChIP-seq 実験を進めている段階である。本発表では、その解析結果についても報告したい。

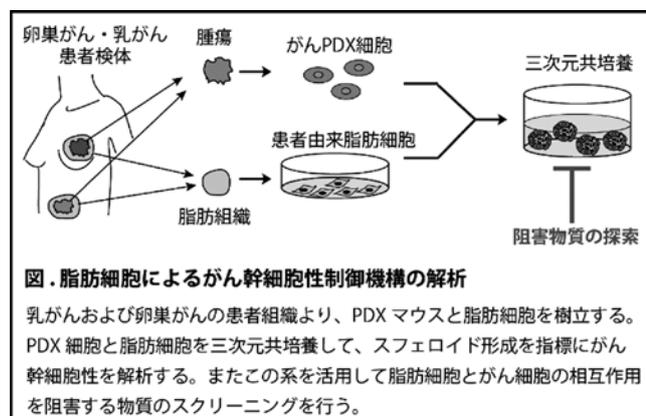
脂肪細胞によるがん幹細胞性制御能の解析

藤田医科大学 医学部 生化学講座・下野 洋平
金沢大学がん進展制御研究所 分子病態研究分野・後藤 典子

脂肪細胞は、主として代謝に関わる細胞と位置づけられてきたが、近年の世界的な肥満者の増加とともに乳がん、大腸がん、卵巣がん、前立腺がんなど各種のがんの悪性化因子としても注目されている。

私たちは、乳がん患者の手術検体より樹立した乳がん PDX 細胞と脂肪組織由来幹細胞 (ADSC) の三次元共培養実験を通じて、ADSC ががん細胞の増殖および幹細胞性を増強することを明らかにした。つぎに脂肪細胞の分泌分子アディプシンががん幹細胞性を亢進することを見出した (Goto H, Shimono Y et al. *Oncogene*, 2019) (図)。同様に、卵巣がんにおいても腹腔内脂肪より樹立した ADSC は三次元共培養により卵巣がん PDX 細胞のスフェロイド形成能を顕著に亢進させた。腹腔脂肪由来 ADSC のアディポカイン発現プロファイルを同定すると共に、網羅的薬剤スクリーニングにて両者の相互作用を阻害する薬剤候補を同定した。

卵巣がんの約半数を占める進行症例では、脂肪組織に富む腹膜への進展やがん再発のために 5 年生存率は約 40% と極めて低い。がん幹細胞性の亢進はがんの進展および遠隔転移を促進する重要な因子であることから (Yanagi H, Gotoh N, Shimono Y et al. *Cancer Science*, 2020 印刷中)、本研究の成果はがんの進展・転移の新たな機構の解明に寄与できる可能性がある。



参考文献

1. Goto H, Shimono Y et al. Adipose-derived stem cells enhance human breast cancer growth and cancer stem cell-like properties through adipin. *Oncogene*. 2019; 38: 767-779.
2. Yanagi H, Nishimura T, Gotoh N, Shimono Y et al. Upregulation of S100A10 in metastasized breast cancer stem cells. *Cancer Science*. 2020, in press.

