

金沢大学がん研究所

年報 2010 年

金沢大学がん研究所

はじめに

金沢大学がん研究所は、文部科学省唯一のがん研究所として、昭和42年に臨床研究部門を含む8研究部門制で設立され、その後順次整備を行い、10部門制となりました。平成9年度に新規抗がん治療法などの開発を目指す“分子標的薬剤開発センター”の設置を伴う3大部門制への改組、平成18年度には2センター・2大部門制への改組を行い、国内外のがん研究の目覚ましい進歩に対応してきました。この間、がん転移に関わるタンパク分解酵素の発見、がんの転移・浸潤に密接に関与している種々の生理活性物質の機能解明を始めとした基礎研究のみならず、新規の抗がん剤の開発・分子標的薬の耐性機構の解明などの臨床研究においても、本研究所は大きな成果を挙げてきています。

平成19年度に施行のがん基本対策法においては、がん研究の基礎研究の成果を診断・治療法の開発に結びつける努力が一層強く求められています。このような社会的要請に応えるため、がん診療において今日なお未解決な点が多い「転移」「薬剤耐性」の克服を目指すことを、研究所全体の使命と位置づけました。この使命の遂行のために、「転移」「薬剤耐性」の成立過程に密接に関与している「がん幹細胞」「がん微小環境」の実態解明が必要であると考え、文部科学省・特別経費（課題名：がんの細胞社会学の創出事業；本年度より5年間の予定）の補助を受け、「がん幹細胞研究プログラム」「がん微小環境研究プログラム」「がん分子標的探索プログラム」「がん分子標的医療開発プログラム」の4つのプログラムからなる体制へと本年度改組いたしました。

さらに、老朽化していた基礎部門の研究棟を角間キャンパスに昨年度末に新築移転したことを契機に、学内ならびに学外の多くの研究グループとの共同研究を従来以上に推進するために、共同研究資源ならびに共同利用設備として、ヒトがん組織バンク・マウス発がんモデル組織バンク・ヒトがん細胞株バンク・前臨床実験施設・臨床治験施設を拡充・整備いたしました。これらの取り組みを踏まえて本年度行いました、全国共同利用・共同研究拠点認定への申請が採択されました。これを受けて、「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、「転移」「薬剤耐性」の国内外の共同研究の拠点となるべく、研究所全体として鋭意努力しているところであります。また、研究所全体としての使命を明確にすることを目的に、来年度には研究所の名称を「がん進展制御研究所」へと変更する予定でいます。

このような過渡期のなか、本研究所が現在行っている研究活動の内容を、平成22年度の金沢大学がん研究所年報から、ご理解いただければ幸いに存じます。

金沢大学がん研究所長 向田直史

金沢大学がん研究所年報 2010年

目 次

遺伝子・染色体構築研究分野	1
腫瘍遺伝学研究分野	8
腫瘍分子生物学研究分野	14
細胞機能統御研究分野	18
分子生体応答研究分野	21
免疫炎症制御研究分野	26
腫瘍動態制御研究分野	30
ゲノム分子病態研究分野	35
シグナル伝達研究分野	38
腫瘍制御研究分野	41
機能ゲノミクス研究分野	48
腫瘍内科・腫瘍外科研究分野	52
中央実験施設	63

遺伝子・染色体構築研究分野

<研究スタッフ>

教授：平尾敦 準教授：仲一仁 助教：田所優子、星居孝之

日本学術振興会特別研究員：大塩貴子

村口輝行（7月より University of California,
San Francisco に留学（学振 海外特別研究員））

大学院生：守護晴彦、上間徳之、田中慎吾、Mohamed Ali、山田大祐

技術補佐員：田村恭子、澤和恵

技能補佐員：竹上美也子

<研究概要>

当研究分野では、幹細胞の自己複製および分化制御メカニズムを理解すること、幹細胞とがんの共通性を知ることによって、がんの発生や動態制御メカニズムを理解すること、さらに、上記の知見に基づいて新規がん治療法の開発を目指し研究を進めている。本年度遂行した具体的な研究テーマは、①造血、神経を中心とした組織幹細胞維持および分化における FOXO, TGF β , mTOR の役割、②がん幹細胞の特定と制御機構の解明、③脳腫瘍発生における神経幹細胞分化の役割などである。

<本年度の主な研究成果と、今後の研究の方向性>

1) TGF β -FOXO シグナルと白血病幹細胞

造血幹細胞と類似した性質の白血病幹細胞をもつ慢性骨髄性白血病の解析を進め、白血病幹細胞において FOXO が活性化していること、FOXO 機能を欠損させることによって白血病幹細胞の維持能低下が起こることを明らかにした。また特効薬としてのチロシンキナーゼ阻害剤イマチニブ中止後の再発の原因として、白血病幹細胞における FOXO の活性化が原因のひとつであることを明らかにした(*Nature*, 2010)。さらに、TGF β シグナルが、FOXO の上流分子として重要な役割を果たしていることを見いだし、その阻害剤が白血病治療に有効であることを確認した。現在、FOXO の活性化メカニズム、下流分子の特定を進め、新たな治療標的の探索を行っている。

2) 脳腫瘍の発生メカニズムと神経幹細胞分化

神経幹細胞における EGF-RAS 経路活性化状態における細胞分化運命決定制御因子を解析した。その結果、RAS 活性化が神経幹細胞のグリア系への分化を誘導すること、この分化誘導が阻害されると腫瘍形成が促進されることを見い出した。さらに、本モデルを遺伝子改変マウスと組み合わせることによって、ヒトのグリーマ grade III あるいは grade IV と同じ病理的特徴を持つ腫瘍を再現させることに成功した(*Cancer Research*, in press)。悪性度の高い腫瘍 (GBM, grade IV) ほど、未分化抗原の発現が見られ、一方悪性度の低い腫瘍(Anaplastic astrocytoma, grade III)では、分化抗原が高い発現を示していた。grade IV は sphere 形成能を示すが、grade III ではその活性が見られないなど、悪性度と未分化性の相関を確認した。さらに、この系を用いて、脳腫瘍悪性進展に関わる因子を同定している。

3) mTOR シグナルと造血幹細胞および白血病幹細胞

FOXO とならび、PI3K-Akt シグナルによって制御を受ける mTOR の活性化制御が、造血幹細胞の制御に重要な役割を果たしていることを見出した。mTOR 複合体 1 の活性に影響を与えるいくつかの分子の変異マウスを解析した結果、本複合体が造血幹細胞の機能および数の制御に極めて重要な役割を果たしていることが判明した。さらに、白血病モデルを作成し、白血病幹細胞では、大部分の白血病細胞と mTOR シグナルの依存性が大きく異なること、幹細胞の生存には他のシグナルとのクロストークが重要であることが明らかになった。同時に、ATP 経路、オートファジーなど関連シグナルも解析を行っている。これらの詳細を知ることは、白血病治療戦略に重要である。

4) マルチオミクス解析によるがん動態制御機構の解明

最近 mTOR 阻害剤が開発され、抗がん剤としての臨床治験が進んでいる。現在、治療に使用されている腎細胞癌のみではなく、乳がん、肺がん、肝がんなど複数の難治がんにおける有効性が期待されている。我々は、がん幹細胞の観点から mTOR の役割を解析しているが、これらの難治がんにおける mTOR の役割を知るため、上記変異マウスを用い各種がんモデルを構築している。腫瘍サンプルを用いた網羅的リン酸化蛋白解析にて mTOR 標的蛋白の特定、新規分子の探索を行っている（慶應義塾大学先端生命科学研究所との共同研究）。さらに、臨床検体で検証し、新規治療診断マーカー、分子標的の特定を目指す。

<発表論文>

原著論文

(研究室主体)

1. Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Tadokoro Y, Ooshio T, Kondo Y, Nakao S, Motoyama N, Hirao A. TGF β -FOXO signalling maintains leukaemia-initiating cells in chronic myeoid leukaemia. *Nature*, 463:676-80.2010.
2. Muraguchi T, Tanaka S, Yamada D, Tamase A, Nakada M, Nakamura H, Hoshii H, Ooshio T, Tadokoro Y, Naka K, Ino Y, Todo T, Kuratsu J, Saya H, Hamada J, Hirao A. NKKX2.2 suppresses self-renewal of glioma-initiating cells. *Cancer Res.* in press

(共同研究)

3. Takubo K, Goda N, Yamada W, Iriuchishima H, Ikeda E, Kubota Y, Shima H, Johnson RS, Hirao A, Suematsu M, Suda T. Regulation of the HIF-1alpha level is essential for hematopoietic stem cells. *Cell Stem Cell*. 7:391-402, 2010
4. Takeuchi S, Takahashi A, Motoi N, Yoshimoto S, Tajima T, Yamakoshi K, Hirao A, Yanagi S, Fukami K, Ishikawa Y, Sone S, Hara E, Ohtani N. Intrinsic Cooperation between p16INK4a and p21Waf1/Cip1 in the Onset of Cellular Senescence and Tumor Suppression In vivo. *Cancer Res.* 70:9381-90, 2010
5. Su YW, Hao Z, Hirao A, Yamamoto K, Lin WJ, Young A, Duncan GS, Yoshida H, Wakeham A, Lang PA, Murakami K, Ohashi P, Mak TW. 14-3-3sigma regulates B-cell homeostasis through stabilization of FOXO1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 108:1555-60, 2011

総説

1. Naka K, Hoshii T, Hirao A. Novel therapeutic approach to eradicate tyrosine kinase inhibitor resistant chronic myeloid leukemia stem cells. *Cancer Sci.* 101:1577-81, 2010
2. 平尾敦：“幹細胞らしさ”を支える代謝システム 細胞工学、30:47-51, 2011
3. 平尾敦：新規治療標的分子探索に向けた白血病幹細胞研究、細胞42:574-577, 2010

4. 仲一仁、平尾敦：白血病におけるTGF-βシグナル、医学のあゆみ、234:963-7, 2010
5. 仲一仁、平尾敦：慢性骨髄性白血病とTGF-β、医学のあゆみ、234:573-6, 2010
6. 仲一仁、平尾敦：がん幹細胞と抗がん剤抵抗性、腫瘍内科、5:518-22, 2010
7. 仲一仁、平尾敦：TGF-β-FOXOシグナルによる白血病幹細胞の抗がん剤抵抗性機構、細胞42:18-21, 2010

<学会発表>

国際学会

1. Hirao A: Molecular mechanisms regulating maintenance of leukemia stem cells. The 15th Japanese Foundation for Cancer Research-International Symposium on Cancer Chemotherapy (JFCR-ISCC), Dec. 2-3, 2010, Tokyo (invited)
2. Hirao A: Role of PI3K-AKT signals in the maintenance of normal and leukemia stem cells, Tokyo iPS/Stem cell symposium, Nov.24, 2010, Tokyo (invited)
3. Hirao A : Roles of PI3-K signals in the maintenance of normal and leukemia stem cells, ESH-ICMLF Twelfth International Conference. CHRONIC MYELOID LEUKAEMIA - Biological Basis of Therapy Sep 24-16, 2010, Washignton DC, USA (invited)
4. Hirao A: Roles of TGFβ/FoxO in the maintenance of leukemia stem cells, The 59th Fujihara Seminar, Molecular mechanisms of TGF-β signaling and disease, July 14 -17, 2010, Tomakomai, Japan (invited)
5. Hirao A: Regulation of hematopoietic stem cell homeostasis and leukemia. AACR/JCA 8th Joint Conference: Cancer Genomics, Epigenomics, and the Development of Novel Therapeutics, Feb 7,2010 Hawaii, USA (invited)
6. Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Tadokoro Y, Ooshio T, Motoyama N, Oshima M, Hirao A:Foxo3a is essential for survival of leukemia-initiating cells in chronic myeloid leukemia. American Association for Cancer Research 101th Annual meeting, Apr. 17th-21st, Washington DC, USA
7. Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Tadokoro Y, Ooshio T, Kondo Y, Nakao S, Motoyama N, Hirao A :Molecular Mechanism Regulating Foxo In Leukemia Initiating Cells of Chronic Myeloid Leukemia. The 52nd American Society of Hematology Annual meeting and exposition, Dec. 4-7, 2010, Orlando, FL, USA
8. Hoshii T, Tadokoro Y, Naka K, Ooshio T, Muraguchi T, Araki K, Yamamura K, Hirao A : Critical Roles of mTORC1 signaling in maintenance of hematopoietic

stem cells, The Joint Symposium of the 5th International Symposium of Institutes Network, Jun 24th, 2010, Kanazawa

9. Hoshii T, Tadokoro Y, Naka K, Ooshio T, Muraguchi T, Araki K, Yamamura K, Hirao A: Strict regulation of mTOR signaling is essential for hematopoietic stem cell maintenance in vivo, The 8th Stem Cell Research Symposium Program, Awaji, May 15, 2010

全国学会

10. Hirao A: Regulation of stem cell homeostasis and tumorigenesis. BMB2010, 平成 22 年 12 月 8 日、神戸
11. 平尾敦 : 造血幹細胞および白血病幹細胞維持制御メカニズム 日本顕微鏡学会、平成 22 年 11 月 12 日、金沢
12. 平尾敦 : 腫瘍悪性進展制御と細胞分化、第 48 回日本癌治療学会、平成 22 年 10 月 27 日、京都
13. 平尾敦 : 代謝解析による幹細胞制御機構の解明、第 3 回公開シンポジウム CREST「代謝調節機構解析に基づく細胞機能制御基盤技術」研究領域、平成 22 年 10 月 21 日、東京
14. Hirao A: Molecular mechanisms regulating self-renewal of glioma-initiating cells. 第 69 回日本癌学会、平成 22 年 9 月 22-24 日、大阪
15. 平尾敦 : 栄養代謝制御シグナルと造血幹細胞、第 31 回日本炎症・再生医学会、平成 22 年 8 月 6 日、東京
16. 平尾敦 : 白血病幹細胞制御機構の解明と治療戦略 第 14 回日本がん分子標的治療学会学術集会、平成 22 年 7 月 8 日、東京
17. 平尾敦 : 幹細胞研究に基づいた脳腫瘍の発生・病態制御機構解明へのアプローチ、第 19 回日本がん転移学会学術集会、平成 22 年 6 月 16 日、金沢
18. 平尾敦 : 寿命制御シグナルと造血幹細胞、第 10 回日本抗加齢医学会総会、平成 22 年 6 月 11 日、京都
19. 平尾敦 : フォークヘッド転写因子 FoxO による造血幹細胞および白血病幹細胞制御第 9 回日本再生医療学会、平成 22 年 3 月 19 日、広島
20. Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Tadokoro Y, Ooshio T, Kondo Y, Nakao S, Motoyama N, Hirao A : Foxo3a is essential for maintenance of chronic myelogenous leukemia-initiating cells. 第 69 回日本癌学会、平成 22 年 9 月 22-24 日、大阪
21. Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Tadokoro Y, Ooshio T, Kondo Y, Nakao S, Motoyama N, Hirao A : Foxo3a is essential for maintenance of chronic

myelogenous leukemia-initiating cells. 第 72 回日本血液学会総会, 平成 22 年 9 月 24-26 日、横浜

22. 仲一仁、平尾敦：TGF- β -FOXO シグナルによる白血病幹細胞の抗がん剤抵抗性機構の解析, 第 19 回日本がん転移学会, 平成 22 年 6 月 16-17 日、金沢
23. 仲一仁, 平尾敦：白血病幹細胞の抗がん剤抵抗性機構の解析、第 19 回日本癌病態治療研究会, 平成 22 年 6 月 30-7 月 1 日、東京
24. 星居孝之、田所優子、村口輝之、大塩貴子、仲一仁、平尾敦：TSC-mTOR signaling controls the hematopoietic stem cell pool 日本分子生物学会第10回春季シンポジウム、平成22年6月7日 宮城
25. 星居孝之、畠山朋樹、田所優子、仲一仁、大塩貴子、村口輝之、平尾敦：Rapamycin inhibits initiation of T-ALL induced by activation of oncogenic K-ras 第69回日本癌学会学術総会、平成22年9月22日、大阪

<外部資金（平成 22 年度）>

公的資金

1. 平尾敦：基盤研究 (B) 「細胞老化・寿命制御シグナルによる白血病幹細胞の発生・維持・分化」 4,300 千円
2. 平尾敦：戦略的創造研究推進事業 代謝調節機構解析に基づく細胞機能制御に関する基盤技術の創出「代謝解析による幹細胞制御機構の解明」 35,000 千円
3. 平尾敦：挑戦的萌芽研究 「腫瘍悪性度進展における未分化性獲得メカニズムの解明」 3,000 千円
4. 平尾敦：厚生労働省がん研究開発費「mTOR 経路調節による白血病治療法の開発」 1,000 千円
5. 仲一仁：基盤研究(C) 「フォークヘッド転写因子Foxoによる白血病幹細胞の維持機構の解明」 1,100 千円
6. 田所優子：若手研究(B) 「Spred-1 の機能に着目した造血幹細胞及び白血病幹細胞ニッチの解析」 1,600 千円
7. 星居孝之：若手研究 (B) 「mTOR 複合体 1 による正常造血幹細胞・白血病幹細胞制御機構の解明」 1,500 千円
8. 村口輝行：特別研究員奨励費「発がん防御機構における細胞老化 (OIS) を介した幹細胞分化制御の役割」 800 千円
9. 大塩貴子：特別研究員奨励費「プリンヌクレオチド合成経路によるがん幹細胞の未分化維持機構の解明」 1,000 千円

民間資金

1. 仲 一仁 : 2010年武田科学振興財団研究助成金「白血病幹細胞における細胞周期静止期制御メカニズムの解析」3,000千円
2. 仲 一仁 : 第28回持田記念研究助成金「TGF-βシグナルによる白血病幹細胞の維持機構の解析」3,000千円
3. 仲 一仁 : 第24回北國がん基金「がん幹細胞におけるフォークヘッド転写因子FOXOの制御メカニズムの解析」2,000千円

<共同研究>

学内

1. 白血病幹細胞解析 : 医学系研究科 血液内科 中尾眞二
2. 脳腫瘍幹細胞解析 : 医学系研究科 脳神経外科 中田光俊、浜田潤一郎

学外

3. 白血病幹細胞におけるFOXOの役割解析 : 国立長寿医療センター 本山昇
4. 脳腫瘍幹細胞解析 : 東京大学大学院医学系研究科脳神経外科 藤堂具紀
5. 脳腫瘍幹細胞解析 : 慶應義塾大学医学部 佐谷秀行
6. 脳腫瘍幹細胞解析 : 熊本大学大学院医学系研究科脳神経外科 倉津 純一
7. 白血病幹細胞解析 : 名古屋大学大学院医学系研究科血液腫瘍内科学 直江知樹
8. マルチオミクス解析 : 慶應義塾大学先端生命科学研究所 曾我朋義
9. 細胞老化とがん幹細胞 : 癌研究会癌研究所 原英二

腫瘍遺伝学研究分野

<研究スタッフ>

教授	大島 正伸	大学院生(博士)	孔 丹
助教	石川 智夫		鞠 小麗
助教	大島 浩子	大学院生(修士)	野村 歩未
特任助教	Boryana Popivanova		西尾 千尋
研究員	小熊 圭祐(学振 PD)		柴野 好美
技能補佐員	渡邊 真奈美	学部生(4年)	杉森 慎
技術補佐員	津田 理子		

