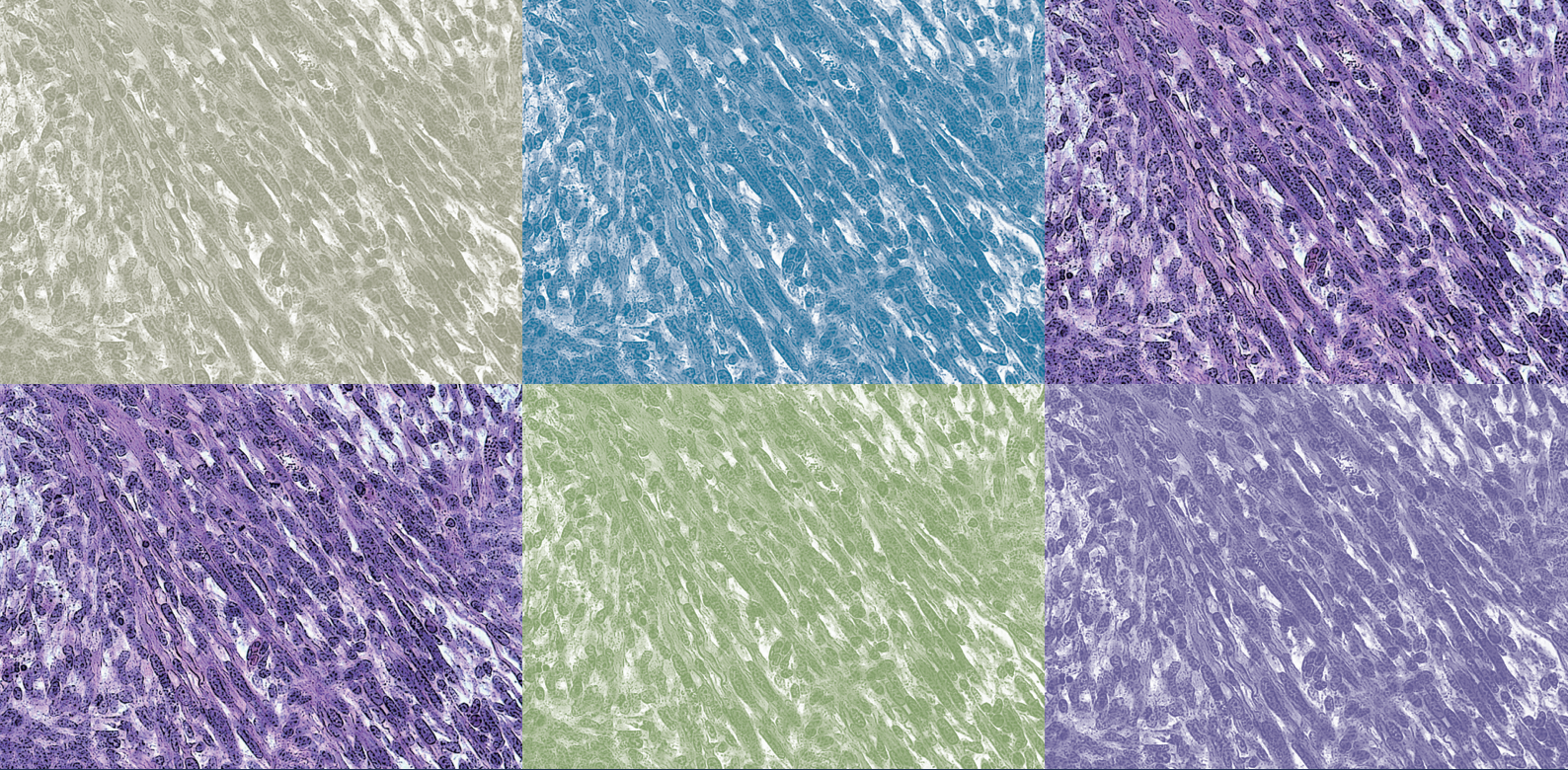




Annual report of the Cancer Research Institute of Kanazawa University



金沢大学がん進展制御研究所 年報 2012年

巻頭言

本研究所の前身である金沢大学がん研究所は、昭和 47 年に設立されました。設立以来今日までに、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、がん幹細胞の分子基盤の解明、分子標的薬の耐性機構の解明など、基礎研究のみならず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。

これらの成果を踏まえるとともに、がん研究の成果を診断・治療法の開発に結びつける努力を一層強く求めている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ています。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、「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平成 22 年度改組いたしました。さらに、21 年度末の基礎部門の研究棟の新築移転を契機に、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・薬剤ライブラリースクリーニングユニット・前臨床実験施設・臨床治験施設を拡充・整備いたしました。以上の取り組みを評価され、「がんの転移・薬剤耐性に関する先導的共同研究拠点」として全国共同利用・共同研究拠点として認定され、平成 23 年度より拠点としての活動を開始しています。さらに、この認定を契機に、研究所全体としての使命を一層明確にするために、研究所の名称を「がん進展制御研究所」へと 23 年度変更いたしました。