脂肪酸伸長酵素ELOVL6の膀胱がんにおける役割

筑波大学 医学医療系・松坂 賢
金沢大学がん進展制御研究所 腫瘍分子生物学研究分野・高橋 智聡

【目的】膀胱癌は男性に多く、泌尿器系癌の中では前立腺がんに次いで2番目に多い癌である。膀胱癌は筋層非浸潤癌と筋層浸潤癌に大別され、それぞれ治療法および予後が大きく異なるが、有効なスクリーニングマーカーは無く、その発がん機序も十分に解明されていない。また、膀胱内に多発すること、再発率が約40～70%と非常に高いことが問題となっている。したがって、膀胱癌の有効な診断および治療法の確立が求められている。本研究では、炭素数(C)16から18への脂肪酸鎖長の伸長を担う酵素ELOVL6の膀胱癌における役割を明らかにすることを目的とした。【方法】ヒト筋層非浸潤膀胱癌細胞株RT112を用いて、膀胱癌におけるELOVL6発現制御機構を解析した。また、RT112およびヒト筋層浸潤性膀胱癌細胞株J82、253J、T24においてELOVL6をノックダウンし、細胞増殖への影響とその分子メカニズムを解析した。【結果】膀胱癌手術検体において、非癌部に比べて癌部ではELOVL6の発現が5.8倍増加した。筋層非浸潤膀胱癌では変異や融合によるFGFR3の恒常的活性化が知られているが、RT112においてFGFR3をノックダウンすると、転写因子SREBP-1の活性化の抑制(核型SREBP-1の減少)とELOVL6発現の減少が認められた。ELOVL6のノックダウンは、FGFR3遺伝子変異を有さないT24および253Jでは細胞増殖に影響を及ぼさなかったが、活性化FGFR3遺伝子変異を有するRT112およびJ82では細胞増殖を抑制した。Xenograftモデルによる造腫瘍能の検討では、*in vivo*においてもELOVL6ノックダウンによるRT112の腫瘍形成の抑制が認められた。さらに、ELOVL6をノックダウンしたRT112細胞のRNA-seq解析から、ELOVL6の阻害はmatrisomeと呼ばれる細胞外微小環境に関わる遺伝子の発現を変化させることが明らかとなった。【まとめと今後の課題】本研究により、膀胱癌ではELOVL6の発現が亢進し、特に活性化FGFR3遺伝子変異を有する膀胱癌において細胞増殖能や腫瘍形成能に重要な役割を果たすこと、その分子機序として細胞外微小環境の変化が関与している可能性が示された。今後、膀胱癌の増殖や悪性進展を促進する脂質分子種およびその作用機序を解明する。

細胞性粘菌の分化誘導因子DIF-3は哺乳動物培養細胞のmTOR pathwayを阻害する

金沢大学 医薬保健研究域 薬学系・山下 克美
金沢大学がん進展制御研究所 シグナル伝達研究分野・善岡 克次

細胞性粘菌 (*Dictyostelium discoideum* : 和名キイロタマホコリカビ) は、富栄養状態ではアメーバ状で増殖するが、貧栄養状態になると集合体を形成し、最終的に胞子を産生する胞子嚢とそれを支える柄からなる子実体に分化する。本研究の解析対象である DIF-1/3 は、アメーバ状の細胞群が集合体となり、最終的に子実体を形成する過程に作用する分化誘導因子 (Differentiation factor) として分離され、DIF-1/DIF-3 以外に DIF-2 が存在する。

その後 DIF 類がマウスやヒトの赤芽球性白血病細胞に対して細胞増殖抑制とヘモグロビン産生誘導能を示すことが発見され、DIF が腫瘍細胞に対して抗腫瘍活性を有することが期待された。さらに 2003 年に、DIF-1/DIF-3 を処理された HeLa 細胞において、細胞周期制御因子である cyclin D1 の分解誘導が報告され、HeLa 細胞においては DIF が cyclin D1 の分解を介して細胞周期の G1 期停止に関わる可能性が示唆された。

私達は、HeLa の G1 期停止は cyclin D のパートナーの CDK4 に対する強力な阻害剤である Palbociclib によっては誘導されないことから、DIF-1/DIF-3 による cyclin D の分解は HeLa 細胞における G1 期停止の主要な原因ではないと考え、より重要な細胞周期制御因子として Cdc25A を解析した。その結果、DIF-1/DIF-3 処理された全ての細胞株で、cyclin D とともに Cdc25A が分解されることを発見した。Cdc25A は DNA 損傷細胞で速やかに分解されるが、DIF-1/DIF-3 処理された細胞には DNA 損傷は誘導されていない。さらにこの Cdc25 分解は、proteasome 系を介さないことを確認した。これらの結果から、Cdc25A は DIF-1/DIF-3 処理細胞においては、これまでに報告がない新規な pathway で分解誘導されることが強く示唆された。

私達は、DIF-1/DIF-3 処理による Cdc25A の分解機構を解析する過程での G1 期停止誘導に着目し、その原因の一つとして mTOR pathway の阻害に着目して解析したところ、DIF-1/DIF-3 処理細胞において、mTOR kinase の基質である S6 kinase や 4E-BP1 のリン酸化が強く阻害されていることを発見した。Rapamycin は mTOR pathway を阻害するが、この阻害は、Rapamycin による FKBP12 への結合によってもたらされる間接的なものであり、mTOR kinase 活性は直接抑制されるわけではない。現在は、DIF-1/DIF-3 は mTOR kinase の阻害活性を有するか、Rapamycin のように間接的に mTOR pathway を阻害するかを明らかにすべく、*in vitro* の mTOR kinase assay 系を構築中である。