<研究概要>

消化管腫瘍の発生には、がん関連遺伝子の変異とともに感染に起因した慢性炎症をはじめとする生体反応が重要な役割を果たしている。Wnt活性化、およびPGE₂依存的な慢性炎症反応の相互作用により胃がんを発生するマウスモデル(*Gan* マウス)は、分子発生メカニズムや腫瘍組織の遺伝子発現変化など、ヒト胃がんを外挿したモデルである。当研究分野では、*Gan* マウスを用いた実験を中心に、発がんにおける生体反応の役割とその発生機序の解明を目指した研究を進めている。

<2010年度の成果・進捗状況>

(1) 細菌感染とEP4シグナルによる炎症と胃がん発生

無菌化マウスの作製により、常在菌の感染刺激による胃がん発生への影響について解析した。*Gan* マウスを無菌環境で飼育すると胃がん発生が顕著に抑制され、無菌飼育した*Gan* マウスに常在菌を再感染させると、胃がん発生が誘導された。この実験により、細菌感染刺激が胃発がんに重要であることを示した。また、4種類のPGE₂受容体(EP1～EP4)のうち、EP4選択性的阻害薬の投与により*Gan* マウスの胃がん発生が顕著に抑制され、胃発がん過程でのEP4を介したシグナルの重要性を示した。

さらに詳細な解析により、感染によるLPS刺激とEP4受容体シグナルの相互作用によりCCL2およびCCL8が誘導され、それによりM2に分化したマクロファージが胃粘膜組織に浸潤・活性化することを明らかにした。また、*Gan* マウスでマクロファージ枯渇実験を行なうと、胃がん組織の退縮変化が認められた。以上の結果から、細菌感染刺激とEP4シグナルの相互作用によりマクロファージが胃がん組織に浸潤し、Wnt活性化により腫瘍化した胃がん細胞の増殖・維持を促進すると考えられた(*Gastroenterology*, 2011)。

(2) PGE₂/炎症依存的に活性化する EGFR 経路の解析

Gan マウス胃がん組織では、EGFR リガンドの amphiregulin、epiregulin、betacellulin、HB-EGF の発現が、EP4 受容体を介した PGE₂ シグナル依存的に誘導され、これらの分子を細胞膜から遊離する ADAM8、ADAM9、ADAM10、ADAM17 の発現が、同時に炎症反応依存的に誘導されることを明らかにした。すなわち、胃がん組織では PGE₂/EP4 依存的に EGFR が活性化していると考えられた。さらに、EGFR 阻害薬と COX-2 阻害薬の組み合わせによる投与実験により、*Gan* マウス胃がん発生が顕著に抑制され事から、あらたな胃がん予防戦略の可能性が考えられた(*Cancer Sci*, 2011)。

(3) Wnt シグナル活性と標的因子の解析

これまでに、TNF- α が胃がん細胞の Wnt シグナルをプロモーションしていることを明らかにした。今年度は、TNF- α 刺激が胃粘膜前がん病変の発生頻度や、胃がん組織での Wnt 活性化に関与することを明らかにした(*Gastroenterology*, 2011)。しかし、がん細胞の種類によっては TNF- α 依存的 Wnt 亢進を示さないものもあり、それぞれのがん細胞の遺伝子変異と TNF- α 反応性の相関についての解析の重要性が考えられた。

また、Wnt 標的因子の中でも細胞の dysplasia を引き起こし、腫瘍原性に直接関与する因子は明らかにされていない。今年度から Wnt 依存的 dysplasia 誘導因子の探索を始めた。これまでに報告のない新規 Wnt 標的因子が *Gan* マウス胃がん組織およびヒトがん細胞で Wnt 依存的に誘導されることを見いだした。これらの因子による、正常上皮細胞における dysplasia 誘導機構を研究するための実験系として、胃粘膜上皮の3次元初代培養系を開発し、改良を進めている。

(4) その他の研究内容

Gan マウス胃がんでは、炎症反応依存的にマイクロ RNA の発現が劇的に変化する。その中からがん抑制に作用する miR-7 に着目し、炎症による発現制御を明らかにした。

<今後の計画>

『発がんにおける炎症反応の役割の解明』を、研究の重要な柱として推進する。そのため、TNF- α や MyD88、*H. pylori* 由来因子の胃発がんにおける役割について、*Gan* マウスを用いた遺伝学的解析を現在進めている。また、炎症依存的に発現変化する遺伝子産物や microRNA による、がん細胞の未分化性または幹細胞性、腫瘍原性獲得機構の研究を推進する。また、『新しい概念による発がんプロセスの理解』をもうひとつの重要な柱と位置づけた研究を展開する。すなわち、*Gan* マウスおよび *Apc*¹⁷¹⁶ マウスと、Wnt 制御因子、分化誘導因子、発生関連因子などの遺伝子改変マウスとの交配実験を実施し、これまでの多段階発がんとは異なる概念による、がん悪性化機構を探る。

<発表論文・総説>

(研究室主体)

1. Oshima H, Hioki K, Popivanova BK, Oguma K, van Rooijen N, Ishikawa T, and Oshima M. Prostaglandin E₂ signaling and bacterial infection recruit tumor-promoting macrophages to mouse gastric tumors. *Gastroenterology* 140: 596-607, 2011.
2. Oshima H, Popivanova BK, Oguma K, Kong D, Ishikawa T, and Oshima M. Activation of epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling by the prostaglandin E₂ receptor EP4 pathway during gastric tumorigenesis. *Cancer Sci* 2011, *in press*.
3. Oguma K, Oshima H, and Oshima M. Inflammation, tumor necrosis factor and Wnt promotion in gastric cancer development. *Future Oncol* 6: 515-526, 2010. [Review]
4. Oshima H and Oshima M. Mouse models of gastric tumors: Wnt activation and PGE₂ induction. *Pathol Int* 60: 599-607, 2010. [Review]

(共同研究)

1. Ishikawa T, Oshima M, and Herschman HR. Cox-2 deletion in myeloid and endothelial cells, but not in epithelial cells, exacerbates murine colitis. *Carcinogenesis* 2011, *in press*.
2. Sonoshita, M, Aoki, M, Fuwa H, Aoki K, Hosogi H, Sakai Y, Hashida H, Takabayashi A, Sasaki M, Robine S, Itoh K, Yoshioka K, Kakizaki F, Kitamura T, Oshima M, and Taketo MM. Suppression of colon cancer metastasis by Aes through inhibition of Notch signaling. *Cancer Cell* 19:125-137, 2011

<日本語総説>

1. 大島 浩子、大島 正伸:胃癌発生における炎症反応の役割. *細胞工学*, 29: 576, 2010.
2. 大島 浩子、大島 正伸:慢性炎症と発がん:炎症性微小環境による発癌機構. *実験医学*, 28: 1698, 2010
3. 石川 智夫、大島 正伸:炎症発癌とCOX-2, *Medical Science Digest*, 36: 1150, 2010.

<国際学会・国際シンポジウム> (*発表者)

1. Oshima H, Oguma K, Hioki K, and *Oshima M: Recruitment of tumor-associated macrophages by cooperation of PGE₂ pathway and infectious stimulation. *101th Annual Meeting of American Association for Cancer Research (AACR)*, (Washington DC) April 17-21, 2010.
2. Oshima M: Inflammatory responses in gastrointestinal tumorigenesis. *5th International Symposium of Institute Network*, (Kanazawa) June 24-25, 2010.

3. *Ishikawa T, and Herschman HR: Genetic analysis of Cyclooxygenase-2 (COX-2) expression and function. *5th International Symposium of Institute Network*, (Kanazawa) June 24-25, 2010.
4. Oshima M: Gastric tumorigenesis in mice through Wnt activation and PGE₂-induced inflammatory responses. *International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa –Satellite Symposium of 14th International Congress of Immunology*, (Kanazawa) August 28-29, 2010.
5. Oshima M: Inflammation and gastric tumorigenesis in Wnt and PGE₂ transgenic mouse model. *Gachon International Gastric Cancer Symposium*, (Incheon, Korea) Oct 9, 2010
6. Oshima M: Inflammatory responses and infection in Gastric tumorigenesis of mouse model. *International symposium on TGF-β signaling, Inflammation and Cancer Prevention*, (Seoul, Korea) Nov 5, 2010.
7. Oshima M: Gastric cancer mouse models to understand the “biology of cancer”. *Seoul National Univ. Cancer Research Institute Symposium –Linking Systems Biology to Cancer Research*, (Seoul, Korea) Nov 6, 2010.
8. *Oshima H, and Oshima M: Inflammatory microenvironment by cooperation of PGE₂ and bacterial infection in mouse gastric tumors. *15th Japan-Korea Cancer Research Workshop*, (Incheon, Korea) Dec 21-22, 2010.

<国内学会>(*発表者)

1. 大島 正伸: 炎症と胃がん発生: Pathway specific マウスモデルからのアプローチ. 第 26 回日本毒性病理学会(金沢) Feb 3-5, 2010.
2. 大島 正伸: 胃癌モデルマウスにおける initiation-promotion 解析. 第 19 回日本がん転移学会学術集会(金沢) May 16-17, 2010.
3. 大島 正伸: Wnt 活性化と炎症による胃がん発生の分子機序. 第 29 回分子病理学研究会(つくば) July 31-Aug 5 2010.
4. 大島 正伸: 胃癌発生を促進する炎症反応の分子機序. 第 7 回日本病理学会カンファレンス. (岡山) Aug 6-7, 2010.
5. 大島 正伸: 胃発がんにおける炎症反応とプロスタグランジン E2 の役割. 第 25 回発癌病理研究会(松島) Aug 24-26, 2010.
6. *Oshima H, and Oshima M: Gastric tumorigenesis through bacterial infection and COX-2/PGE₂ signaling pathway. *69th Annual Meeting for Japanese Cancer Association*, (Osaka) Sep 22-24, 2009. [日本癌学会学術総会]
7. Ishikawa T: Tumor formation without cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in a mouse model of colitis-associated cancer. *69th Annual Meeting for Japanese Cancer*

Association, (Osaka) Sep 22-24, 2009. [日本癌学会学術総会]

8. Oshima M: Promotion of gastric tumorigenesis by inflammatory prostaglandin E₂. 第 33 回日本分子生物学会年会/第 83 回日本生化学会大会合同大会 [BMB2010] (神戸) Dec 7-9, 2010.

<外部資金>

科学研究費補助金

新学術領域研究:(研究代表者:大島 正伸) 20,900 千円

「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」

基盤研究(B):(研究代表者:大島 正伸) 4,800 千円

「COX-2/PGE₂経路と炎症による胃癌発生促進機序の研究」

基盤研究(C):(研究代表者 大島 浩子) 1,300 千円

「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」

挑戦的萌芽研究:(研究代表者 大島 正伸) 1,500 千円

「スフェロイドを用いた胃上皮幹細胞維持に作用する Wnt 標的分子の探索」

研究活動スタート支援:(研究代表者:石川 智夫) 1,260 千円

「マウス消化器がんモデルを用いた悪性化・転移機構の探索」

第3次対がん総合戦略研究事業[厚生労働省](研究分担者:大島 正伸) 6,000 千円

「疾患モデル動物を用いた環境発がん初期過程の分子機構および感受性要因の解明とその臨床応用に関する研究(研究代表者:中釜 斎)」

その他

ノバルティス研究奨励金(研究代表者:大島 正伸) 1,000 千円

「消化管腫瘍発生における Sox17 の作用」

<共同研究>

CHA Cancer Institute, CHA University (Korea) Dr. Seong-Jin Kim

「マウスモデル胃病変における RNA シーケンス解析」

シンガポール国立大学 伊藤 嘉明 / 長崎大学 伊藤 公成

「胃がん発生における Wnt 制御因子と炎症反応との相互作用の役割」

国立がん研究センター研究所 牛島 俊和

「慢性炎症反応を起こしたマウス胃粘膜におけるエピジェネティック解析」

東京大学医学研究科 畠山 正則

「PGE₂依存的炎症とピロリ菌由来因子による胃がん発生促進機構の研究」

(以下、マウスモデルまたは組織提供による共同研究)

慶應義塾大学医学部 佐谷 秀行

「消化器がんにおける CD44 の発現意義および治療抵抗性の分子機構」

国立がん研究センター研究所 大木 理恵子

「消化器がんの悪性化におけるがん抑制遺伝子 p53 の役割」

東京大学医科学研究所 清木 元治

「胃がん発生における MT1-MMP、MT1-MMP 関連因子の研究」

大阪大学生命機能研究科 月田 早智子

「クローディンと胃癌・胃炎」

秋田大学医学研究科 柴田 浩行

「スーパークルクミン誘導体を用いた胃癌の治療・予防法の開発に関する研究」

北海道大学遺伝子病制御研究所 地主 将久

「感染、炎症発癌に寄与する自然免疫と感染因子とのクロストークの分子免疫学的研究」

Gastroenterology and Hepatology, The Canberra Hospital (Australia) Dr. Doug Taupin

“The unfolded protein response in *H. pylori*-induced carcinogenesis”

腫瘍分子生物学研究分野

<研究スタッフ>

教授：高橋智聰

助教：木戸敬治 Shamma Awad

博士研究員：北嶋俊輔

技能補佐員：鈴木美砂

<研究概要>

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細胞やマウスを中心に、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、発がんや転移、がん幹細胞等の悪性形質を克服するための標的になる新規パスウェイを探索する。現在の主要課題は以下の通り。

- 1) Rb(retinoblastoma)がん抑制遺伝子の新規機能の解明
- 2) *in vitro* がん幹細胞モデル系の開発
- 3) メタロプロテアーゼ制御因子 RECK のがん抑制作用の解明

<2010年度の成果、進行状況と今後の計画>

1. Rb 不活性化によって誘導される DNA 損傷応答と細胞老化

Rb 不活性化を含む Rb 経路の異常は、進行がんの 9 割以上において観察される。Rb 不活性化による発がんが、Ras 蛋白質の成熟促進によって誘導される細胞老化によって拮抗されることを昨年度発表した。Rb 不活性化によって生じる早期 C 細胞腫瘍では、細胞老化の誘導に先立って DNA 損傷応答が観察される。本年度は、Rb-ATM 二重欠損マウスを解析し、DNA 損傷応答が細胞老化の誘導に必須であることを遺伝学的に証明した。ついで、その分子機序を探索、少なくとも Rb 不活性というコンテキストでは、ATM が、p16Ink4a 遺伝子のエピジェネティックな転写制御に関わることを見出した。DNA 損傷応答と細胞老化のつなぎ目と考え、この機序を更に探索している。このような研究によって、がん抑制遺伝子不活性化による発がんに対抗する生体防御機構を明らかにすることにより、発がん制御の方策を探ることができると考える。

2. Rb 機能と AKT 経路

Rb 不活性化は、がんのイニシエーションよりもむしろプログレッションにおいて高頻度に観察される。この意義はなんであろうか？本年度は、Rb が AKT の特定部位のリン酸化を制御する機能に強く注目した。このパスウェイは、がん細胞の lipogenic phenotype や stemness 獲得に関与する可能性があると考え、その機序の解明と、出口となる生物学的現象の同定を、様々な複合変異マウスや細胞を用いて行っている。

3. Rb 機能とがんの幹細胞様振る舞い

Rb ファミリーをすべて欠く MEF は、細胞老化を早期に逸脱するだけでなく、足場非依存的な増殖を契機に、nanog, sox2 など、幹細胞の自己複製能維持や腫瘍の足場非依存的増殖等に必要とされる遺伝子群を発現し始め、スフィアを形

成、免疫不全マウスの皮下において上皮細胞様の分化傾向を有する腫瘍を形成するという報告がなされた。すべての Rb ファミリーの失活は、例えば、マウスにおける網膜芽細胞腫発症に十分な条件である。一方、我々が見出した、甲状腺 C 細胞を悪性化するのに十分な Rb 複合変異の組み合わせは、おなじ変異を MEF に導入すると、やはり早期細胞老化逸脱を誘導した。このような細胞も、Rb ファミリーをすべて欠く MEF と類似した性質を示すを見出した。Rb を再構成しても細胞周期に影響の出ない Rb 複合変異細胞株を選択し、Rb を再構成すると、このような細胞の stemness を示すと思われる表現型は、消失した。この現象の生物学的意義はなにか、Rb 機能と stemness は、どのようにしてつながるのか？これまでに知り得た Rb 機能との関連においてこの疑問を解こうとしている。また、Rb 複合変異マウス由来細胞をベースに、追加変異・ノックダウン等のインターベンションを加え、培養皿上（接着・メチルセルロース浮遊）で安定的に幹細胞様の挙動を表現するシステムの構築を目指している。正常の乳腺細胞において誘導した上皮間葉転換(EMT)が、創薬の標的として有効であることが報告されている。我々は、がん化のコンテクストで MEF において誘導される幹細胞様挙動の本態を明らかにし、それを創薬の標的として用いる可能性があるかを検討する。

4. RECK の制御するシグナル

Ras トランスフォーメーションに拮抗する遺伝子として単離した RECK 遺伝子の産物が、MMP-9, MT1-MMP, CD13/APN, ADAM10 等プロテアーゼの活性やマイクロドメイン局在を制御することを報告してきた。この分子の発現は、様々ながんの予後良性とよく相関する。しかし、なぜ Ras に拮抗するのかを明らかにしていなかった。HUVEC および MEF における RECK ノックダウンが細胞老化を誘導することを手がかりに、RECK が制御する細胞内シグナルを同定した。RECK が、HUVEC においては、MMP-2 依存的に $\beta 1$ -integrin シグナルを(Miki et al.)、MEF においては、MT1-MMP 依存的に EGFR シグナルを(Kitajima et al.)制御することを本年度報告することができた。残る課題は、RECK 蛋白質中に見出した 2 力所の MMP 基質様ドメインが、MMP 活性阻害機能に必須であるかどうかを決定することである。

II. 研究業績

発表論文

研究室主体

Miki T, Shamma A, Kitajima S, Takegami Y, Noda M, Nakashima Y, Watanabe K, Takahashi C. The $\beta 1$ -integrin-dependent function of RECK in physiologic and tumor angiogenesis. Mol. Cancer Res. 2010 May;8(5):665-76.

Kitajima S, Miki T, Takegami Y, Kido Y, Noda M, Hara E, Shamma A, Takahashi C. Reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs interferes with epidermal growth factor receptor signaling. Oncogene. 2010 Oct 4. [Epub ahead of print]

共同研究

Loayza-Puch F, Yoshida Y, Matsuzaki T, Takahashi C, Kitayama H, Noda M. Hypoxia and RAS-signaling pathways converge on, and cooperatively downregulate, the RECK tumor-suppressor protein through microRNAs. *Oncogene*. 2010 May 6;29(18):2638-48.

Chandana EP, Maeda Y, Ueda A, Kiyonari H, Oshima N, Yamamoto M, Kondo S, Oh J, Takahashi R, Yoshida Y, Kawashima S, Alexander DB, Kitayama H, Takahashi C, Tabata Y, Matsuzaki T, Noda M. Involvement of the Reck tumor suppressor protein in maternal and embryonic vascular remodeling in mice. *BMC Dev Biol*. 2010 Aug 6;10:84.

総説

Noda M, Takahashi C, Matsuzaki T, Kitayama H. What we learn from transformation suppressor genes: lessons from RECK. *Future Oncol*. 2010 Jul;6(7):1105-16.