研究機関のネットワーク形成の一環として、全国 9 つの医系の国立大学附置研究所による「研究所ネットワークシンポジウム」を平成 17 年度から行っています。23 年度以降には富山大学和漢医薬学総合研究所、北海道大学遺伝子病制御研究所とのジョイントセミナーの定期開催、また国際的には中国復旦大学上海がんセンターとの部局間協定によるジョイントセミナーを行なっています。また、平成 25 年には新たに韓国ソウル大学がん研究所との部局間協定の締結および研究交流を開始します。

研究所の研究水準を高く保ちながら、国内外の優れた研究機関とのネットワーク形成を推進することで、がん進展制御研究の国際的研究拠点となるべく、教職員一丸となって鋭意努力しているところです。このような取り組みの一端を、本年度の金沢大学がん進展制御研究所年報からご理解いただければ幸いに存じます。

金沢大学がん進展制御研究所長 大島正伸

金沢大学がん進展制御研究所年報 2012年

目 次

巻頭言

研究概要と研究業績

がん幹細胞研究プログラム

遺伝子・染色体構築研究分野	2
腫瘍遺伝学研究分野	8
腫瘍分子生物学研究分野	14
がん幹細胞探索プロジェクト	19

がん微小環境研究プログラム

細胞機能統御研究分野	26
分子生体応答研究分野	29
免疫炎症制御研究分野	34
腫瘍動態制御研究分野	38

がん分子標的探索プログラム

ゲノム分子病態研究分野	44
シグナル伝達研究分野	47
腫瘍制御研究分野	51
機能ゲノミクス研究分野	59

がん分子標的医療開発プログラム

腫瘍内科研究分野	64
----------	----

中央実験施設	78
--------	----

基礎統計・教育活動	83
-----------	----

各種シンポジウム開催状況	85
--------------	----

がん幹細胞研究プログラム

遺伝子・染色体構築研究分野

<研究スタッフ>

教 授 平尾 敦

助 教 田所 優子

助 教 星居 孝之

助 教 大田 久美子

日本学術振興会特別研究員 大塩貴子

大学院（博士課程）上間 徳之

大学院（博士課程）田中 慎吾

大学院（博士課程）Mohamed Ali

大学院（博士課程）山田 大祐

大学院（博士課程）笠田 篤郎

研究生 Mohamed Hegazy

技能補佐員 竹上 美也子

技術補佐員 田村 恭子

技術補佐員 澤 和恵

【研究概要】

当研究室では、①幹細胞自己複製および分化制御メカニズムを理解すること、②幹細胞制御という観点から、がんの発生や動態制御メカニズムを理解することを目指して研究を進めている。これらの知見に基づいて③新規がん治療法の開発を模索している。具体的な研究対象は以下の通りである。

<2012 年の研究成果、進行状況と今後の計画>

1) 栄養環境シグナルによる幹細胞制御の理解

我々は、「栄養環境変化による幹細胞未分化形質の維持・獲得分子メカニズム」の解明を課題として研究を進めている。mTOR は、インスリンなどの成長因子や各種栄養エネルギーシグナルの中心に位置し、蛋白翻訳や細胞内代謝を司るキナーゼである。近年、栄養飢餓（あるいは mTOR 複合体 1 抑制）は個体寿命の延長効果とともに幹細胞機能の亢進を促すことが示され、本シグナルの調節は幹細胞寿命制御に深く関与していると考えられる。本年は、がん細胞における mTOR 複合体 1 の役割を明らかにするため、白血病モデル(急性骨髄性白血病)において、薬剤誘導的に Raptor を欠損させ観察を行った。Raptor 欠損により mTOR 複合体 1 の活性が抑制された状態では、白血病細胞全体としてはその増殖、生存が著しく障害され、個体レベルでの白血病の発症は顕著に抑制されていた。しかし、白血病の中でも mTOR 複合体 1 に依存しているのは比較的分化傾向にある集団であり、未分化集団への影響は限定的であるという結果が得られた。興味深いことに、これまでに実験的に検証されている Leukemia-initiating cell (LIC：一般的には白血病幹細胞と呼ばれる)集団は、Raptor が欠損しても長期的に生存できること、そこに Raptor 遺伝子を再導入すると、野生型と同様の白血病病態

に戻れることを観察した。つまり、治療という観点からは、mTOR 複合体 1 を阻害した場合、白血病全体としては治療効果が見られるが、白血病幹細胞は残存し、再び mTOR 複合体 1 の活性を獲得すると再発する可能性を示すものであった(*J Clin Invest.*, 2012)。また、mTOR 複合体 1 失活という状態において、白血病細胞において適応反応が起こり、幹細胞としての形質が獲得される可能性があり、現在、遺伝子・蛋白発現解析、メタボローム解析を通して、白血病幹細胞の生存メカニズムの解明に取り組んでいる。同様に、脳腫瘍モデルにおいて、mTOR 複合体 1 の活性は、その発症と悪性形質獲得の双方で重要な役割を果たしていることも判明した。現在、mTOR 複合体 2 や、その他、栄養環境シグナルとして AMPK, LKB, Rheb, FOXO, オートファジーなどとの関連を解析している。これら一連の mTOR を中心としたシグナル解析を通じて、「幹細胞と栄養環境」の本態を理解すること、さらに、がん治療戦略上重要な分子標的の特定を目標に研究を進めている。