本研究で使用した DIF 化合物は、順天堂大学の久保原讓博士から供与を受けた。

皮膚発がんにおける骨髄由来間葉系前駆細胞とケモカインの相互関係および病態生理学的役割解明

和歌山県立医科大学 医学部 法医学教室・石田 裕子
金沢大学がん進展制御研究所 分子生体応答研究分野・向田 直史

8週齢の雄 C57BL/6 (野生型) マウスに, DMBA+TPA 塗布による皮膚がんを惹起したところ, DMBA+TPA 塗布後 2 週以降で皮膚組織における Cx3cl1 及び Cx3cr1 遺伝子発現が著明に亢進していた. また, CX3CL1 タンパク発現を F4/80 陽性マクロファージに, CX3CR1 タンパク発現を F4/80 陽性マクロファージ及び CD31 陽性血管内皮に認めた. そこで, Cx3cr1 遺伝子欠損マウスを用いて野生型マウスと同様に皮膚がんを惹起したところ, DMBA+TPA 塗布後 20 週で野生型マウスでは約 80% のマウスに乳頭腫が認められたのに対し, Cx3cr1 遺伝子欠損マウスでは約 50% のマウスにしか腫瘍形成を認めなかった. 腫瘍部への F4/80 陽性マクロファージ浸潤は, Cx3cr1 遺伝子欠損マウスで野生型マウスと比べて有意に減少していた. さらに, マクロファージのサブセットを検討したところ, 野生型マウスには CD206 陽性 M2 マクロファージが多数集積しており, また, M2 マクロファージの約 70% に CX3CR1 が発現していることが判明した. ヒト BCC および SCC 試料を用いて蛍光 3 重免疫染色を行ったところ, SCC では BCC と比べて多数の CD45⁺Col I⁺CX3CR1⁺ fibrocyte を認めた (図 1). 以上より, CX3CL1-CX3CR1 系が皮膚発がん, 増殖, 進展に重要な役割を担っていることが示唆された.

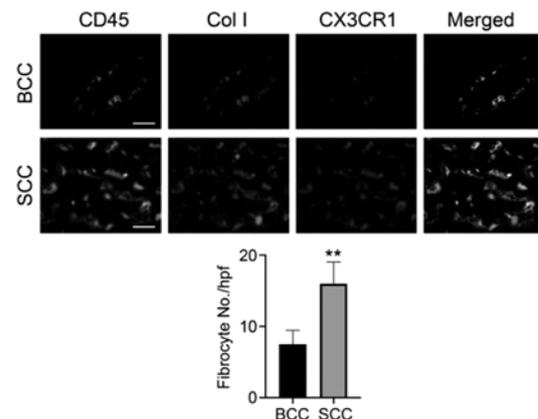


図 1. ヒト皮膚がん部への fibrocyte 浸潤

参考文献

- Ishida Y, Kuninaka Y, Yamamoto Y, Nosaka M, Kimura A, Furukawa F, Mukaida N, Kondo T. Pivotal Involvement of the CX3CL1-CX3CR1 Axis for the Recruitment of M2 Tumor-Associated Macrophages in Skin Carcinogenesis. *J Invest Dermatol.* 140:1951-1961.e6. 2020

ストレス応答によるEphA2の非定型的活性化を介したがん細胞の遊走機構

富山大学 学術研究部 薬学・和漢系・周 越
金沢大学 がん進展制御研究所 腫瘍内科研究分野・矢野 聖二

チロシンキナーゼ型受容体 EphA2 は、がん細胞で過剰発現しており、がん分子標的として注目を集めている。我々の研究室では、これまでに炎症性サイトカインや増殖因子などによって、ERK の下流キナーゼ RSK を介して EphA2 の非定型的活性化の指標となる Ser-897 のリン酸化が誘導され、がん細胞の遊走能を制御することを見出している。一方、がん微小環境では様々な炎症性サイトカインが発現しており、ストレス応答キナーゼ p38 が活性化状態にある。p38 はがんの悪性を誘導するが、EphA2 との関与については解析されていない。そこで本研究では、p38 による EphA2 非定型的活性化の新規制御機構の解明を目指した。