北嶋俊輔、石川智夫、木戸敬治、高橋智聰 「その他腫瘍モデル」 完全版マ
ウス・ラット疾患モデル活用ハンドブック 秋山徹、奥山隆平、河府和義編
p163- 180 羊土社

学会発表

Takahashi C, Shamma A. The Rb-Ras pathway in malignant progression.
International Cancer Biology Symposium at National Sun Yat-Sen University
6月8日 (Kaohsiung, Taiwan)

高橋智聰 RB-RAS経路とがんの悪性進展 第3回 SYMPHONY 9月5日 (東京)

Shamma A, Takahashi C. ATM mediates the Rb-loss-induced DNA damage response and cellular senescence through chromatin remodeling and p16Ink4a regulation. 癌学会総会 9月24日 (横浜)

外部資金

高橋智聰 :

科学研究費補助金 基盤B 4,800千円
2010年度武田科学振興財団研究助成金 ビジョナリー 2,000千円
内藤記念科学振興財団 奨励金(研究助成) 3,000千円
公益財団法人アステラス病態代謝研究会 平成22年度研究助成金 1,000千円

Shamma Awad :

科学研究費補助金 基盤C 2,200千円

共同研究

鳥取大学医学部 岡崎俊朗博士 「*in vitro* がん幹細胞モデル系の開発に関する研究」

サンパウロ大学薬学部 Silvia Stuchi Maria-Engler 博士 「RECK 機能の解析」

筑波大学人間総合科学研究科 島野仁博士 「Rb がん抑制遺伝子産物による脂肪代謝制御」

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（博士） SAKR MOUSTAFA ABDEL-SAMED（9月修了）

堂本 貴寛、郭 魯決

（修士） 長尾 亮太

<研究の概要>

膜型マトリックスメタロプロテアーゼ-1(MT1-MMP)はがんの浸潤・転移のみならず運動、増殖など様々な細胞機能の制御に関与しており、抗がん・抗転移薬剤の分子標的として重要かつ有望である。我々は MT1-MMP を MMP-2 活性化因子として同定した。その後、独自に開発した発現クローニング法により MT1-MMP の新規基質を探索し、コラーゲンなどの細胞外マトリックス成分以外にも膜たんぱく・リガンド分子などを切断・不活性化することによりがんの浸潤・転移のみならず増殖・腫瘍原性など悪性化形質に深く関与することを明らかにしてきた。しかし未だ MT1-MMP の基質・機能とりわけ悪性化進展に果たす役割とその分子機構については不明の点が多いのが現状である。MT1-MMP の細胞膜上での機能を明らかにし、MT1-MMP を分子標的としたがん悪性化進展制御法の開発を目指している。

<今年度の研究成果・今後の計画>

MT1-MMP によるシグナル伝達機構の解析

3次元コラーゲンゲル内でのがん細胞の増殖における MT1-MMP の機能を解析した。その結果、MT1-MMP は integrin $\alpha v \beta 3$ とともに c-Src を活性化することにより FAK, ERK を活性することを明らかにするとともに、この MT1-MMP を介したシグナル伝達には Paxillin が必須であることを証明した。今後、これらの分子メカニズムの解明と関連分子の探索を行う。

MT1-MMP と GI24 の相互作用の解析

MT1-MMP の制御分子として免疫グロブリンファミリーの GI24 を同定した。GI24 は MT1-MMP の基質であり膜貫通領域の近傍で切断を受けシェディングされるが、その際に MT1-MMP の細胞膜上での局在を亢進し酵素活性を上昇させる。GI24 は扁平上皮がん、肝がんでの発現が高かった。扁平上皮がん由来 HSC-4 細胞において GI24 発現を siRNA で抑制すると、MT1-MMP 活性が低下しコラーゲンゲル内での浸潤性増殖が低下した。

以上の結果より、GI24 は MT1-MMP の基質でありながら、同時に正の制御因子としてその活性を亢進し組織における浸潤性増殖に貢献していることが示唆された。現在、構造の類似した免疫グロブリンファミリー膜タンパクについても MT1-MMP との相互作用を検討中である。

MT1-MMP によるセリンプロテアーゼ系制御機構

がんの浸潤・転移には MMP・ADAM などのメタロプロテアーゼ以外にセリンプロテアーゼ、特にマトリプターゼなどの膜型セリンプロテアーゼの重要性が指摘されている。今回、MT1-MMP の新規基質として膜タンパクであるセリンプロテアーゼ阻害因子 HGF Activator Inhibitor-1 (HAI-1) を同定した。扁平上皮がん由来細胞においては、MT1-MMP が HAI-1 を切断・不活化することによりマトリプターゼ活性が上昇していることを明らかにした。マトリプターゼは細胞外マトリックス成分の分解以外に、がんの悪性度と密接に関わる uPA (urokinase-type Plasminogen Activator) を活性化するなど、がんの悪性化進展に密接に関与すると考えられる。これまで MT1-MMP は MMP-2 などの活性化因子として MMP 系列の重要な制御因子とされてきたが、今回セリンプロテアーゼ阻害因子 HAI-1 を切断・不活化することによりセリンプロテアーゼ系をも制御していることが明らかとなった。今後、MT1-MMP とセリンプロテアーゼ系の協調的作用を詳細に検討する。

MT1-MMP を標的としたがん悪性化進展制御法の開発

がん細胞表面に特異的に局在する MT1-MMP の特性を生かした抗がん・転移制御法を検討する。

<発表論文>

<原著論文>

研究室が主体となったもの：

Takino T, Tsuge H, Ozawa T, Sato H. MT1-MMP promotes cell growth and ERK activation through c-Src and paxillin in three-dimensional collagen matrix. Biochem. Biophys. Res. Commun., 3964, 1042-1047, 2010.

Sakr MA, Takino T, Domoto T, Nakano H, Wong RW, Sasaki M, Nakanuma Y, Sato H. GI24 enhances tumor invasiveness by regulating cell surface membrane-type 1 matrix metalloproteinase. Cancer Sci., 101, 2368-2374, 2010.

<総説>

Sato H, Takino T. Coordinate action of membrane-type matrix metalloproteinase-1 (MT1-MMP) and MMP-2 enhances pericellular proteolysis and invasion. Cancer Sc., 101, 843-947, 2010.

<学会発表>

佐藤 博：会長講演「MT1-MMPによる細胞機能統御」第19回日本がん転移学会総会
(平成22年6月16-19日、金沢)

長尾亮太、滝野隆久、佐藤博「MT1-MMPによる細胞増殖誘導機構」(優秀演題賞)

第19回日本がん転移学会総会 (平成22年6月16-19日、金沢)

堂本貴寛、滝野隆久、佐藤博「MT1-MMPによるセリンプロテアーゼ系の制御」

第19回日本がん転移学会総会 (平成22年6月16-19日、金沢)

佐藤博、堂本貴寛、滝野隆久：口演「Gi24はMT1-MMPを介したMMP-2活性化を促進することによりがん細胞浸潤を亢進する」第69回日本癌学会学術総会 (平成22年9月22-24日、大阪)

堂本貴寛、滝野隆久、佐藤博「MT1-MMPによるHAI-1の分解を介したセリンプロテアーゼ系の制御」ポスター発表：第69回日本癌学会学術総会 (平成22年9月22-24日、大阪)

滝野隆久、堂本貴寛、佐藤博「MT1-MMPは3次元コラーゲン内でc-srcとPaxillinを介してERK活性化と細胞増殖を亢進する」ポスター発表：第69回日本癌学会学術総会 (平成22年9月22-24日、大阪)

<外部資金>

基盤研究(B) 4,500千円 (代表) 佐藤博 (分担) 滝野隆久、中田光俊

「膜型マトリックスマタロプロテアーゼー1のがん悪性化形質に果たす役割の解析」

基盤研究(C) 1,100千円 (代表) 滝野隆久

「細胞外微小環境変化と細胞運動誘導」

<学内共同研究>

中田 光俊 (金沢大学・医薬保健研究域医学系 脳・脊髄機能制御学)

「悪性脳腫瘍におけるMT1-MMPとCD133との相互作用の解析」

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 博士研究員：佐々木宗一郎
外国人研究員：歐周羅（2010年11月～2011年1月） 技能補佐員：南邦子

<研究の概要>

- 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。

<直近1年間の進捗>

- 1) アゾキシメタンとデキストラン硫酸塩との投与によって生じる大腸がんモデルにおいて、従来報告してきた腫瘍壞死因子やケモカインである CCL2 以外に、別のケモカイン CCL3 が関与している可能性を示唆する結果を得た。
- 2) マウス腎がん細胞株 Renca の尾静脈内投与によって起きる肺転移モデルにおいて、Renca 接種直後からケモカイン CCL2 の肺内での発現が亢進していて、CCL2 に対するレセプターCCR2 を欠損したマウスでは、同様の処置を行った際に生じる肺転移巣の数・大きさが軽減する結果を得た。
- 3) 胸腺皮質に選択性に存在する Sirp α 陽性の樹状細胞亜群が血中由来の抗原の胸腺での取り込みを行うことを明らかにした。Sirp α 陽性の樹状細胞亜群により取り込まれた抗原提示の強度によって、抗原提示を受けた胸腺細胞が Negative selection をうけるか、抑制性 T 細胞へと分化するかが決定することも明らかにした。
- 4) IL-1 receptor antagonist 遺伝子欠損マウスにおいて自然発症する多発性関節炎に対して、CCL2-CCR2 系が破骨細胞の生成を制御することによって抑制的に働くことを明らかにした。
- 5) 医薬保健研究域・薬学系の石橋弘行教授との共同研究で、昨年度発見した、試験管内で Pim-3 キナーゼ活性とヒト膵臓がん細胞株の増殖を抑制する低分子化合物の作用機構について解析を加えた。

<今後の展望>

- 1) ケモカイン関連遺伝子欠損マウスを用いて、種々の発がんモデル・転移モデルにおける病態を分子・細胞レベルで解析して、腫瘍部位に存在する腫瘍細胞・骨髄系細胞・線維芽細胞に対する、各々のケモカインの病態生理学的作用を明らかにする。

2) Pim-3 活性の阻害作用を指標として、抗がん作用を保有する低分子化合物のスクリーニングを行うとともに、Pim-3 の病態生理学的作用を分子レベルにて解析する。

<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. Li Y-Y, Wang Y-Y, Taniguchi T, Kawakami T, Baba T, Ishibashi H, and Mukaida N. Identification of stemonamide synthetic intermediates as a novel potent anti-cancer drug with an apoptosis-inducing ability. *Int J Cancer* 127 (2): 474-484, 2010.
2. Wu Y, Wang Y-Y, Nakamoto Y, Li Y-Y, Baba T, Kaneko S, Fujii C, and Mukaida N. Accelerated hepatocellular carcinoma development in mice expressing the Pim-3 transgene selectively in liver. *Oncogene* 29 (15): 2228-2237, 2010.
3. Kostadinova FI, Baba T, Ishida Y, Kondo T, Popivanova BK, and Mukaida N. Crucial involvement of the CX3CR1-CX3CL1 axis in dextran sulfate sodium-mediated acute colitis in mice. *J Leukocyte Biol* 88 (1): 133-143, 2010.
4. Fujii H, Baba T, Ishida Y, Kondo T, Yamagishi M, Kawano M, and Mukaida, N. Ablation of *Ccr2* gene exacerbates polyarthritis in interleukin-1 receptor antagonist-deficient mice. *Arthritis Rheum* (in press).

他の研究室との共同研究

1. Kimura A, Ishida Y, Wada T, Hisaoka T, Morikawa Y, Sugaya T, Mukaida N, and Kondo T. The absence of IL-6 enhanced arsenite-induced renal injury by promoting autophagy of tubular epithelial cells with aberrant ERK activation. *Am J Pathol* 176 (1): 40-50, 2010.
2. Mizukoshi E, Nakamoto Y, Arai K, Yamashita T, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O, and Kaneko S. Enhancement of tumor-specific T cell responses by transcatheter arterial embolization with dendritic cell infusion for hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 16 (9): 2164-2174, 2010.
3. Takamatsu R, Teruya H, Takeshima E, Ishikawa C, Matsumoto K, Mukaida N, Li J-D, Heuner K, Higa F, Fujita J, and Mori N. Molecular characterization of *Legionella pneumophila*-induced interleukin-8 expression in T cells. *BMC Microbiology* 10: 1-18, 2010.
4. Oka M, Sakaguchi M, Okada T, Ozaki M, Yoshioka T, Inoue H, Mukaida N, Kikkawa U, and Nishigori C . Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) upregulates

- interleukin-8 expression at the level of transcription in human melanoma cells. *Exp Dermatol* 19: e50-e55, 2010.
5. Iida N, Nakamoto Y, Baba T, Nakagawa H, Mizukoshi E, Naito M, Mukaida N, and Kaneko S. Antitumor effect after radiofrequency ablation of murine hepatoma is augmented by an active variant of CC chemokine ligand 3/macrophage inflammatory protein-1 α . *Cancer Res* 70 (16): 6556-6565, 2010.
 6. Ishizu A, Abe A, Miyatake Y, Baba T, Iinuma C, Tomaru U, and Yoshiki T. Cyclic AMP response element-binding protein is implicated in IL-6 production from arthritic synovial cells. *Mod Rheumatol* 20 (2): 134-138, 2010.
 7. Nakamoto Y, Mizukoshi E, Kitahara M, Arihara F, Sakai Y, Kakinoki K, Fujita Y, Marukawa Y, Arai K, Yamashita T, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O, and Kaneko S. Prolonged recurrence-free survival following OK432-stimulated dendritic cell transfer into hepatocellular carcinoma during transarterial embolization. *Clin Exp Immunol* (in press).
 8. Inui M, Ishida Y, Kimura A, Kuninaka Y, Mukaida N, and Kondo T. Protective roles of CX3CR1-mediated signals in toxin A-induced enteritis through the induction of heme oxygenase-1 expression. *J Immunol* (in press).
 9. Iwasaki S, Masuda S, Baba T, Tomaru U, Katsumata K, Kasahara M, and Ishizu A. Plasma-dependent, antibody- and Fc γ receptor-mediated translocation of CD8 molecules from T cells to monocytes. *Cytometry A* (in press).

学会発表（筆頭発表者が分野所属の者に限る）

1. Baba T and Mukaida, N. Establishment of central tolerance against blood-borne antigens by thymic Sirpa $^+$ conventional dendritic cells.). 98th Annual Meeting of the American Society of Immunology, May 7 to 11, 2010, Baltimore, USA.
2. Mukaida N. TNF and chemokines in murine colon carcinogenesis. 6th Chinese Conference on Oncology. May 21 to 23, Shanghai, China. (招待講演)
3. Baba T and Mukaida N. Thymic Sirpa $^+$ conventional dendritic cells orchestrate central tolerance system against blood-borne antigens. 14th International Congress on Immunology, Aug. 23 to 27, 2010, Kobe, Japan.
4. Kostadinova FI, Popivanova BK, and Mukaida N. Genetic ablation of CX3CR1 abrogates inflammatory reactions in large intestine and ameliorates DSS-induced colitis in mice. 14th International Congress on Immunology, Aug. 23 to 27, 2010, Kobe, Japan.
5. Fujii H, Baba T, Ishida Y, Kondo T, Yamagishi M, Kawano M, and Mukaida, N. Exacerbation of polyarthritis in interleukin-1 receptor antagonist-deficient mice by genetic ablation of CCR2 gene. 14th International Congress on Immunology, Aug. 23 to 27, 2010, Kobe, Japan.

6. Badr M, Baba T, and Mukaida N. Attenuated lung metastasis in the absence of C-C chemokine receptor 2. 14th International Congress on Immunology, Aug. 23 to 27, 2010, Kobe, Japan.
7. Mukaida N, Kostadinova FI, and Popivanova BK. The crucial involvement of TNF- α and a chemokine, CCL2, in chronic colitis-associated colorectal carcinogenesis in mice. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa and Satellite Symposium of 14th International Congress on Immunology, Aug. 28 and 29, 2010, Kanazawa, Japan. (招待講演)
8. Baba T and Mukaida N. Unique role of thymic Sirpa $^+$ dendritic cell subpopulation in the establishment of central tolerance. 6th Annual Symposium on Primary Immunodeficiency Diseases, Nov. 20 and 21, 2010, Newport Beach, USA. (招待講演)
9. Badr M、馬場智久、向田直史。マウス肺転移モデルでのケモカイン・レセプターCCR2の役割の解析。第19回日本がん転移学会学術集会・総会。2010年6月16日、17日、金沢。
10. 向田直史。原がん遺伝子Pim-3の肝臓選択的トランスジェニックマウスでの肝臓発がん過程の促進。第14回日本がん分子標的治療学会・学術集会。2010年7月6日～8日、東京。
11. 王瑩瑩、向田直史。肝臓選択的Pim-3発現トランスジェニックマウスでの肝臓がん発症の加速化。第69回日本癌学会学術総会。2010年9月22日～24日、大阪。
12. 向田直史。抗サイトカイン療法の可能性。第7回がんワクチン研究会学術集会。2010年11月27日、金沢。(招待講演)

<外部資金>

向田直史

1. 科学研究費・基盤研究 (B) (代表)

炎症を基盤とするがん化過程における腫瘍壞死因子・ケモカインの役割の解析
(直接経費 4,600 千円、間接経費 1,380 千円)

2. 研究成果最適展開支援事業 (A-STEP)

新規フェナントレン誘導体による抗がん作用の動物実験による検証
(直接経費 1,000 千円、間接経費 300 千円)

馬場智久

1. 科学研究費・若手研究 (B)

胸腺 Sirp α $^+$ 樹状細胞の機能的特徴と自己免疫寛容における役割の解明
(直接経費 1,600 千円、間接経費 480 千円)

<学内との共同研究>

1. 医薬保健研究域・薬学系 石橋弘行教授、谷口剛史助教
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
2. 医薬保健研究域・医学系 金子周一教授、中本安成講師
免疫樹状細胞療法の開発
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 川野充弘講師
関節リウマチにおけるケモカインの病態生理学的役割の解析
5. 医薬保健研究域・医学系 加畠多文准教授
骨折におけるケモカインの病態生理学的役割の解析
6. フロンティアサイエンス機構 太田嗣人特任助教
メタボリック・シンドロームにおける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・薬学系研究科 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・医学系研究科 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. 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
4. 和歌山県立医科大学・医学部 近藤捻和教授
慢性炎症時の組織修復過程におけるケモカインの病態生理学的役割の解析
5. 米国国立がん研究所 J. J. Oppenheim 博士
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
6. 中国・蘇州大学・医学部 陸培英准教授
新生血管形成過程の分子病理学的解析
7. 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

免疫炎症制御研究分野

<研究スタッフ>

教授	須田 貴司
助教	今村 龍 木下 健
大学院生	茂谷 康 (D4) 王 強 (D3)
技能補佐員	串山 裕子

<研究の概要>

最近、アポトーシスは炎症を誘導せず、むしろ免疫寛容を誘導するため、がん免疫の観点からは免疫原性の高い細胞死であるネクローシスを誘導する方が良いという考えが提唱されている。しかし、我々は、デス因子によるアポトーシスでは NF-κB が活性化し、様々な炎症性サイトカインの産生が誘導されることを示してきた。実際、アポトーシスを起こしたがん細胞をマウスに投与する実験では、がん免疫が抑制されたとする報告と活性化されたとする報告が混在し、少なくともアポトーシス細胞が常に免疫抑制に働くわけではないと考えられる。我々は、がん細胞の死に方と、死んだがん細胞が周囲のがん細胞や正常細胞に与える影響を研究し、がん治療の観点からどのような死に方でがん細胞を殺すのが最も良いのかを明らかにしたいと考えている。このような観点から、われわれは細胞死と炎症のシグナル伝達の接点で働く蛋白質に着目した研究を行っている。また、ネクローシスは圧倒的な物理化学的ストレスなどにより、細胞のアポトーシスを起こす機能まで奪われたときに起きる受動的な細胞死と考えられて来たが、最近、細胞の機能に依存したネクローシス（プログラム・ネクローシス）の存在が明らかになって来た。さらに、同じようなストレスが細胞のタイプの違いによってアポトーシスを誘導したり、ネクローシスを誘導したりすることが分かって來た。我々は、昨年、細胞質蛋白質 ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD)を活性化すると、がん細胞のタイプによりアポトーシスを起こす場合とネクローシスを起こす場合があることを見出した。本年は、この細胞死の様態（アポトーシス vs ネクローシス）の違いを決定づける分子機構の一端を明らかにすることができた。この他、我々が ASC の活性化を誘導する物質のスクリーニングから見出した物質の IL-1 β 産生誘導能や、ASC に対する阻害因子として発見した PYNOD の遺伝子改変マウスの解析などを行い、それぞれ進展があった。今後は、これらの研究をさらに進めると共に、「がん細胞の死に方の違いが癌微小環境に影響を与える、がんの増殖、転移、がん免疫などに影響を与えるのではないか」という我々の仮説について個体レベルでの検証を目指した研究を行う予定である。

<今年度の研究成果及今後の研究計画>

1) ASC 依存性細胞死の様態を決定する分子機構：我々は、様々なヒトがん細胞株の ASC を活性化すると、細胞のタイプによってアポトーシスを起こす場合と、ネクローシスを起こす場合があることを見出した。この ASC 依存性細胞死の様態を決定する

因子を探索し、カスパーゼ 1 を発現する細胞のみがネクローシスを起こすことを見出した。また、ネクロシスタイプの細胞のカスパーゼ 1 をノックダウンすると ASC の活性化に応答してアポトーシスを起こすようになり、逆に、アポトシスタイプの細胞にカスパーゼ 1 を発現させるとネクローシスを起こすようになることを示した。すなわち、ASC の活性化に応答して細胞がネクローシスを起こすにはカスパーゼ 1 が必要であり、カスパーゼ 1 の存在しない細胞はアポトーシスを起こすことが判明した。また、ASC 依存性ネクローシスの誘導にカスパーゼ 1 の酵素活性は必要ないことを明らかにした。さらに、緑膿菌や黄色ブドウ球菌感染によるヒト単球系細胞株のネクローシス様細胞死においても、同様の事を証明した。今後は、カスパーゼ 1 の下流でどのようなメカニズムでネクローシスが誘導されるのかを研究する予定である。また、この細胞死の様態の違いが、癌微小環境に与える影響を研究する予定である。

2) ASC を活性化する天然物、化合物の探索：昨年度、ASC 依存性細胞死を誘導することを見出した天然物や化合物について、ヒト単球様細胞に IL-1 β の産生を誘導するか検討したところ、複数の薬剤が IL-1 β の産生を誘導することを見出した。このような薬剤はがん細胞に細胞死を誘導すると同時にがん免疫の活性化に寄与する可能性があり、新しいタイプの抗がん剤となる可能性が考えられる。

3) PYNOD の機能解析：昨年度樹立した PYNOD-flox マウスを Cre マウスと交配し、PYNOD-/-マウスを作製した。PYNOD-/-マウスは一見正常に出生し、今のところ発育などに異常は見られない。現在 B6 への戻し交配を行っている。また、PYNOD および ASC は皮膚に発現していることから、ヒトやマウスのケラチノサイトを培養し、感染刺激などによるサイトカイン産生の実験系を樹立した。今後は、ノックダウンの手法やノックアウトマウスからの細胞を用い、ケラチノサイトのサイトカイン産生における ASC や PYNOD の関与を検討する予定である。さらに PYNOD トランスジェニックおよびノックアウトマウスを用いて、感染を始めとする炎症応答における PYNOD の役割を細胞レベルおよび個体レベルで解析する。加えて、これらのマウスにおける発がんプロセスを野性型マウスと比較検討する予定である。

4) ヒト線維肉腫 HT1080 細胞株の IL-1 β 産生機構の解析：我々は昨年度、自然免疫系の病原体センサーとして働く NLRP3 が病原体感染ヒトマクロファージにおいて NF-κB の活性化とサイトカイン産生に寄与する事を明らかにした。一方、NLRP3 は種々のがん細胞にも発現している。また、がん細胞の炎症性サイトカイン産生はがんの悪性度とも相關していることが報告されている。そこで IL-1 β を恒常に発現しているがん細胞 HT1080 の NLRP3 発現をノックダウンしたところ、IL-1 β mRNA の発現が減少することを見出した。今後は NLRP3 を発現している多数のがん細胞において、NLRP3 が NF-κB 活性化を介して炎症性サイトカインなど、がん悪性化に関わる因子の産生にも関わる可能性について検討する予定である。

研究業績

<論文発表>

原著

当研究室主体の発表論文

1. Motani, K., Kawase, K., Imamura, R., Kinoshita, T., Kushiyama, H., and Suda, T.: Activation of ASC induces apoptosis or necrosis, depending on the cell type, and causes tumor eradication. *Cancer Sci.* 2010. 101(8):1822-1827
2. Imamura, R., Wang, Y., Kinoshita, T., Suzuki, M., Noda, T., Sagara, J., Taniguchi, S., Okamoto, H., and Suda, T.: Anti-inflammatory activity of PYNOD and its mechanism in humans and mice. *J. Immunol.* 2010. 184(10):5874-5884.

<学会発表>

1. Motani, K., Kawase, K., Imamura, R., Kinoshita, T., Kushiyama, H., and Suda, T.: Activation of ASC induces apoptotic or necrotic cell death depending on the cell type and causes tumor rejection. 研究所ネットワーク国際シンポジウム, (金沢) 2010年6月
2. Motani, K., Imamura, R., Kushiyama, H., Kinoshita, T., and Suda, T.: Molecular switch for the ASC-mediated apoptosis and necrosis. 14th International Congress of Immunology, Kobe, Aug, 2010
3. Imamura, R., Motani, K., Kinoshita, T., Wang, Q., Kushiyama, H., and Suda, T.: Anti-inflammatory activity of PYNOD and its mechanism in humans and mice. 14th International Congress of Immunology, Kobe, Aug, 2010
4. Harashima, N., Imamura, R., Okano, S., Suda, T., and Harada, M.: Toll-like receptor 3-ligand induced apoptotic and autophagic cell death and growth arrest in human prostate cancer cells. 14th International Congress of Immunology, Kobe, Aug, 2010
5. 木下健、須田貴司 : The role for NLRP3 in the IL-1b secretion by tumor cells. 第69回日本癌学会学術総会, (大阪) 2010年9月
6. 須田貴司 : 細胞死と炎症シグナルのクロストーク. 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会 ワークショップ, (神戸) 2010年12月

<外部資金>

今村 龍、基盤研究C 皮膚におけるASCおよびPYNODの機能の解明 1,400千円

<学内外との共同研究>

研究課題名：Toll 様レセプター（TLR）刺激により誘導される前立腺癌細胞の細胞死
メカニズムの解明

相手先：原田 守（島根大学医学部・教授）

研究課題名：ネクローシス細胞の可視化技術の開発

相手先：小澤岳昌（東京大学理学系研究科化学専攻・教授）

研究課題名：Mycobacterium 感染における Fas リガンドの役割

相手先：梅村正幸（琉球大学熱帯生物圏研究センター・助教）

腫瘍動態制御研究分野

<研究スタッフ>

教授： 松本邦夫
助教： 中村隆弘 酒井克也
博士研究員： 中山瑞穂 鈴木芳典
大学院生： Quig Xu (徐慶) 藤川雅崇 (3月修了)
学部4年： 道越洸允
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て生理活性を発揮する。HGF は上皮-間葉相互作用を介した上皮組織の3次元(3-D)形態形成、肝臓をはじめとする組織の再生を担う一方、がんの浸潤・転移や抗がん剤に対する耐性に深く関与する。ダイナミックな組織の修復・再生を担う仕組みはがんの浸潤・転移といったがんの悪性化の生物学的特性に深く関与していると考えられる。私達はがん微小環境を介したがん悪性化(転移・薬剤耐性)における HGF-Met 系の意義、NK4 (HGF アンタゴニスト・血管新生阻害分子) による制がん研究、低分子 HGF-Met 阻害剤の創薬研究、HGF-Met 系に依存する 3-D 上皮形態形成機構、HGF-Met 系を介した組織再生(肝再生など)の制御と治療の研究などを行っている。

<今年度の主な成果と今後の計画>

1. NK4 による制がん研究：悪性中皮腫の浸潤性成長阻害

悪性胸膜中皮腫の発症にはアスベスト暴露が関与し、胸膜などへの極めて活発な浸潤性成長を特徴としている。ヒト悪性中皮腫の浸潤性成長における HGF-Met 系の意義、移植モデルでの悪性中皮腫に対する NK4 の制がん作用について解析した。その結果、ヒト悪性中皮腫に対して HGF が細胞の遊走やコラーゲンゲル内での3次元浸潤を促す一方、NK4 は Met 活性化、細胞遊走、コラーゲンゲル内浸潤を阻害した。さらに、ヒト悪性中皮腫の皮下移植モデルで NK4 遺伝子治療の制がん作用を調べた結果、主に血管新生阻害を介して腫瘍の成長を阻害することを明らかにした。悪性胸膜中皮腫に対する制がん剤としての NK4 の有用性が明らかになった。

2. NK4 による制がん研究：NK4 遺伝子治療臨床研究

上記の成果を含む基礎研究の成果や前臨床安全性・副作用試験の結果に基づいて、「切除不能悪性胸膜中皮腫を対象とした NK4 遺伝子発現型アデノウイルスベクターによる第 I 相臨床研究」の申請が千葉大学医学部遺伝子治療臨床研究審査委員会に提出された。本臨床研究は翼浩一郎(千葉大学大学院医学研究院・呼吸器内科学・教授)を総括代表とし、田川雅敏(千葉県がんセンター・がん治療開発グループ・部長)、島田英昭(東邦大学・一般消化器外科・教授)、白川利朗(神戸大学大学院医学系研究科・准教授)、松本邦夫(金沢大学がん研究所)を含む研究者が研究協力者として参画している。

3. HGF-Met 系を介した肝再生制御の研究

無傷の組織では生理的なレベルの HGF に曝されても Met 受容体は OFF に抑制され、HGF はほとんど生理作用を発揮しない。組織無傷性に連携した Met 活性化抑制が、過剰な増殖をともなわない再生の完了につながると予想される。私達は Met 受容体の活性化抑制に関するメカニズムとして Met 受容体 juxtamembrane (Jxt) 領域内 Ser985 のリン酸化を明らかにしている。本年においては、マウス肝再生系を用いて Met-Ser985 のリン酸化が Met チロシンリン酸化と相反的に制御されることや、ラット初代培養肝細胞ならびに変異 Met 導入などを用いて Ser-985 リン酸化を介した HGF 依存的 Met 活性化の抑制機構のメカニズムを明らかにした。

4. HGF-Met 受容体系を標的とするインシリコ分子創薬研究

HGF-Met 系はがんの転移薬剤耐性に深く関わっていることから、複数の製薬メーカーが HGF-Met 系を標的とする阻害剤 (Met キナーゼ阻害剤や抗体医薬) 開発にしのぎを削っている。これらと異なるコンセプトでの HGF-Met 阻害分子創成の意義は大きい。バイオインフォマティクス技術やタンパク質構造解析の研究者と協力し、HGF-Met 相互作用を阻害する低分子創薬研究を進めている。前年までに約 3,000,000 化合物を出発として HGF-Met 系に対する阻害活性をもつリード化合物を数個見いだした。本年、リード化合物の類似化合物を多数合成し、そのアッセイにより、構造活性相関を得た。また、リード化合物と HGF-Met タンパク質との共結晶構造の解析に成功し、Structure-Based Drug Design にリード化合物の最適化を進めている。

<今後の研究>

1. 3-D 上皮形態形成のダイナミクス: 発生・再生過程における上皮組織化の過程で決定的な意義をもつのは、位置情報 (先端・分枝部など) に対応した一過的な上皮 ⇄ 間葉の分化転換と細胞運動である。上皮細胞は 3-D 培養 + HGF により枝分かれした管腔構造を形成する。3-D 上皮管腔形態形成誘導と分化転換の可視化手法を用いることで、上皮—間葉転換のダイナミクスと上皮組織化機構の解明を進める。上皮管腔組織は臓器固有の機能を支える一方、乳がん、肺がん、前立腺がんなどのルーツであり、上皮組織化機構の研究はがん微小環境を介した悪性化の理解につながる。
2. HGF-Met 受容体系を標的とするインシリコ分子創薬研究: 化合物と HGF-Me 共結晶構造に基づくドラッグデザインによって数十倍～100 倍の活性向上が期待される。生理活性タンパク質と受容体の相互作用を阻害する低分子医薬の創成は長年求められているが実現されていない。Structure-Based Drug Design による最適化を進め、細胞外で HGF-Met 系を阻害する低分子医薬創成の実現を目指したい。
3. Kremen の生理機能の研究: Kremen (Krm) は中村助教によって新規受容体様分子として見出され、その後 Wnt シグナル制御に関与することが明らかにされたが、生理機能は不明である。そこで、Wnt シグナルやがん細胞形質の制御における Krm の生理機能の解析を進めている。
4. Met 受容体抑制機構の生理的意義の研究: Met 受容体 juxtamembrane 領域を介した Met シグナル変換抑制の生理的意義を組織 (肝) 再生の制御、がんの浸潤・転移や薬剤耐性に関連させて解析する。

研究業績

<論文>

1. Nakamura T, Sakai K, Nakamura T, Matsumoto K. Anti-cancer approach with NK4: Bivalent action and mechanisms. *Anti-Cancer Agent Med. Chem.*, 10: 36-46, 2010.
2. Suzuki Y, Sakai K, Ueki J, Xu Q, Nakamura T, Shimada H, Nakamura T, Matsumoto, K. Inhibition of Met/HGF receptor and angiogenesis by NK4 leads to suppression of tumor growth and migration in malignant pleural mesothelioma. *Int. J. Cancer*, 127: 1948-1957, 2010.
3. Sakai K, Oka K, Matsumoto K, Nakamura T. p27 Nuclear localization and growth arrest caused by perlecan knockdown in human endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 392: 403-408, 2010.
4. Sakai K, Nakamura T, Kinoshita T, Nakamura T, Matsumoto K. HGF-Antagonists: Structure, Activities, and Anti-cancer Approach. *Current Signal Transduction Therapy*, in press, 2010.
5. Nakamura T, Sakai K, Nakamura T, Matsumoto K. Hepatocyte growth factor twenty years on: much more than a growth factor. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, in press, 2011.

<共同研究による論文>

1. Nakase J, Kitaoka K, Matsumoto K, Tomita K. Facilitated tendon-bone healing by local delivery of recombinant hepatocyte growth factor in rabbits. *Arthroscopy*, 26: 84-90, 2010.
2. Yamada T, Matsumoto K, Wang W, Li Q, Nishioka Y, Sekido Y, Sone S, Yano S. Hepatocyte growth factor reduces susceptibility to an irreversible epidermal growth factor receptor inhibito in EGFR-T790M mutant lung cancer. *Clin. Cancer Res.*, 16: 174-183, 2010.
3. Onimaru M, Ohuchida K, Mizumoto K, Nagai E, Cui L, Toma H, Takayama K, Matsumoto K, Hashizume M, Tanaka M. hTERT-promotrt-dependent oncolytic adenovirus enhances the transduction and therapeutic efficacy of replication-defective adenovirus vectors in pancreatic cancer cells. *Cancer Sci.*, 101: 735-742, 2010.
4. Onimaru M, Ohuchida K, Egami T, Mizumoto K, Nagai E, Cui L, Toma H, Matsumoto K, Hashizume M, Tanaka M. Gemcitabine synergistically enhances the effect of adenovirus gene therapy through activation of the CMV promoter in pancreatic cancer cells. *Cancer Gene Ther.*, 17: 541-549, 2010.
5. Azuma H, Isaka Y, Nomi H, Inamoto T, Li XK, Höunig T, Takabatake Y, Ichimaru N, Ibuki N, Matsumoto K, Ubai T, Katsuoka Y, Takahara S. Induction of donor-specific tolerance using superagonistic CD28 antibody in rat renal allografts: Regulatory T-cell expansion before engraftment may be important. *Transplantation*, in press.