EphA2 のリン酸化への p38 の寄与を調べるために、HeLa 細胞に p38 阻害剤を前処理し、上皮成長因子 EGF または p38 の活性化を強く誘導するタンパク質合成阻害剤アニソマイシンを細胞に作用させた。EGF とアニソマイシンはいずれも EphA2 のリン酸化を誘導したが、アニソマイシン刺激でのみ p38 阻害剤は EphA2 のリン酸化を抑制した。EphA2 のリン酸化を制御する RSK のリン酸化を検出したところ、アニソマイシン刺激のみで RSK 活性の指標となる Ser-380 のリン酸化が抑制された。このことから、p38 は RSK の活性を直接調節すると考えたが、Ser-380 の周辺配列と p38 の基質コンセンサス配列を比較するとその相同性は低く、他のキナーゼの関与が示唆された。そのため、p38 の下流キナーゼ MK2 に着目した。MK2 はストレス応答に関わり、がん細胞の増殖を促進させ、抗アポトーシス作用を持つ。また、その発現はがん患者の予後と負の相関を示し、がんの悪性化に関わることが報告されている。RSK Ser-380 の周辺配列は MK2 の基質コンセンサス配列と高い相同性を持ち、実際にアニソマイシンによる EphA2 のリン酸化は MK2 阻害剤によって抑制された。以上のことから、アニソマイシン刺激では、p38 によって活性化された MK2 が RSK の活性を調節し、EphA2 のリン酸化を誘導することがわかった。最後に、機能解析を行うために、HEK293 細胞に EphA2 と RSK、p38、MK2 を過剰発現させた。活性型 p38 の導入により、MK2、RSK、EphA2 のリン酸化が誘導され、細胞遊走能が亢進した。以上のことから、慢性的な炎症に曝されているがん組織では、p38-MK2-RSK-EphA2 経路が恒常的に活性化されることで、がん細胞は高い遊走能を獲得し、がんの悪性進展につながると考えられる。

Glioma stem cell 標的型 Boron Neutron Capture Therapy 抵抗性の機序解明

京都大学複合原子力科学研究所・近藤 夏子

金沢大学がん進展制御研究所 腫瘍細胞生物学研究分野・平田 英周

悪性 Glioma は予後不良であり、特に Grade IV の Glioblastoma (GBM) は手術、放射線化学療法を行っても生存期間が約 14 か月で、免疫治療も効果を認めない。我々は、これまでに原子炉中性子源を用いたホウ素中性子捕捉療法 (Boron Neutron Capture Therapy: BNCT) を上記 Grade IV と III に適用し、予後延長を確認した¹。現在、悪性 Glioma に対する加速器中性子源 BNCT 治験が終了し、医療承認を待つ状況である。BNCT はホウ素薬剤 Boronophenylalanine (BPA) を投与し、熱中性子線を照射する。腫瘍細胞が L-Type Amino Acid Transporter 1 (LAT1) を介して BPA を取り込み、熱中性子を照射すると BPA 中の ¹⁰B と反応し、4~8 ミクロンの α 粒子と Li 原子核の高エネルギー放射線が発生し、腫瘍細胞が選択的に死滅する。しかし、本法では根治に至らず、再発の課題が残る。

我々は、通常の X 線治療・化学療法に抵抗性である Glioma stem cell (GSC) が、BNCT 後の再発に関与するものと考え、GSC への BPA の取り込みについて Mass Cytometer を用いて確認した。幹細胞培地で培養した Glioma Stem like Cell (GSLC) とそれを分化誘導した Differentiated cell (DC) とを比較すると、17 種類の GSC marker⁺ (Oct3/4, Nestin, SOX2, Musashi-1, PDGFR α , CD133, Notch2, Nanog, STAT3 or C-myc, etc) かつ BPA⁺ な細胞が DC に比して GSLC は 2~4 倍程度多いこと、in vivo でも脳腫瘍モデルマウスの GSC marker (SOX2, Nestin) 陽性細胞が 100% BPA を取り込むのに対し、GFAP 陽性の分化細胞は 40% 程度であることを発見した。以上の結果より BNCT において、BPA が GSC に積極的に取り込まれ、治療効果の発揮に繋がることを明らかにした²。では、なぜ BNCT 後グリオーマは再発・再増大するのか？ Glioma では GSC を取り巻く GSC niche と呼ばれる微小環境が存在する。GSC niche は血管内皮細胞・ペリサイトや腫瘍関連マクロファージなどからなる。残存腫瘍と Glioma niche や腫瘍辺縁の間質細胞との相互作用が再発の原因となると考え、現在その経路・介在シグナルを明らかにするための研究を行っている。

参考文献

1. Miyatake S, et al., *Neurol Med Chir (Tokyo)* 2016, 56, 361-71; doi: 10.2176/nmc.ra.2015-0297.
2. Kondo N. et al., *Cancers*, 2020, 12, 3040; doi:10.3390/cancers12103040