<国内学会発表>

1. 酒井克也、岡清正、中村隆弘、松本邦夫、中村敏一：Perlecan による p27 の発現ならびに細胞内細胞内局在の制御を介した血管内皮細胞の増殖制御. 第 69 回日本癌学会総会、2010 年 9 月 22 日（大阪）
2. 山田忠明、竹内伸司、ドネブイワン シュテレブ、西岡安彦、曾根三郎、松本邦夫、矢野聖二：野生型 EGFR 肺癌における肝細胞増殖因子（HGF）の抗 EGFR 抗体 Cetuximab 耐性誘導機構. 第 69 回日本癌学会総会、2010 年 9 月 22 日（大阪）
3. 松村篤、窪田健、岡本和真、塩崎敦、生駒久視、栗生宣明、中西正芳、市川大輔、藤原斉、落合登志哉、松本邦夫、中村敏一、大辻英吾：NK4 による腫瘍皮下移植片中の VEGF 発現抑制効果は、HGF を介する腫瘍-間質相互作用を阻害することで発揮される. 第 69 回日本癌学会総会、2010 年 9 月 22 日（大阪）
4. 矢野聖二、山田忠明、Wei Wang、Qi Li、竹内伸司、Ivan Donev、松本邦夫、西岡安彦、曾根三郎：EGFR 変異肺がんのチロシンキナーゼ阻害剤耐性と治療戦略. 第 69 回日本癌学会総会、2010 年 9 月 23 日（大阪）
5. 中山瑞穂、山下敦子、中村隆弘、徐慶、中村敏一、松本邦夫：肝細胞における Met/HGF 受容体 Ser985 リン酸化と受容体活性化の制御. 第 33 回日本分子生物学会年会・日本生化学会合同大会、2010 年 12 月 8 日（神戸）
6. 酒井克也、岡清正、中村隆弘、松本邦夫、中村敏一：Perlecan による p27 の発現ならびに細胞内細胞内局在の制御を介した血管内皮細胞の増殖制御. 第 33 回日本分子生物学会年会・日本生化学会合同大会、2010 年 12 月 9 日（神戸）
7. Quing Xu, Masataka Fujikawa, Takahiro Nakamura, Kunio Matsumoto. Functional analysis of the Kremen in Lewis lung carcinoma cells through Wnt/b-catenin signaling pathway. 第 33 回日本分子生物学会年会・日本生化学会合同大会、2010 年 12 月 9 日（神戸）

<外部資金>

1. 松本邦夫：科学研究費補助金 基盤研究(B) 「Met/HGF 受容体シグナル伝達能の ON-OFF 制御を介した組織再生制御の研究」 5,720 千円
2. 中村隆弘：科学研究費補助金 基盤研究（若手）「Met 天然型アイソフォームを介した再生・病態・発癌制御の研究」 650 千円
3. 松本邦夫：保健医療分野における基礎研究推進事業 「HGF-Met 受容体系を標的とするインシリコ分子創薬研究」 21,500 千円
4. 松本邦夫：受託研究(小野薬品工業株式会社) 「プロスタグラニン類の再生薬理作用における HGF の役割とメカニズムの研究」 5,460 千円
5. 松本邦夫：共同研究(クリングルファーマ株式会社) 「HGF タンパク質及び NK4 タンパク質を用いた難治性疾患治療法の開発」 5,250 千円

<学内外との共同研究>

1. 金沢大学医薬保健研究域医学系（整形外科）土屋弘行教授：HGF による靭帯損傷治療・骨延長治療の基礎研究

2. 金沢大学理工研究域自然システム学系 松郷誠一教授: リポ酸の抗腫瘍作用とそのメカニズムに関する研究
3. 金沢工業大学ゲノム生物工学研究所 松田武久教授: *In situ* 成熟型人工血管技術のための血管内皮前駆細胞の増殖・分化制御の研究
4. 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
5. 大阪大学大学院工学研究科構造物理化学 井上豪教授: 結晶構造に基づく HGF-Met 系阻害剤創成の研究
6. 京都大学大学院薬学システム創薬科学 奥野恭史教授: インシリコ技術による HGF-Met 系阻害剤創成の研究
7. 千葉県がんセンター細胞治療開発研究部 田川雅敏博士: NK4 遺伝子治療による悪性中皮腫治療の研究
8. 東邦大学医学部消化器外科学講座 島田英昭教授: NK4 遺伝子治療による悪性中皮腫治療の研究
9. 九州大学大学院医学研究院臨床腫瘍外科学 田中雅夫教授: NK4 遺伝子治療による膵臓がん治療の基礎研究
10. 新潟大学大学院医歯薬総合研究科内部環境医学(呼吸器内科) 小屋俊之助教: プロスタグラジン類による HGF 発現誘導を介した喘息治療の研究
11. 岡山大学大学院医歯学総合研究科腎・免疫・内分泌代謝内科学 樋野博史教授: プロスタグラジン類による HGF 発現誘導を介した慢性腎不全治療の研究
12. 奈良県立医科大学内科学第二講座(呼吸器・血液内科) 木村弘教授: プロスタグラジン類による HGF 発現誘導を介した肺線維症・肺高血圧症治療の研究
13. 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 佐田政隆教授: プロスタグラジン類による HGF 発現誘導を介した心筋梗塞・拡張型心筋症治療の研究
14. 京都大学大学院医学研究科糖尿病・栄養内科 稲垣暢也教授: プロスタグラジン類による HGF 発現誘導を介した膵島移植・糖尿病治療の研究
15. 和歌山県立医科大学呼吸器・アレルギー内科 一ノ瀬正和教授: プロスタグラジン類による HGF 発現誘導を介した COPD 治療の研究
16. 京都府立医科大学消化器外科 大辻英吾教授: NK4 遺伝子発現による大腸がん抑制の研究
17. クリングルファーマ株式会社: HGF-Met 系制御による疾患治療の基礎研究と臨床開発

ゲノム分子病態研究分野

<研究スタッフ>

教授	山本健一	大学院（修士）	塩谷裕司
助教	林直之	学部4年	河合香里
	小林昌彦		
技能補佐員	武紀代子		

研究概要

<研究室としての方向性>

高等動物のDNA損傷・複製異常ストレス応答の制御に中心的な役割を果たしているATM/ATRキナーゼファミリーの、発がんメカニズムに関係する、酵母では見られない高等動物特有の活性化の機序を明らかにすると共に、そのがん抑制における役割を細胞レベルで明らかにする。さらに、その成果をがん分子標的薬剤開発への応用を図る。

<一年間の進捗状況>

- 1) ATM異常による酸化ストレスに対する細胞応答の異常は、ATM異常による小脳神経細胞死、造血幹細胞の分化異常、早老、あるいは発がんと関連していると考えられているが、その機序は明らかではない。最近我々は、酸化ストレスやアルキル化剤によるATMの活性化がDNA塩基の修飾を介さず、そのATM蛋白に対する直接作用であり、このようなDNA損傷を介さないATMの活性化は、p53の活性化を引き起こすが、Chk1やChk2などの活性化は起こさないことを明らかにした。
- 2) ATMの相同組み替えDNA修復機能に、c-AblファミリーによるRad51のチロシン磷酸化が関与している。我々は最近、Rad51の機能に必須の役割を果たしているBRCA2との結合の後起こる、X線照射後のフォーカス形成として認められる安定なポリマー形成とクロマチンへの集合に、c-AblファミリーによるRad51の315番目のチロシン残基の磷酸化が重要な役割を果たしていることを明らかにした。
- 3) 我々は最近、高等動物ではDNA複製異常を伴う様々なDNA損傷によるChk1活性化とFancD2ユビキチン化には、Rad17-RFC複合体、Rad9-Rad1-Hus1複合体、ATR-ATRIP複合体以外に、DNA修復因子Msh2/Msh6およびNbs1が関与していることを明らかにした。特に、Nbs1の関与については、パートナーのMre11の関与を必要とする独自の機能であり、Nbs1がATRと、ATR活性化に必須のTopBP1の両方と相互作用し、ATRの活性化を直接促進することが判明した。
- 4) 我々は最近、NBS1と相互作用する新たな因子として、PCNAと相互作用して複製複合体に局在し、INK4a/ARF等のがん抑制遺伝子の主要なCpGメチル化酵素であるDNA(cytosine-5)-methyltransferase 1(DNMT1)を同定した。

<将来の展望>

DNA 損傷を介さない ATM の活性化に関するシスティン残基の同定と、その生理学的意義、特に酸化ストレス応答異常と初期がん化との関連について細胞レベルで検討すると共に、p53 以外の標的因子の検索を、ATM 欠損マウス細胞を用いたプロテオーム解析により進める。また、NBS1 については、ATR 活性化における役割を生化学的に明らかにすると共に、NBS1 の複製停止部位への集積の機序を明らかにする。さらに、NBS1-DNMT1 相互作用については、その生理的意義、特に、複製停止と DNA メチル化制御との関連、さらには INK4a/ARF 遺伝子のメチル化との関連について解析する。

研究業績

<発表論文>

1. JH et al. Dual functions of murine ATM-substrate Chk2-interacting Zn2+-finger protein (ASCIZ/ATMIN/ZNF822) in the DNA base damage response and pulmonary organogenesis. PLoS Genet., in press, 2010 (共同研究)

<学会発表>

1. 小林昌彦、林直之、山本健一：SH 基反応性代謝産物による ATM の活性化。第 69 回日本癌学会。2010 年 9 月、大阪
2. 林直之、小林昌彦、山本健一：DNA 複製チェックポイントにおける制御因子 NBS1 と DNA メチル化酵素 DNMT1 の相互作用。第 69 回日本癌学会。2010 年 9 月、大阪
3. Naoyuki Hayashi, Masahiko Kobayashi, Takeshi Sekiguchi, Ken-ichi Yamamoto : Nuclear GTPase Ran system is involved in the telomere silencing regulationin Saccharomyces cerevisiae. The 7th 3R (replication, recombination and repair) Symposium of 2010. Sep.2010, Toyama.
4. Junya Tomida, Akiko Itaya, Emi Uchida, Masahiko Kobayashi, ken-ichi Yamamoto, Masamichi Ishiai, Minoru Takata: FANCCI phosphorylation by ATR kinase proceeds in a Rad17/TopBP1-independent manner. 第 33 回日本分子生物学会・第 83 回日本生化学会合同大会。2010 年 12 月、神戸

<外部資金>

研究課題名：酸化ストレスによる ATM チェックポイントキナーゼの活性化機構と生理学的意義、代表・小林昌彦、若手研究 (B) 、平成22年度分の交付金額：直接経費 (2,200千円)

<共同研究>

1. c-ABL による相同組み換え因子 RAD51 の機能制御（フランス・ナント大・高橋正行教授、早稲田大・胡桃坂仁志教授、Cambridge 大・Venkitaraman 教授）
2. 酸化ストレスによる ATM 活性化機構（名古屋大・内田浩二教授、熊本大・赤池孝章教授）
3. ATR 活成果における NBS1 の役割（京都大・高田穣教授、京都大・小松賢志教授）

シグナル伝達研究分野

<研究スタッフ>

教授： 善岡 克次

大学院生（博士課程）：Anir Enkhbat

助教： 佐藤 時春

Tuvshintugs Baljinnyam

Radnaa Enkhtuya

事務補佐員：大橋 智江

(修士課程)：沢田 加南子

宮田 大史

学部生（4年）：石川 桃絵

研究生：李 蓉（H23.4～、大学院生）

<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の解明、MAPK モジュールの *in vivo* における役割解明、及び MAPK 経路の時間的・空間的制御機構の解明を目指して研究を行っている。

今年度は、株化細胞及び小脳初代培養系を用いた解析を行い、小脳顆粒前駆細胞の分化過程における足場タンパク質 JSAP1 の細胞膜移行とその役割を明らかにした（*Genes Cells*, in press）。本研究において、足場タンパク質 JSAP1 が bFGF/FGF-2（小脳顆粒前駆細胞の分化誘導因子）に応答して MAPK シグナル系を空間的に制御することを初めて明らかにした。また、細胞のがん化に重要な役割を果たしていると考えられる転写因子 MafB タンパク質の安定性が、JNK シグナル伝達系によって制御されることを見出した（*Arch. Biochem. Biophys.*, 2010）。さらに、*Jlp* KO マウス表皮およびそのマウス由来培養ケラチノサイトでは、紫外線（UVB）誘導性アポトーシスが野生型に比べて顕著に抑制される、という興味深い予備的知見を得た。このことは、皮膚癌が MAPK シグナル伝達系の足場タンパク質の破綻に起因する可能性を強く示唆している。現在、基底細胞特異的に JLP を欠失させたマウスの作出・解析を行っている。

今後、これまでに得られた研究成果を基に、継続して足場タンパク質 JSAP1, JLP

を切り口とした研究を展開する予定である。特に、イ) 発達期小脳における神経細胞（前駆細胞を含む）の増殖、分化、移動などを制御する分子機構解明、ロ) 紫外線（UVB）誘導性アポトーシスにおける JSAP1, JLP の役割とその分子機構解明を目指した研究は、研究室の主要テーマとして精力的に進めて行く。一方、様々な部位特異的 *Jsap1*, *Jlp* ダブルノックアウトマウスを作出・解析し、個々の細胞内シグナル伝達分子ではなく、足場タンパク質の欠失（あるいは変異）によって初めて見出される表現型の探索も行う予定である。このような研究を通じて得られる研究成果は、がんを含む難治疾患の病因解明や治療にも繋がると期待される。例えば、主に小児の小脳に発生する髓芽腫（悪性の脳腫瘍）は小脳顆粒前駆細胞の異常増殖に起因すると考えられているが、詳細については不明な点が多い。*Jsap1*, *Jlp* 遺伝子改変マウスを用いた研究により、髓芽腫発症のメカニズムを分子レベルで理解することが可能になると考えられる。

<発表論文>

原著（研究分野主体）

1. Tanahashi, H., Kito, K., Ito, T., Yoshioka, K. (2010) MafB protein stability is regulated by the JNK and ubiquitin-proteasome pathways. *Arch. Biochem. Biophys.*, 494: 94-100.
2. Sato, T., Enkhbat, A., and Yoshioka, K. Role of plasma membrane localization of the scaffold protein JSAP1 during differentiation of cerebellar granule cell precursors. *Genes Cells* (in press) DOI: 10.1111/j.1365-2443.2010.01465.x.

総説

なし

<学会発表>

全国学会

1. 佐藤時春, Enkhbat, A., 善岡克次

Subcellular localization of the scaffold protein JSAP1 during the differentiation of cerebellar granule cell precursors

小脳顆粒前駆細胞の分化過程における足場タンパク質 JSAP1 の細胞内局在
第 69 回 日本癌学会学術総会、2010 年 9 月、大阪

2. 佐藤時春, Enkhbat, A., Baljinnyan, T., 善岡克次

小脳顆粒前駆細胞の増殖・分化過程における足場タンパク質 JSAP1 の細胞内局在
変化

第 33 回 日本分子生物学会年会、第 83 回 日本生化学大会合同大会、2010 年 12 月、神戸

<外部資金>

平成22年度

科学研究費補助金 基盤研究(C) 1,100千円 (研究代表者:善岡克次)

「足場タンパク質 JSAP1 による小脳顆粒前駆細胞の増殖・分化制御機構の解析」

<学内外との共同研究>

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」

腫瘍制御（旧 遺伝子診断）研究分野

<研究スタッフ> (2010年現在)

教授 源 利成； 准教授 川上和之

博士研究員：金 明姫（2月まで），廣瀬まゆみ（4月から）

大学院 [博士課程] 斎藤健一郎（心肺総合外科，9月まで），松之木愛香（心肺総合外科；米国留学中），王 利明（国費，10月に退学），金子真美（心肺総合外科，3月から）

[修士課程] 北野綾子（薬学系，3月まで），近野祐里（薬学系）

技能補佐員：浅香敦子，桙井亜希子（ヒトがん組織バンク）

共同研究員：山下 要（腫瘍外科），小竹優範（石川県立中央病院消化器外科）

<研究分野の概要と研究成果>

消化器がんと呼吸器がんを中心に、がんの多様な分子細胞病態と腫瘍外科学的特性の解明を目指して、基礎・臨床橋渡し研究を実施している。なかでも、肺がん、脳膠芽腫と再発や転移を含む難治性がんの分子病態解明と制御に重点をおいている。

1. がん化シグナル誘導の分子細胞機構とがん制御への応用

(1) Wnt シグナル制御破綻に関わる新しい分子細胞機構の検討

Wnt 経路の制御破綻ががん化シグナルを誘導する仕組みと、それを修飾する分子細胞機構を解明するために β -catenin を中心に研究を進めている。大腸がんの腫瘍一宿主境界の微小環境において β -catenin が活性化されると固有のがん化シグナルネットワークが構築されることを明らかにしている。これまでの成果に基づいて今年度は、(a) β -catenin により誘導される coding region determinant-binding protein (CRD-BP) の hTERT mRNA 安定性に対する作用；(b) 腸上皮細胞の接着や極性輸送の制御異常と β -catenin 活性化との関連；(c) 大腸がん病巣における CRD-BP の発現と臨床所見との関連などの課題について共同研究を開始、計画している。

(2) glycogen synthase kinase (GSK) 3 β を標的とするがん治療法の開発と臨床応用

消化器がんと脳膠芽腫を対象に、GSK3 β の病的作用の発見と、その阻害によるがん治療効果を明らかにし、分子機構の検討を進めている。これまでの成果を応用して 2009 年から、GSK3 β 阻害医薬品の併用による再発膠芽腫治療法を考案し（特許出願、2010 年 8 月），その第 I / II 相臨床試験を本学附属病院脳神経外科において実施している。以下に今年度の課題と今後の計画を記載する

- (a) がん細胞の上皮一間葉転換と浸潤における GSK3 β の病的作用
- (b) 肺がん、膠芽腫細胞の抗がん剤や放射線耐性における GSK3 β の関与
- (c) がん細胞の代謝特性、とくに Warburg 効果における GSK3 β の関与
- (d) GSK3 β によるがん起源（幹）細胞の制御の可能性
- (e) 再発膠芽腫治療の多施設臨床試験：本学脳神経外科および関連施設と連携する。
- (f) 進行・再発肺がん治療の第 I / II 相臨床試験：金沢医科大学病院腫瘍内科、消化器外科と連携する。 (e), (f) は 2011 年に開始予定である。

(g) cell-based ELISA による新規 GSK3 β 阻害剤のスクリーニング法の開発

2. がんの分子生物学的分類によるオーダーメイドがん化学療法

抗がん剤の感受性・有害事象予測に臨床応用できる分子生物学的診断法を開発し、オーダーメイド化学療法を実現させることを目的に研究を進めている。5-FU のターゲット酵素であるチミジル酸合成酵素 (TS) の遺伝子発現、遺伝子型、LOH の存在に加え、複数の核酸・葉酸代謝酵素遺伝子発現・遺伝子型と抗がん剤感受性の関連を消化器がん、肺がんを対象に解析してきた。本年度は、次項の DNA メチル化に関する研究から偶然発見された、LINE-1 メチル化と 5-FU の感受性が相関するメカニズムを解析し、そのメカニズムに基づき新規の 5-FU 効果増強法を探査している。

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

がん細胞におけるエピジェネティックな変化とその背景にある代謝変動の理解を進め、これをがん予防・診断・治療の新たな戦略構築に応用することを目指している。エピジェネティックな変化のうち、とくに DNA メチル化を解析対象として、がん表現型である CpG island methylator phenotype (CIMP), microsatellite DNA instability (MSI), chromosomal instability 相互の関連を観察し、大腸がんをモデルに発がん経路をエピジェネティック・エピジェネティックな変化により説明することを試みている。次項のがん組織検体資源を使用して、CIMP, MSI の診断に加え、K-ras, B-raf, APC 遺伝子変異等の解析を順次追加し、大腸がん発癌経路の詳細を構築中である。また、ゲノム全体のメチル化を高感度に解析するため、多重蛍光を使用して LINE-1 のメチル化アッセイ法を改良し、laser capture microdissection により採取された微量臨床検体の解析を行っている。さらに、葉酸代謝と DNA メチル化の関連を詳細に検討する目的で、葉酸代謝酵素の強制発現細胞を作成し、葉酸投与量・葉酸代謝酵素発現性・DNA メチル化間の相互関係を解析している。

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がん病巣で具現化してはじめて、がんの臨床に導入することができる。医科学研究に共通する時代の要請である。そのためにはヒトのがん検体は必須である。この目的で、消化管がんの研究や臨床研究の基盤資源として、2008 年末から本学附属病院外科、金沢医科大学病院外科と市中の基幹病院（金沢赤十字病院、石川県立中央病院、など）外科と連携して、本事業（プロジェクト K）を創出した。2010 年にこのプロジェクトを当研究所ヒトがん組織バンクに継承した時点で、大腸がんと胃がんを合わせて約一千例の患者様から検体（正常と病巣組織）を集めている。本事業の当面の目的を以下に記載する。

- (1) 消化管がんの腫瘍外科学と分子腫瘍学研究
- (2) 消化管がん治療の臨床研究、臨床試験：(1)とともに共同利用研究を推進する。
- (3) がん医療とがん研究の産学官・地域連携への働きかけ
 先進医療の共有、地域における均てん化、自治体との連携
 大学や地域医療機関から社会人大学院のリクルート：がん研究の活性化
- (4) 地域の GI オンコロジストの交流、コミュニティの形成

[註]アンダーラインは研究スタッフ、研究協力員および共同研究員

論文発表

原著

1. Saito K, Kawakami K, Matsumoto I, Oda M, Watanabe G, Minamoto T. Long interspersed nuclear element 1 hypomethylation is a marker of poor prognosis in stage IA non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 16 (8): 2418–26, 2010, Published online first on April 6, 2010.
2. Nakajima H, Ishigaki Y, Xia Q, Ikeda T, Yoshitake Y, Yonekura H, Nojima T, Tanaka T, Umehara H, Tomosugi N, Takata T, Shimasaki T, Nakaya N, Sato I, Kawakami K, Koizumi K, Minamoto T, Motoo Y. Induction of HITS, a newly identified family with sequence similarity 107 protein (FAM107B), in cancer cells by heat shock stimulation. *Int J Oncol* 37 (3): 583–93, 2010.
3. Peterson AJ, Menheniott TR, O'Connor L, Walduck AK, Fox JG, Kawakami K, Minamoto T, Ong EK, Wang TC, Judd LM, Giraud AS. Helicobacter pylori infection promotes methylation and silencing of trefoil factor 2, leading to gastric tumor development in mice and humans. *Gastroenterology* 139 (6): 2005–17, 2010. Epub 2010 Aug 27. [Epub ahead of print]
4. Kawakami K, Matsunoki A, Saito K, Kaneko M, Watanabe G, Minamoto T. Long interspersed nuclear element-1 hypomethylation is a potential biomarker for the prediction of response to oral fluoropyrimidines in microsatellite stable and CpG island methylator phenotype-negative colorectal cancer. *Cancer Sci* 102 (1): 166–74, 2011. Epub 2010 Oct 18. doi: 10.1111/j. 1349–7006.2010.01776.x. [Epub ahead of print].
5. Tomita H, Takaishi S, Menheniott TR, Yang X, Shibata W, Jin G, Betz KS, Kawakami K, Minamoto T, Tomasetto C, Rio MC, Lerkowit N, Varro A, Giraud AS, Wang TC. Inhibition of gastric carcinogenesis by the hormone, gastrin, is mediated by suppression of TFF1 epigenetic silencing. *Gastroenterology*, 2010 Nov 24. [Epub ahead of print].
6. Sugawara T, Tsuduki T, Yano S, Hirose M, Duan J, Aida K, Ikeda I, Hirata T. Intestinal absorption of dietary maize glucosylceramide in lymphatic duct cannulated rats. *J Lipid Res* 51: 1761–9, 2010.

著書・総説

7. Nakada M, Kita D, Hayashi Y, Kawakami K, Hamada J, Minamoto T. RNAi in malignant brain tumors: relevance to molecular and translational research. In; Erdmann VA, Barciszewski J, eds., *RNA Technologies and Their Applications*, Springer Verlag, 2010, pp. 107–129.
8. Motoo Y, Shimasaki T, Ishigaki Y, Nakajima H, Kawakami K, Minamoto T. Metabolic disorder, inflammation and deregulated molecular pathways converging in pancreatic cancer development: implications for new therapeutic strategies. *Cancers*, 2010. (invited and in press)
9. Nakada M, Minamoto T, Hayashi Y, Hamada J. The pivotal roles of GSK3 β in glioma biology. In; Zgela V, ed., *Brain Tumor*, 2011, invited and in press.

学会発表

国際学会

1. Katsuyoshi Miyashita, Kazuyuki Kawakami, Mitsutoshi Nakada, Abbas Shakoori, Hironori Fujisawa, Yutaka Hayashi, Jun-ichiro Hamada, Toshinari Minamoto. Potential therapeutic effect of glycogen synthase kinase 3 β inhibition against human glioblastoma. 101st Annual Meeting of American Association for Cancer Research 2010, April 17–21, 2010, Washington DC, U.S.A.
2. Kenichiro Saito, Kazuyuki Kawakami, Isao Matsumoto, Makoto Oda, Go Watanabe, Toshinari Minamoto. LINE-1 hypomethylation is a marker of poor prognosis in stage IA non-small cell lung cancer. 101st Annual Meeting of American Association for Cancer Research 2010, April 17–21, 2010, Washington DC, U.S.A.
3. Trevelyan Menheniott, Anthony J. Peterson, Louise O'Connor, Timothy C. Wang, James G. Fox, Toshinari Minamoto, Kazuyuki Kawakami, Louise M. Judd, Andrew S. Giraud. *TFF2* inhibits tumour growth and is a target for epigenetic silencing in gastric cancer. DDW 2010, May 1–6, 2010, New Orleans, Louisiana, U.S.A.
4. Mitsutoshi Nakada, Yutaka Hayashi, Katsuyoshi Miyashita, Daisuke Kita, Yasuhiko Hayashi, Naoyuki Uchiyama, Kazuyuki Kawakami, Toshinari Minamoto, Jun-ichiro Hamada. Targeting glycogen synthase kinase 3 β in adult recurrent glioblastomas. 7th Meeting of Asian Society for Neuro-Oncology, June 10–12, Seoul, Korea.
5. Ayako Kitano, Takeo Shimasaki, Yuri Chikano, Mitsutoshi Nakada, Tomomi Higashi, Yasuhito Ishigaki, Yoshimichi Sai, Ken-ichi Miyamoto, Yoshiharu Motoo, Kazuyuki Kawakami, Toshinari Minamoto. Pathological role for deregulated GSK3 β in pancreatic cancer proliferation and invasion. The Joint Symposium of the 5th International Symposium of Institute Network and the International Symposium of Commemorating Inauguration of Kanazawa University Cancer Research Institute. June 24–25, 2010, Kanazawa, Japan.
6. Takeo Shimasaki, Yasuhito Ishigaki, Takanobu Takata, Yuka Nakamura, Ayako Kitano, Kazuyuki Kawakami, Naohisa Tomosugi, Toshinari Minamoto, Yoshiharu Motoo. Effect of GSK3 β inhibition against gemcitabine-induced epithelial-mesenchymal transition and invasive ability of pancreatic cancer cells: its therapeutic implication. Joint Meeting of the International Association of Pancreatology and the Japan Pancreas Society 2010 (第 41 回日本膵臓学会大会／第 14 回国際膵臓学会合同学会), 2010 年 7 月 11–13 日, 福岡.

国内学会

7. 藤田秀人, 中村慶史, 石黒 要, 小竹優範, 山下 要, 川上和之, 伴登宏行, 西村元一, 藤村 隆, 萱原正都, 太田哲生, 源 利成. 消化管がん組織検体資源化による進行再発大腸がんに対する抗 EGFR 分子標的医療の均てん化への取り組み. 第 110 回日本外科学会定期学術集会 パネルディスカッション 6. 進行再発大腸癌に対する化学療法の均てん化：外科医の立場から. 2010 年 4 月 8–10 日, 名古屋.
8. 小竹優範, 石黒 要, 伴登宏行, 山田哲司, 西村元一, 中村慶史, 藤田秀人, 山下要, 川上和之, 太田哲生, 源 利成. ヒト消化管がん組織検体資源化によるがん研究と個別化医療への応用 : Project K の試み. 第 65 回日本消化器外科学会総会 : シンポジウム. 消化器癌化学療法における個別化医療の最前線. 2010 年 7 月 14–16 日, 山口.

9. Ilya V. Pyko, 中田光俊, 古山奈月, Teng Lei, 林 裕, 川上和之, 源 利成, 濱田潤一郎. Glycogen synthase kinase 3 β inhibition affects methylation status of the O6-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT) promoter and MGMT gene expression in human glioma cells. 第 11 回日本分子脳神経外科学会, 2010 年 8 月 27–28 日, 仙台.
10. 小竹優範, 川上和之, 廣瀬まゆみ, 伴登宏行, 山田哲司, 渡邊 剛, 源 利成. Distinct DNA methylation profiles and genetic signatures in human colorectal cancer. 大腸癌における DNA メチル化パターンと遺伝子変異の関連. 第 69 回日本癌学会学術集会, 2010 年 9 月 22–24 日, 大阪.
11. 松之木愛香, 川上和之, 廣瀬まゆみ, 斎藤健一郎, 渡邊 剛, 源 利成. LINE-1 methylation is stable in primary and synchronous metastatic colorectal cancer tissues. 大腸癌原発巣および転移巣における LINE-1 メチル化の検討. 第 69 回日本癌学会学術集会, 2010 年 9 月 22–24 日, 大阪.
12. 中田光俊, 林 裕, 宮下勝吉, 喜多大輔, 林 康彦, 内山尚之, 川上和之, 源 利成, 濱田潤一郎. Clinical trial for treatment of recurrent glioblastoma targeting deregulated GSK3 β in combination with temozolomide. Glycogen synthase kinase (GSK) 3 β を分子標的とした再発神経膠芽腫に対する化学療法. 第 69 回日本癌学会学術集会, 2010 年 9 月 22–24 日, 大阪.
13. 北野綾子, 島崎猛夫, 近野祐里, 中田光俊, 東 朋美, 石垣靖人, 遠藤良夫, 廣瀬まゆみ, 崔 吉道, 宮本謙一, 元雄良治, 川上和之, 源 利成. Pathological role for deregulated glycogen synthase kinase (GSK) 3 β in pancreatic cancer proliferation and invasion. 膵がん細胞の増殖と浸潤におよぼす glycogen synthase kinase (GSK) 3 β の病的作用. 第 69 回日本癌学会学術集会, 2010 年 9 月 22–24 日, 大阪.
14. 近野祐里, 中田光俊, 北野綾子, 宮下勝吉, 藤沢弘範, 廣瀬まゆみ, 林 裕, 濱田潤一郎, 崔 吉道, 宮本謙一, 川上和之, 源 利成. Pathological role for deregulated glycogen synthase kinase (GSK) 3 β in glioblastoma proliferation and invasion. 神経膠芽腫の増殖と浸潤におよぼす glycogen synthase kinase (GSK) 3 β の病的作用. 第 69 回日本癌学会学術集会, 2010 年 9 月 22–24 日, 大阪.
15. 島崎猛夫, 石垣靖人, 北野綾子, 高田尊信, 中村由香, 川上和之, 寺田光宏, 友杉直久, 源 利成, 元雄良治. Role and regulation of glycogen synthase kinase 3 β in gemcitabine-induced EMT of pancreatic cancer cells. Gemcitabine による膵癌細胞の EMT における glycogen synthase kinase (GSK) 3 β の役割とその制御. 第 69 回日本癌学会学術集会 : English Workshop: Gastrointestinal cancer (2), 2010 年 9 月 22–24 日, 大阪.
16. 中田光俊, 林 裕, 宮下勝吉, 渡邊卓也, Pyko Ilya, 喜多大輔, 近野祐里, 林 康彦, 内山尚之, 川上和之, 源 利成, 濱田潤一郎. 膠芽腫における GSK3 β 研究の進展とその阻害薬剤を使用した再発膠芽腫に対する第 I/II 相臨床試験. 第 69 回日本脳神経外科学会学術総会 : シンポジウム : 悪性神経膠腫－分子病態から治療まで－, 2010 年 10 月 27–29 日, 福岡.
17. 小竹優範, 山本大輔, 伴登宏行, 山田哲司, 西村元一, 中村慶史, 藤田秀人, 山下 要, 川上和之, 太田哲生, 源 利成. ヒト消化管がん組織検体資源化によるがん研究と個別化医療への応用. 第 21 回日本消化器癌発生学会:ワークショップ 2.

がんの個別化治療, 2010 年 11 月 18—19 日, 軽井沢.

18. 島崎猛夫, 石垣靖人, 高田尊信, 北野綾子, 川上和之, 友杉直久, 源 利成, 元雄良治. 膵癌細胞の抗がん剤誘導性上皮一間葉移行と GSK3 β 阻害による制御機構. 第 21 回日本消化器癌発生学会 : シンポジウム 2. 浸潤・転移の多様性, 2010 年 11 月 18—19 日, 軽井沢.
19. 中島日出夫, 石垣靖人, 高田尊信, 小泉恵太, 川上和之, 源 利成, 元雄良治. 熱ショック誘導性新規がん抑制遺伝子の解析. 第 21 回日本消化器癌発生学会, 2010 年 11 月 18—19 日, 軽井沢 (優秀ポスター賞).
20. 廣瀬まゆみ, 川島博人, 村井稔幸, 竹繩忠臣, 末次志郎, 中川敦史. CRIB ドメインと WH1 ドメインを介した特定の N-WASP 多量体がアクチン骨格形成および細胞運動に寄与している. 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会, 2010 年 12 月 7 日—10 日, 神戸.

座 長

20. 源 利成. モーニングレクチャー : 米田悦啓. 核—細胞質間蛋白質輸送から見た高次生命機能. 第 69 回日本癌学会総会学術集会, 2010 年 9 月 22—24 日, 大阪.

講演, その他

21. 源 利成 (依頼). 発がん学, がん医科学とがん医療—消化器がんを中心にして—. がんにおける質の高い看護師育成研修会, 2010 年 1 月 20 日, 金沢大学附属病院, 金沢.
22. 源 利成 (依頼). がんの医学と研究. 石川県立金沢泉丘高等学校 SSH (Super Science High School) 模擬講義, 2010 年 1 月 22 日, 金沢大学医学部, 金沢.
23. 源 利成 (依頼). 大腸がんの Wnt 経路研究から同定したがん標的 GSK3 β . 第 4 回基礎・臨床交流セミナー, 2010 年 10 月 6 日, 金沢大学.
24. 源 利成 (招聘). GSK3 β : 大腸がんの Wnt 経路研究から同定したがん標的. 第 22 回臨床外科フォーラム, 2010 年 11 月 13 日, 金沢.
25. 源 利成 (依頼). がんの科学と医療. 石川県立金沢泉丘高等学校 SSH (Super Science High School) 模擬講義, 2010 年 11 月 26 日, 金沢医科大学医学部, 内灘.

外部資金

1. 2008—2010 年度 科学研究費補助金 (基盤研究 B) : 課題番号 20390353
川上和之 (代表), 源 利成 (分担), 曽我朋義, 石垣靖人 (連携)
課題 : 大腸癌における DNA メチル化の調節機構解明と遺伝子診断・治療への応用
研究経費 : 10,660 千円.
2. 2010—2012 年度 科学研究費補助金 (基盤研究 A) : 課題番号 22249051
源 利成 (代表), 川上和之, 太田哲生 (分担), 大野博司 (連携)
課題 : 基幹的細胞調節経路の異常に起因する消化器がんの病態解明とがん制御への応用

研究経費：36,110 千円（交付内定額）

3. 2010 年度 研究成果最適展開支援事業 A-STEP フィージビリティスタディ【FS】

ステージ探索タイプ 課題番号：AS221Z02353G

源 利成（代表），川上和之，中田光俊（分担）

課題：GSK3β 阻害薬剤のがん抑制効果の検証と神経膠芽腫治療の臨床研究

研究経費：1,300 千円

4. 2009 年度 財団法人金沢総合技術研究センター研究助成金（2010 年 2 月に受入れ）

源 利成（代表），川上和之（分担）

課題：GSK3β を標的とする新しいがん治療法の開発

研究経費：500 千円

5. 奨学寄附金

2010 年 3 月 株式会社アルプ 283.5 千円

2010 年 3 月 財団法人石川県予防医学協会 1,415.7 千円

2010 年 3 月 財団法人金沢総合技術研究センター 500 千円

知的財産権の出願

1. 日本国特許出願 2010 年 8 月 22 日

出願番号：特願 2010-185691

発明者：中田光俊，源 利成，林 裕，濱田潤一郎

出願者：国立大学法人金沢大学

名称：脳腫瘍治療用キット及び脳腫瘍治療方法

2. 米国特許出願 2010 年 5 月 24 日

出願番号：US 12/785942

発明者：廣瀬まゆみ，村井稔幸，森田潤司，西村公雄

出願者：同志社女子大学

名称：Prophylactic agent for periodontal disease.

報道など

1. 北國新聞 2010 年 9 月 19 日（日）日刊

脳腫瘍に新治療法 金大グループ 臨床試験で延命成功 既存の薬 4 種で増殖抑制

2. 北陸中日新聞 2010 年 9 月 19 日（日）日刊

根治法ない難病脳腫瘍 新治療薬を金沢大が開発 浜田教授らグループ 延命効果上がる

3. 北國新聞 2010 年 9 月 27 日（月）日刊

悪性脳腫瘍の新治療法 「不治の病」治療に光

4. 日本経済新聞 2010 年 10 月 19 日（火）日刊

4 種薬剤転用，がん新薬。金沢大が開発着手 悪性脳腫瘍向け
すい臓・胃・肝臓にも

5. 日経産業新聞 2010 年 10 月 19 日（火）日刊

難治がん治療薬開発へ 3年内に承認申請 脳腫瘍にも有効

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
特任助教： 寺島農 事務補佐員： 小田原敦子
大学院生（博士課程）： Zanabazar Enkhbaatar （修士課程）： 吉田正和

<研究の概要>

ゲノムに挿入し変異を導入するレトロウイルスは、がんをはじめとする様々な疾患に関する遺伝子を網羅的に同定し、その発症機構を解明するために有用なモバイル因子である。本研究分野では、レトロウイルス感染マウスに発症した腫瘍から、ウイルスタギングを用いて新しいがん関連遺伝子群を同定するとともに、既に同定したヒストンのメチル化・脱メチル化を制御する酵素群の細胞生物学的機能を詳細に解析し、エピゲノム異常によるがんの発症・悪性化の機構を解明することを目標としている。

<今年度の研究成果、進行状況と今後の計画>

1) 発がんにおけるヒストンのメチル化を制御する酵素群の重要性

ウイルス挿入変異の大規模な解析から、ヒストンのメチル化酵素 17 種 (Ezh2, Setd7, Smyd2 など) と脱メチル化酵素 12 種 (Fbxl10, Jmjd3, Jmjd2c など) を新たな標的として同定した。ヒストンの翻訳後修飾は、転写制御など様々な生物学的現象に関与している。特に、ヒストンの脱アセチル化酵素の阻害剤が抗がん剤として開発されていることもあり、メチル化と発がんの関係も大変注目されている。標的として同定したメチル化制御酵素群について、本研究所のヒトがん組織バンクを利用し、がん組織での発現を調べた結果、発現異常が高頻度に検出された。また、酵素を高発現する数種のがん細胞株では、酵素の発現をノックダウンすると、細胞増殖の抑制が観察され、ヒストンのメチル化の脱制御が、発がんに密接に関係していることが確認された。

2) ヒストンのメチル化制御酵素による遺伝子発現の調節

酵素の発現異常が細胞内の遺伝子発現に与える影響を調べるために、がん遺伝子候補 (Jmjd2c, Plu1 など) や、がん抑制遺伝子候補 (Utx, Jmjd3 など) の酵素の発現を ON/OFF できる細胞株を樹立し、cDNA の大規模シークエンシングによる発現プロファイリングを行っている（東大・菅野純夫教授、金大・佐藤賢二准教授との共同研究）。今回、ヒト食道がんや腎がんで変異が見られるがん抑制遺伝子候補 Utx 脱メチル化酵素が、細胞の増殖を負に制御することを見いだし、その際、ヒストン H3 の 27 番目のリジン (H3K27) の脱メチル化を介して、Rb および Rbl2 がん抑制遺伝子の発現上昇を誘導することを明らかにした。酵素による標的遺伝子の発現とともに、その発現制御領域でのヒストンの翻訳後修飾の変化を調べることで、がん細胞における遺伝情報発現異常の本質を理解していきたい。

3) ヒストン脱メチル化酵素 Plu1 による細胞浸潤能の亢進

ヒト乳がんや前立腺がんにおけるがん遺伝子候補 Plu1 が、がんの発症だけでなく、がん細胞の細胞浸潤能を亢進する活性をもつことをはじめて示し、ヒストンのメチル化制御酵素群のがん悪性化における新たな役割を見つけた。Plu1 による転写制御の標的となる KAT5 アセチル化酵素およびその下流の CD82 遺伝子の転写抑制を介して、Plu1 が細胞浸潤能を亢進することを明らかにした（論文投稿中）。

4) がん悪性化の様々な過程におけるメチル化制御酵素の新しい役割

がん抑制遺伝子候補 Jmjd3 をノックダウンすると、イレッサ感受性肺癌細胞株のイレッサ耐性獲得能が著しく上昇することを検出した。ノックダウン細胞におけるトランスクリプトーム・プロテオーム解析により耐性獲得の分子機構の解明とともに、耐性獲得肺癌患者サンプルでの Jmjd3 の発現変化を調べる計画である（矢野聖二教授との共同研究）。同様の手法で、上皮-間葉転換（EMT）にポジティブに作用する酵素 Kdmx とネガティブに作用する酵素 Kdmy をこれまでに同定した。EMT 誘導に重要な転写因子および EMT マーカーの転写に及ぼす酵素の影響を解析し、その分子機構を解明する。また、スクリーニングを継続し、他の酵素の関与も探索する。さらに、バイオインフォマティクスを用いた解析を利用することで、大腸がん細胞において、DNA メチル化で転写抑制されるがん抑制遺伝子の発現と相関性の見られるヒストンメチル化制御酵素の組み合わせを複数（PLU1-SOCS1,SUV39H1-TIMP3, JMJD3-RASSF1 など）を見つけた（源利成教授との共同研究）。エピジェネティクスにおいて重要な 2 つのメチル化の関係性とそれらのがん発症・悪性化における役割の解明を目指す。

5) がん関連遺伝子候補 Jmjd5 酵素の機能解析

脱メチル化酵素である Jmjd5 がん関連遺伝子の生理機能や発がんにおける役割を解明するために、Jmjd5 conditional KO マウスを作製した。これまでに、Jmjd5 遺伝子の欠損により胚性致死が誘導されること、その際、細胞周期を制御する因子群のうち p21 (Cdkn2a) の発現の細胞自律的な亢進が見られること、そのメカニズムが p21 遺伝子上のヒストン H3K36 メチル化の特異的な上昇によるこことを明らかにした（投稿準備中）。さらに、p53 KO マウスとの交配実験等から、Jmjd5 が p53 シグナル経路の制御に関わる新しい因子であることを示唆する結果を得ており、Jmjd5 複合体の酵素活性と p53 の機能との関係を今後明らかにしていきたい。また、骨細胞に特異的な Jmjd5 KO マウスを作製したところ、骨量の顕著な減少が観察されており、骨分化における Jmjd5 の新しい機能を現在詳しく解析している（東大・加藤茂明教授との共同研究）。

<発表論文>

原著

1. Terashima M, Ishimura A, Yoshida Y, Suzuki Y, Sugano S and Suzuki T. The tumor suppressor Rb and its related Rbl2 genes are regulated by Utx histone demethylase. Biochem. Biophys. Res. Commun. 399(2), 238-244, 2010.

<学会発表>

国際学会

1. Ishimura A, Minehata K, Terashima M, Hara T and Suzuki T. The role of Jmjd5, a candidate cancer gene identified by retroviral insertional mutagenesis: Analysis of Jmjd5-deficient mice. The Joint Symposium of the 5th International Symposium of Institutes Network and the International Symposium Commemorating Inauguration of Kanazawa University Cancer Research Institute, June 2010, Kanazawa, Japan.
2. Suzuki T, Terashima M, Yoshida M and Ishimura A. Functional analysis of histone methyltransferases and demethylases identified by mouse retroviral insertional mutagenesis. The 10th Awaji International Forum on Infection and Immunity, September 2010, Awaji, Japan.

国内学会

1. Ishimura A, Terashima M and Suzuki T. The physiological role of Jmjd5, a candidate cancer gene identified by retroviral insertional mutagenesis. 第69回日本癌学会学術総会（大阪2010年9月）
2. Terashima M, Ishimura A, Yoshida M and Suzuki T. Functional characterization of JmjC domain-containing proteins and SET domain-containing proteins involved in cancer. 第69回日本癌学会学術総会（大阪 2010 年 9 月）
3. Suzuki T, Terashima M, Yoshida M and Ishimura A. Functional analysis of histone methyltransferases and demethylases identified by mouse retroviral insertional mutagenesis. 第33回分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会（神戸2010年12月）

<外部資金>

1. 文部科学省科学研究費補助金, 特定領域（感染マトリックス）, 研究代表者 鈴木健之, 3,500 千円
研究課題名 「白血病ウイルス感染による病原性発現に関与する細胞性因子の解析」
2. 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, 1,100 千円
研究課題名 「ゲノムへの挿入変異を利用した疾患関連遺伝子の単離とその機能解析」

3. 文部科学省科学研究費補助金, 若手研究 (B) , 研究代表者 石村昭彦, 1,400 千円
研究課題名「新規がん抑制遺伝子 Jmjd5 の血管新生・造血における役割と発がん機構の解明」

<共同研究>

1. 原 孝彦 副参事研究員 東京都臨床医学総合研究所 ウィルス挿入変異によつて同定されたがん関連遺伝子 Jmjd5 の血液・血管の発生における機能解析
2. 加藤 茂明 教授 東京大学分子細胞生物学研究所 ヒストン脱メチル化酵素 Jmjd5 の骨分化における機能解析
3. 野崎 直仁 准教授 東京工業大学バイオフロンティア エピゲノム解析ツールとしての複合修飾ヒストン抗体の開発

がん研究所・分子標的がん医療研究開発センター

腫瘍内科・腫瘍外科研究分野

<研究スタッフ>

教 授	矢野 聖二	講 師	大坪 公士郎
講 師	安本 和生	助 教	毛利 久継
助 教	山下 要	助 教	竹内 伸司
助 教	山田 忠明	研究員	Qi Li
博士研究員	Wei Wang	大学院生	Ivan S. Donev
研究員	金 鉄峰	大学院生	ZHAO LU
大学院生	坂東 英明	事務補佐員	堂林 淳子
事務補佐員	岡本 恵子	技能補佐員	中 みぎわ
技能補佐員	北 賢二		

<研究の概要>

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、肝細胞増殖因子(HGF)による EGFR チロシンキナーゼ阻害薬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。

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。

<今年度の研究成果>

1. 肝細胞増殖因子(HGF)が EGFR (上皮成長因子受容体) 遺伝子変異を有する肺がん細胞の EGFR チロシンキナーゼ阻害薬ゲフィチニブ（商品名イレッサ）耐性を誘導することを見出している。本年度は、HGF の特異的受容体 MET や EGFR の下流に存在する分子である PI3K に着目し、*in vitro* および *in vivo* モデルにおいて PI3K 阻害薬が HGF によるゲフィチニブ耐性を解除することを明らかにした。現在、その分子機構を詳細に解析している。（矢野、Wang、Li、Donev、山田）
2. 肺がん患者において、腫瘍の EGFR 遺伝子変異の有無にかかわらず、治療前の血漿中 HGF 濃度と EGFR-TKI 奏効性の間に相関があることを示した。また、腫瘍組織中の HGF 発現と血漿中 HGF 濃度の間には相関は見られなかった。これらの結果から、肺がんにおいて血漿中 HGF 測定が EGFR-TKI 治療の効果予測のバイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。（矢野）
3. 臨床的に肺がんにおいては男性よりも女性において骨転移が多い傾向があることが知られている。NK 細胞除去 SCID マウスを用いた転移モデルにおける検

討で、PTHRP を高発現する小細胞肺がん株 SBC-5 を静注した場合、オスと比較しメスのマウスにおいて有意に多い骨転移が形成されることを明らかにした。肺や肝転移には性差は認められなかった。その機序としては、オスと比較しメスの SBC-5 移植マウスの血清中 PTHRP 濃度が有意に高かったことから、メスにおいて腫瘍から産生される PTHRP 発現が増強され、骨吸収を刺激する結果骨転移形成が促進されると考えられた。(矢野)

4. 発がんと関連の深い細胞老化の分子機構を明らかにするために解析を行い、p16 と p21 の両遺伝子を欠失させると細胞老化を乗り越え、活性化型 Ras により造腫瘍性が促進されることが明らかとなった。また、皮膚化学発がんモデルにおいて、p21 が良性腫瘍の発生そのものを抑制し、p16 が悪性転換を抑制していることが示唆された。p16 と p21 の作用点の違いが明確になり、細胞老化の主要な誘導因子である p16 と p21 の発がん防御における協調的役割を明らかにした。
5. 難治癌である胃癌腹膜播種の標的治療法開発のために、我々は新たな分子機序である CXCR4/CXCL12 axis の関与を明らかにしてきた (Cancer Res 2006)。本年度は、新たに EGFR/EGFR リガンド (amphiregulin, HB-EGF) axis の関与ならびに CXCR4/CXCL12 axis との本病態増悪への相互促進作用を明らかにした。(安本、山田、矢野)

<今後の計画>

1. HGF による活性型 EGFR 遺伝子変異を有する肺腺がんのゲフィチニブ耐性の機序解析をさらに推進し、HGF による耐性症例の臨床的な頻度を明らかにする。さらに、HGF による耐性の臨床的診断法や、HGF あるいは MET の阻害薬を用いた新たな耐性克服薬を開発する。
2. 金沢大学附属病院呼吸器外科と協力し、200 例を超える肺癌手術組織を凍結保存したが、さらに症例を追加しがん組織バンクの構築を推進する。また、脳神経外科や整形外科と協力し、脳転移や骨転移の手術組織も集積する。
3. すでに確立している肺がんの脳転移および骨転移モデルを用いて分子機構解析を推進する。さらに、臨床検体における解析も実施する。
4. 胸膜中皮腫に対する血管新生因子や新規癌抑制遺伝子を標的とした分子標的治療法確立を目指し、中皮腫細胞と宿主細胞の相互反応や新規遺伝子に着目した解析を進める。
5. 膵がんや胃がんの腹膜播種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 (2010年1月～12月)

<発表論文>

原著論文

(主体となったもの)

1. Donev IS, Wang W, Yamada T, Li Q, Takeuchi S, Matsumoto K, Yamori T, Nishioka Y, Sone S, Yano S. Transient PI3K inhibition induces apoptosis and overcomes HGF-mediated resistance to EGFR-TKIs in EGFR mutant lung cancer. **Clin Cancer Res**, in press.
2. Yamada T, Matsumoto K, Wang W, Li Q, Nishioka Y, Sekido Y, Sone S, Yano S. Hepatocyte growth factor reduces susceptibility to irreversible epidermal growth factor receptor inhibitor in EGFR-T790M mutant lung cancer. **Clin Cancer Res**, 16:174-183, 2010.
3. Yamada T, Ohtsubo K, Izumi K, Takeuchi S, Mouri H, Yamashita K, Yasumoto K, Ghenev P, Kitagawa S, Yano S. Metastatic renal cell carcinoma complicated with diffuse alveolar hemorrhage: a rare adverse effect of sunitinib. **Int J Clin Oncol**, 15:638–641, 2010.
4. Okada G, Watanabe H, Ohtsubo K, Mouri H, Yamaguchi Y, Motoo Y, Sawabu N. Multiple factors influencing the release of hTERT mRNA from pancreatic cancer cell lines during in vitro culture. **Cell Biol Int**, in press.
5. 山田忠明、毛利久継、泉浩二、竹内伸司、大坪公士郎、山下要、安本和生、北村星子、矢野聖二. Cisplatin+Vinorelbine 併用化学療法が有効であった多発性肺転移を有する皮膚原発腺様囊胞癌の1症例. 癌と化学療法 8:1545-1548, 2010

(共同研究)

1. Tanaka H, Kimura T, Kudoh S, Mitsuoka S, Watanabe T, Suzumura T, Tachibana K, Noguchi M, Yano S, Hirata K. Reaction of plasma hepatocyte growth factor levels in non-small cell lung cancer patients treated with EGFR-TKIs. **Int J Cancer**, 2011 104:505-13.

2. Shiirevnyamba A, Takahashi T, Shan H, Ogawa H, Yano S, Kanayama H, Izumi K, Uehara H. Enhancement of osteoclastogenic activity in osteolytic prostate cancer cells by physical contact with osteoblasts. **Br J Cancer** 2011;104:505-13.
3. Tanaka S, Nakada M, Hayashi Y, Nakada S, Kitamura-Sawada S, Furuyama N, Suzuki T, Kamide T, Hayashi Y, Yano S, Hamada JI. Epithelioid glioblastoma changed to typical glioblastoma -the methylation status of MGMT promoter and 5-ALA fluorescence -. **Brain Tumor Pathol**, 2010 Dec 25. [Epub ahead of print].
4. Takeuchi S, Takahashi A, Motoi N, Yoshimoto S, Tajima T, Yamakoshi K, Hirao A, Yanagi S, Fukami K, Ishikawa Y, Sone S, Hara E, Ohtani N. Intrinsic cooperation between p16INK4a and p21Waf1/Cip1 in the onset of cellular senescence and tumor suppression in vivo. **Cancer Res**, 70:9381-9390, 2010.
5. Sakaguchi S, Goto H, Hanibuchi M, Otsuka S, Ogino H, Kakiuchi S, Uehara H, Yano S, Nishioka Y, Sone S. Gender difference in bone metastasis of human small cell lung cancer, SBC-5 cells in natural killer-cell depleted severe combined immunodeficient mice. **Clin Exp Metastasis**, 27:351-359, 2010.
6. Kanematsu T, Hanibuchi M, Tomimoto H, Sakiyakma S, Kenzaki K, Kondo K, Bando H, Haku T, Yoneda K, Hirose T, Toyoda Y, Goto H, Sakaguchi S, Kinoshita K, Azuma M, Kakiuchi S, Kishi J, Azuma M, Tada H, Sumitomo M, Nishioka Y, Yano S, Sone S. Epidemiological and clinical features of lung cancer patients from 1999 to 2009 in Tokushima Prefecture of Japan. **J Med Invest**, 57:326-333, 2010.
7. Izumi K, Narimoto K, Sugimoto K, Kobori Y, Maeda Y, Mizokami A, Koh E, Yamada T, Yano S, Namiki M. The Role of Percutaneous Needle Biopsy in Differentiation of Renal Tumors. **Jpn J Clin Oncol**, 40:1081-1086, 2010.
8. 中川原寿俊、萱原正都、田島秀浩、北川裕久、太田哲生、全 陽、大坪公士郎. 早期胆道癌との鑑別が困難であった胆囊 dysplasia の 1 例. **胆道** 24 :135-138, 2010.
9. 東 勇氣、北川裕久、牧野 勇、林 泰寛、中川原寿俊、田島秀浩、大西一朗、高村博之、谷 卓、萱原正都、太田哲生、大坪公士郎、毛利久継、蒲田敏文、松井 修、池田博子、浦出雅昭. Osteoclast-like giant cell の発現がみられた若年性膵 MCN の 1 例. **肝胆膵画像** 12:782-786, 2010.

総説

1. Yasumoto K, Yano S. The molecular mechanisms of gastric cancer metastasis: Role of the chemokine receptor CXCR4 and its ligand CXCL12 in peritoneal carcinomatosis. **Transworld Research Network**, in press.
2. Yano S, Li Q, Wang W, Yamada T, Takeuchi S, Nakataki E, Ogino H, Goto H, Nishioka Y, Sone S. Antiangiogenic therapy for malignant mesothelioma. **Front Biosci**, 2011;16:740-8..
3. Yano S, Wang W, Li Q, Yamada T, Takeuchi S, Matsumoto K, Nishioka Y, Sone S. HGF-MET in resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in lung cancer. Hepatocyte growth factor and its receptor signaling and the therapeutic implications. **Curr Signal Transd T**, in press.
4. 矢野聖二. EGFR 遺伝子変異非小細胞肺癌と EGFR-TKI 耐性克服の戦略. **最新医学** 65:356-362, 2010.
5. 矢野聖二. HGF/MET シグナルによる EGFR-TKI 阻害薬耐性. **呼吸器内科** 17:283-288, 2010.
6. 矢野聖二、大坪公士郎、毛利久継. VEGF/VEGFR 阻害薬. **The Liver Cancer Jurnal** 2:213-218, 2010
7. 矢野聖二. 至適な分子標的を決定するために必要な前臨床試験. **腫瘍内科** 6:179-184, 2010.
8. 矢野聖二、毛利久継、山下要、山田忠明、竹内伸司、大坪公士郎、安本和生. 血管新生抑制療法の臨床的エビデンスと今後の課題. **細胞工学** 29:1119-1123, 2010.
9. 矢野聖二. EGFR-TKI の耐性とその克服に関する研究の展開. **Jpn J Cancer Chemother** ,37:1463-1446, 2010.
10. 矢野聖二. 肺の領域. **Surgery Frontier**, 17:44-48, 2010.
11. 安本和生. 転移性胃癌の頻度. **日本医事新報社**: 4479; 95-97, 2010.
12. 毛利久継、矢野聖二. 分子標的薬の副作用マネジメント 倦怠感、タンパク尿. **消化器外科ナーシング 2010:(増)** 212-221, 2010.

13. 山田忠明、矢野聖二. 転移・微小環境 がんの分子標的と治療薬事典 : 178-191, 2010.
14. 竹内伸司、矢野聖二. 肺癌薬物用法に伴うリスク管理. 呼吸と循環 58:765-775, 2010.
15. 竹内伸司、矢野聖二. 血管研究と血管治療. 実験医学 (増) 28 : 208-213, 2010.

<学会発表・国内>

1. 第 8 回日本臨床腫瘍学会学術集会 大坪公士郎、竹内伸司、山田忠明、毛利久継、山下要、安本和生、渡邊弘之、池田博子、中沼安二、矢野聖二. 原発不明がんとして GEM/CDDP 療法が奏功し、剖検にて膵癌と確定診断された 1 例. 2010 年 3 月 東京
2. 第 8 回日本臨床腫瘍学会学術集会 毛利久継、竹内伸司、山田忠明、大坪公士郎、山下要、安本和生、矢野聖二. 未治療原発不明癌に対する CBDCA・TXT 併用化学療法の検討. 2010 年 3 月 東京
3. 第 107 回日本内科学会総会・講演会 山田忠明、竹内伸司、毛利久継、大坪公士郎、山下要、安本和生、矢野聖二. 当科における原発不明癌のプラチナ・タキサン併用化学療法の検討. 2010 年 4 月 東京.
4. 第 96 回日本消化器病学会総会 大坪公士郎、竹内伸司、山田忠明、毛利久継、山下要、安本和生、渡邊弘之、池田博子、中沼安二、矢野聖二. 原発不明癌として GEM/CDDP 療法が奏功し、剖検にて膵癌と確定診断された 1 例. 2010 年 4 月 新潟.
5. 第 50 回日本呼吸器学会学術講演会 山田忠明、ドネブ イワン シュテレブ、王偉、李チ、竹内伸司、矢野聖二. EGFR 遺伝子変異 T790M を有する肺腺癌細胞株に対する PI-3 キナーゼ阻害剤の抗腫瘍効果 2010 年 4 月 京都.
6. 第 95 回日本消化器病学会北陸地方会 大坪公士郎、竹内伸司、山田忠明、毛利久継. 脾仮性囊胞を合併し、主膵管内に嵌頓した膵石症に対して ESWL が奏功した 1 例. 2010 年 6 月 福井.
7. 第 95 回日本消化器病学会北陸地方会 毛利久継. 当科における切除不能悪性胆道狭窄に対する内視鏡治療の現況. 2010 年 6 月 福井.

8. 第 211 回日本内科学会北陸地方会 毛利久継、竹内伸司、山田忠明、大坪公士郎、山下要、安本和生、矢野聖二. 化学放射線療法が奏功し、著明な QOL の改善がみられた原発不明癌の 1 例. 2010 年 6 月 金沢.
9. 第 14 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 EGFR-TKI 耐性の分子機構と克服に向けた試み. 2010 年 7 月 東京.
10. 第 62 回肺癌学会北陸支部会 山田忠明、竹内伸司、大坪公士郎、松本勲、小田誠、矢野聖二. 自己免疫性膵炎を合併した肺扁平上皮癌の 1 例. 2010 年 7 月 富山.
11. 第 19 回日本がん転移学会学術集会・総会 安本和生. 胃癌癌性腹膜炎成立への EGFR リガンド、HBEGF と Amphiregulin の関与. 2010 年 7 月 金沢.
12. 第 19 回日本がん転移学会学術集会・総会 王偉. Novel gefitinib resistance mechanism and its therapeutic strategy for lung adenocarcinoma with EGF gefitinib resistance mechanism and its therapeutic strategy for lung adenocarcinoma with EGF receptor activating mutations. 2010 年 7 月 金沢.
13. 第 19 回日本がん転移学会学術集会・総会 山田忠明. 非小細胞肺癌における EGFR-TKI 耐性の機構機構解明と克服の戦略. 2010 年 7 月 金沢.
14. 第 5 回肺癌分子病態研究会 山田忠明、矢野聖二. 非小細胞肺癌における HGF による EGFR-TKI 耐性機構の克服. 2010 年 9 月 東京.
15. 第 6 9 回日本癌学会学術総会 山田忠明、竹内伸司、ドネブ イワン シュテレブ、西岡安彦、曾根三郎、松本邦夫、矢野聖二. 野生型 EGFR 肺癌における肝細胞増殖因子 (HGF) の抗 EGFR 抗体 Cetuximab 耐性誘導機構 2010 年 9 月 大阪.
16. 第 6 9 回日本癌学会学術総会 ドネブ イワン シュテレブ、山田忠明、竹内伸司、松本邦夫、矢守隆、西岡安彦、曾根三郎、矢野聖二. PI3K 阻害は、EGFR 活性型変異を有する肺癌の HGF によるゲフィチニブ耐性機構を克服する. 2010 年 9 月 大阪.
17. 第 6 9 回日本癌学会学術総会 矢野聖二 EGFR 肺がんのチロシンキナーゼ阻害薬耐性と治療戦略. 2010 年 9 月 大阪.
18. 第 6 9 回日本癌学会学術総会 安本和生 胃癌性腹膜炎形成における EGFR リガンド (HB-EGF, amphiregulin) の果たす役割. 2010 年 9 月 大阪.

19. 第 52 回日本消化器病学会大会 安本和生 CXCR4 と EGFR/EGFR リガンドを標的とした胃癌腹膜播種標的治療法の開発. 2010 年 10 月 横浜.
20. 第 52 回日本消化器病学会大会 大坪公士郎、竹内伸司、山田忠明、毛利久継、山下要、安本和生、山田圭輔、蒲田敏文、松井修、矢野聖二. 難治性疼痛を合併した膵癌の背景因子に関する検討. 2010 年 10 月 横浜.
21. 第 212 回日本内科学会北陸地方会 毛利久継、竹内伸司、山田忠明、大坪公士郎、山下要、安本和生、矢野聖二. Humoral hypercalcemia of malignancy を合併した進行膵癌の 1 例. 2010 年 10 月 富山.
22. 第 48 回日本癌治療学会学術集会 矢野聖二. EGFR 遺伝子変異陽性肺がんにおける EGFR-TKI 耐性の克服. 2010 年 10 月 京都.
23. 第 48 回日本癌治療学会学術集会 毛利久継. 当科における悪性胆道狭窄に対する内視鏡治療の現況. 2010 年 10 月 京都.
24. 第 51 回日本肺癌学会総会 矢野聖二. マルチキナーゼ阻害薬を用いた胸膜中皮腫の薬物治療. 2010 年 11 月 広島.
25. 第 51 回日本肺癌学会総会 山田忠明、竹内伸司、毛利久継、大坪公士郎、山下要、矢野聖二. 当センターにおけるベバシズマブ併用化学療法の使用経験. 2010 年 11 月 広島.
26. 第 96 回日本消化器病学会北陸地方会 大坪公士郎、竹内伸司、山田忠明、毛利久継、山下要、安本和生、矢野聖二. 当科における胆・膵領域の超音波内視鏡検査 (EUS) の現状と今後の展望. 2010 年 11 月 金沢.

<学会発表・国際>

1. American Association for Cancer Research, 101st ANNUAL MEETING 2010 Yano S, Wang W, Takeuchi S, Yamada T. Therapeutic effect of HGF inhibitors against HGF-induced EGFR-TKI resistance in lung cancer harboring EGFR mutations. 2010 4 月 Washington, USA.
2. American Association for Cancer Research, 101st ANNUAL MEETING 2010 Yamada T, Matsumoto K, Donev IS, Nishioka Y, Sekido Y, Sone S, Yano S. Hepatocyte growth factor induces resistance to an irreversible epidermal growth factor receptor inhibitor in EGFR-T790M mutant lung cancer. 2010 4 月 Washington, USA.

3. The 10th International Conference of the International Mesothelioma Interest Group.
Wang W, Li Q, Yano S, Nishioka Y, Sone S. The therapeutic efficacy of anti-vascular endothelial growth factor antibody, bevacizumab, and pemetrexed against orthotopically implanted human pleural mesothelioma cells in severe combined immunodeficient mice. 2010 8 月 Kyoto.
4. The 10th International Conference of the International Mesothelioma Interest Group.
Li Q, Wang W, Yamada T, Nishioka Y, Sone S, Yano S. Pleural mesothelioma instigates tumor associated fibroblasts to promote progression via malignant cytokine network. 2010 8 月 Kyoto.
5. Joint Meeting of International Association of Pancreatology and the Japan Pancreas Society 2010. Ohtsubo K, Watanabe H, Mouri H, Takeuchi S, Yamada T, Yamashita K, Yasumoto K, Yano S. Upper Gastrointestinal Lesions in the Patients with Pancreatic Cancer. 2010 年 7 月 Fukuoka.

<外部資金>

1. 新学術領域 日本学術振興会
矢野聖二
研究代表者 18,000 (千円)
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
2. 基盤研究 (B) 日本学術振興会
矢野聖二
研究代表者 4,600 (千円)
HGFによるEGFR活性型変異陽性肺癌の分子標的薬耐性を克服する個別化医療開発
3. 基盤研究 (C) 日本学術振興会
安本和生
研究代表者 1,000 (千円)
4. 若手研究 (B) 日本学術振興会
王 偉
研究代表者 1,200 (千円)

5. 保健医療分野における基礎研究推進事業 医薬基盤研究所
矢野聖二
研究分担者 13,000 (千円)
中皮腫の進展におけるAggrusの関与を解明する研究
6. 厚生労働省 がん研究助成金 東北大学加齢医学研究所・佐藤班
矢野聖二
研究分担者 1,000 (千円)
腫瘍脈管系を標的としたがん浸透転移とがん幹細胞制御法の確立
7. 受託研究 エーザイ
矢野聖二
研究代表者 2,000 (千円)
E7050 による肺癌の EGFR-TKI 耐性克服
8. 共同研究 大鵬薬品工業
矢野聖二
研究代表者 5,000 (千円)
肺がんにおける EGFR-TKI の耐性機構の解明

<共同研究>

1. 中皮腫の進展におけるAggrusの関与を解明する研究
癌研究会癌化学療法センター 基礎研究部 藤田直也
2. HGFによるEGFR活性型変異陽性肺癌の分子標的薬耐性を克服する個別化医療開発
筑波大学 病理部 野口雅之
3. E7050 による肺癌の EGFR-TKI 耐性克服
受託研究 エーザイ株式会社 上仲俊光
4. 肺癌における EGFR-TKI の耐性機構の解明
共同研究 大鵬薬品工業 宇津木照洋
5. MET 遺伝子増幅を有する肺がんの細胞内シグナル伝達に関する研究
愛知県がんセンター 胸部外科 光富徹哉

6. 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
愛知県がんセンター 分子腫瘍部 関戸好孝
7. 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
安田女子大学薬学部薬学科生命薬学講座 柳原五吉
8. HGF による EGFR-TKI 耐性の頻度を明らかにする研究
徳島大学ヘルスバイオサイエンス研究部 呼吸器・膠原病内科
曾根三郎、西岡安彦
9. 胸膜中皮腫の分子標的の臨床検体における解析
兵庫県立尼崎病院呼吸器外科 糸井和美、岩切章太郎
10. PI3K 阻害薬の HGF による EGFR-TKI 耐性の克服効果を検討する研究
癌研究会癌化学療法センター分子薬理部 矢守隆夫
11. 血液中 HGF 測定により EGFR-TKI の感受性が可能か否かを検討する研究
大阪市立大学呼吸器内科 工藤新三、木村達夫

中央実験施設

<研究スタッフ>

准教授 黒木 和之、遠藤 良夫、久野 耕嗣

助教 天野 重豊

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関わると共に、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ADAMTS1の器官形成と機能における役割とその生理活性の解析、天野はホヤの生体防御に関わる血球の機能をテーマに研究を進めている。

<研究概要、2010年度の成果、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ヒトB型肝炎ウイルス（HBV）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。昨年ヒトおよびダックB型肝炎ウイルス（HBVおよびDHBV）の増殖は時計制御遺伝子群によって制御されている可能性を示した。時計制御遺伝子のひとつで正の転写制御因子であるRetinoid-related orphan receptor α (ROR α)は、これらウイルス遺伝子の発現をひじょうに強く抑制し、増殖を阻害する。今年度、HBV enhancerに働く肝細胞特異的転写因子のひとつがROR α と結合する新規因子であることを発見した。この結合とウイルス遺伝子発現抑制について解析を進めるとともに、概日時計に依存したB型肝炎ウイルスの増殖について明らかにしていく。また、HBV感染の分子メカニズム解明のため、モデルとしてのDHBV 2nd receptorの探索やHBV感染培養細胞系樹立のための準備を進めている。

5-ALAを用いる光線力学的療法の新たな応用（遠藤）

がんの光線力学的診断と治療の新展開を目指し、5-amino levulinic acid（以下5-ALA）を用いるPDT（5-ALA-PDT）による治療の成否の鍵を握る感受性規定因子の同定と効果増強法に関する研究を実施している。

本年度の研究では、5-ALA-PDTに対する感受性は5-ALAの細胞内取り込みに重要なオリゴペプチドトランスポーターとPpIXの排出に関するATP結合カセットトランスポーターの発現バランスにより決定されることを見出した。現在、これらを標的にした5-ALA-PDT感受性増強剤の探索を行っているが、有望なリード化合物候補が見出されつつある。

〈今後の計画〉

- 1) 細胞膜輸送系の機能修飾に基づく5-ALA-PDT効果増強剤の探索研究を実施する。
- 2) 5-ALAの胃がん腹膜播種の光線力学的診断(PDD)への応用研究として高度腹膜播種性ヒト胃がん株MKN-45Pを用いたxenograftモデルにおける5-ALA-PDDの最適化を行う。

ADAMTS-1 の分娩時における役割の解析（久野）

ADAMTS-1-/マウス（129/B6 遺伝子背景）は、腎孟尿管移行部閉塞症と酷似した表現型を示し、排卵過程、卵胞生育過程、卵巣髓質部の血管形成、皮膚損傷治癒過程などにも異常を示すが、その後 BALB/c 遺伝子背景の ADAMTS-1-/マウスでは分娩異常が高頻度で起こることを見い出している。ADAMTS-1-/マウスの分娩異常の原因を明らかにするため、同マウスの子宮平滑筋の収縮能について調べているが、今回子宮収縮誘導物質として知られる PGE₂, PGF₂αに対する応答性について調べた。妊娠 19 日目の分娩直前の ADAMTS-1-/マウスから調製した子宮平滑筋 strip では、PGE₂刺激による機能的な平滑筋あたりの収縮応答性が野生型マウスの場合と比較して有意に低下していた。また ADAMTS-1-/マウスの子宮平滑筋 strip では PGF₂αに対する応答性も顕著に低下していることがわかった。今回およびこれまでの結果から、機能的な平滑筋量およびオキシトシンへの応答性の低下に加え、PGに対する応答性の低下も ADAMTS-1-/マウスの分娩異常の原因である可能性が示唆された。今後、ADAMTS-1-/マウスの子宮平滑筋における組織学的変化や ECM 成分、子宮収縮調節因子の発現の変化について解析を行う。また ADAMTS-1-/マウスで子宮頸管の熟化に異常があるか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。

自然免疫における血球の役割とその進化について（天野）

無脊椎動物において血球による生体防御機構を明らかにすることにより、哺乳類の血球系の進化を理解する上で重要な知見が得られると考えられる。マボヤの自然免疫系においては血球による貪食は極めて重要であり、hyaline amoebocyte を含む 4 種類の血球に貪食能がある。Vacuolated cell には phenoloxidase があり、酸化作用によって微生物の侵入を防いでいる。Mast cell の起源と予想される globular cell には、ヘパリン様物質があると思われる。ヘパリンは進化の初期に、生体防御の役割を担っていた可能性がある。

<発表論文>

研究室が主体となったもの：

1. Yoshida T, Endo Y, Obata T, Kosugi Y, Sakamoto K, Sasaki T. Influence of cytidine deaminase on antitumor activity of 2'-deoxycytidine analogues in vitro and in vivo. *Drug Metab Dispos.* 2010 Oct;38(10):1814-9. 2010 Jun 29.

共同研究：

2. Yonemura Y, Endou Y, Sasaki T, Hirano M, Mizumoto A, Matsuda T, Takao N, Ichinose M, Miura M, Li Y. Surgical treatment for peritoneal carcinomatosis from gastric cancer. *Eur J Surg Oncol.* 2010 Dec;36(12):1131-8.
3. Gustavsson H, Tesan T, Jennbacken K, Kuno K, Damberg J-E, Welen K.: ADAMTS1 alters blood vessel morphology and TSP levels in LNCaP and LNCaP-19 prostate tumors. *BMC Cancer* 10, 288 (2010).

<総説および著書>

1. 米村豊、遠藤良夫、三浦真弘：腹膜播種転移形成の分子機構。“新編 スキルス胃癌 - 基礎と臨床 - ” 改訂版、曾和融生、井藤久雄編、医薬ジャーナル、PP158-175 (2010年3月) .

<学会発表>

1. 黒木和之、石川隆：Retinoid-related orphan receptor α (ROR α)によるB型肝炎ウイルス遺伝子発現の抑制 第58回日本ウイルス学会学術集会 2010年11月 (徳島、あわぎんホール)
2. Yuichiro Hagiya, Yoshio Endo, Shun-ichiro Ogura: Tumor specific porphyrin accumulation after administration of 5-aminolevulinic acid 第69回日本癌学会学術総会 2010年9月 (大阪、大阪国際会議場)
3. Yoshio Endo, Shun-ichiro Ogura, Yuichiro Hagiya, Yutaka Yonemura, Masahiro Ishizuka, Katsushi Inoue, Kiwamu Takahashi, Motowo Nakajima: Role of membrane transporters in determining ALA-PDT sensitivity in human cancer cells 第69回日本癌学会学術総会 2010年9月 (大阪、大阪国際会議場)
4. Ayako Kitano, Takeo Shimasaki, Yuri Chikano, Mitsutoshi Nakada, Tomomi Higashi, Yasuhito Ishigaki, Yoshio Endo, Yoshimichi Sai, Ken-ichi Miyamoto, Yoshiharu Motoo, Kazuyuki Kawakami, Toshinari Minamoto: Pathological role for deregulated glycogen synthase kinase (GSK) 3beta in pancreatic cancer proliferation and invasion 第69回日本癌学会学術総会 2010年9月 (大阪、大阪国際会議場)
5. Yutaka Yonemura, Masahiro Miura, Yoshio Endou: A new concept of the formation of peritoneal dissemination and new strategy to control peritoneal metastasis. 第69回日本癌学会学術総会 2010年9月 (大阪、大阪国際会議場)
6. Lei Teng, Mitsutoshi Nakada, Shi-Guang Zhao, Yoshio Endo, Natsuki Furuyama, Ilya V. Pyko, Yutaka Hayashi, and Jun-Ichiro Hamada: Enhanced quality of 5-aminolevulinic acid molecular imaging by targeting ferrochelatase 第11回日本分子脳神経外科学会 2010年8月27日(金)・28日(土) (仙台・良陵会館記念ホール)
7. 萩谷祐一郎、遠藤良夫、小倉俊一郎、大倉一郎：アミノレブリン酸投与における腫瘍特異的ポルフィリン蓄積機構の解明 第37回ポルフィリン研究会学術総会 2010年4月17日(土) (横浜、東京工業大学すずかけホール)
8. 宇都義浩、安部千秋、中江 崇、村井絵美、遠藤良夫、富永正英、前澤 博、中田栄司、堀 均：腫瘍移植鶏卵モデルによる糖ハイブリッド放射線増感剤の *in vivo* 放射線増感活性の評価 第16回増感研究会 2010年6月19日(土) (岐阜、県民文化ホール未来会館)

9. 宇都義浩、安部千秋、吉富 徹、長崎幸夫、遠藤良夫、中田栄司、堀 均：障害による鶏胎児の致死毒性に対するラジカル含有ナノ粒子 TEMPO-RNP の防護効果 第 63 回日本酸化ストレス学会学術集会 2010 年 6 月 24 日(木)-25 日(金) (横浜、神奈川県民ホール)
10. 吉田、孝寛、遠藤良夫、小幡徹、佐々木琢磨：2' -デオキシシチジン誘導体耐性がん細胞株におけるシチジンデアミナーゼ分泌の亢進 日本薬学会第 130 年会 2010 年 3 月 (岡山、岡山県桃太郎アリーナ)
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低下 第 32 回日本分子生物学会年会 2010 年 12 月 (神戸)
12. 天野重豊：ホヤ血球の貪食能について 第 81 回日本動物学会大会 2010 年 9 月 (東京)

<外部資金>

1. 科学研究費補助金 (挑戦的萌芽研究) B型肝炎ウイルス感染の分子機構 代表：黒木和之 (1,000 千円)
2. 産学官連携共同研究 1 件および寄付金 1 件：遠藤良夫

<学内外との共同研究>

1. 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、SBI アラプロモ、NPO 腹膜播種治療支援機構) (遠藤良夫)
2. 受精鶏卵を用いる放射線増感剤感受性試験の確立 (徳島大・ソシオテクノサイエンス研究部) (遠藤良夫)
3. 抗腫瘍性核酸代謝拮抗剤に対する感受性規定因子の同定 (愛知学院大・薬) (遠藤良夫)
4. 脳腫瘍における 5-ALA-PDT の感受性規定因子 (金沢大・医・脳外)
腫瘍における glycogen synthase kinase (GSK) 3 β の脱制御の意義 (金沢大・がん研・腫瘍制御) (遠藤良夫)