2) がん組織内未分化細胞集団の可視化プロジェクト

核小体蛋白である Nucleostemin は、様々な未分化細胞で高発現し、また iPS 化を誘導するリプログラミング因子としての機能も有する。我々は、以前より各種幹細胞や悪性腫瘍における本分子の発現・機能解析に取り組んできた。本年は、肝再生における解析を進め、肝切除時の肝細胞再生に加え、重度肝障害時に見られる肝細胞および胆管系の双方向へ分化能をもつ oval cell での発現を認め、肝再生での多様な役割を見出した (*Stem Cells Develop*, 2012)。また、本分子を指標に精巣胚性腫瘍での未分化細胞の可視化に成功し、ヒト病理組織解析や遺伝子欠損表現型解析から、本分子が未分化形質維持に必須の役割を果たしていることを明らかにした(投稿中)。一方、白血病モデルでは tumor-initiating 能とは別に、ニッチ依存的な腫瘍細胞の不均一性を分類する指標としての有用性も明らかになりつつあり、現在、治療抵抗性との関連も含め検討している。

3) がん治療耐性克服を目標とした創薬プロジェクト

上記の一連の研究の中で、栄養飢餓により活性化する幹細胞制御因子 FOXO が、慢性骨髄性白血病幹細胞の特効薬チロシンキナーゼ阻害剤に対する治療抵抗性解除の鍵分子であることを明らかにしてきた。また、最近、本分子の活性化は、急性骨髄性白血病の分化抑制(未分化形質の維持)や大腸がんの転移能獲得に重要な役割を果たしていることが明らかとなり、広く悪性進展制御機構に関わること、さらに治療標的シグナルとして重要であることが判明した。そこで、本年は、FOXO の活性を指標とした化合物の大規模スクリーニングシステム(HTS)の構築に取り組んだ。東大創薬オープンイノベーションから化合物の提供を受け、スクリーニングを実施した結果、本システムは、白血病分化を誘導する化合物の特定や新たな分子標的の探索に有用であることが判明した。今後、更なる探索を行い、治療抵抗性解除を目指した新規治療法の開発に取り組む(文部科学省次世代がん研究戦略推進プロジェクト)。

【 研 究 業 績 】

< 発表論文 >

原著論文

(研究室主体)

1. Hoshii T, Tadokoro Y, Naka K, Ooshio T, Muraguchi T, Sugiyama N, Soga T, Araki K, Yamamura K, Hirao A. mTORC1 is essential for leukemia propagation but not stem cell self-renewal. *J Clin Invest*. 122:2114-29, 2012.
2. Shugo H, Ooshio T, Naito M, Naka K, Hoshii T, Tadokoro Y, Muraguchi T, Tamase A, Uema N, Yamashita T, Nakamoto Y, Suda T, Kaneko S, Hirao A. Nucleostemin in injury-induced liver regeneration. *Stem Cells Dev*. 21:3044-54, 2012

(共同研究)

3. Takeishi S, Matsumoto A, Onoyama I, Naka K, Hirao A, Nakayama KI. Ablation of Fbxw7 eliminates leukemia-initiating cells by preventing quiescence. *Cancer Cell* in press
4. Takubo K, Nagamatsu G, Kobayashi CI, Nakamura-Ishizu A, Kobayashi H, Ikeda E, Goda N, Johnson RS, Rahimi Y, Soga T, Hirao A, Suematsu M, Suda T. Regulation of glycolysis by Pdk functions as a metabolic checkpoint for cell cycle quiescence in hematopoietic stem cells. *Cell Stem Cell* in press.
5. Liu HX, et. al. (Hirao A, 32 人中 21 番目) Displays of paternal mouse pup retrieval following communicative interaction with maternal mates. *Nat Commun*. in press
6. Kurebayashi Y, Nagai S, Ikejiri A, Ohtani M, Ichiyama K, Baba Y, Yamada T, Egami S, Hoshii T, Hirao A, Matsuda S, Koyasu S. PI3K-Akt-mTORC1-S6K1/2 axis controls Th17 differentiation by regulating Gfi1 expression and nuclear translocation of ROR γ . *Cell Rep*. 1:360-73, 2012.
7. Ohtani M, Hoshii T, Fujii H, Koyasu S, Hirao A, Matsuda S. mTORC1 in intestinal CD11c⁺ CD11b⁺ dendritic cells regulates intestinal homeostasis by promoting IL-10 production. *J Immunol*. 188:4736-40, 2012
8. Jin R, Nakada M, Teng L, Furuta T, Sabit H, Hayashi Y, Demuth T, Hirao A, Sato H, Zhao G, Hamada JI. Combination therapy using Notch and Akt inhibitors is effective for suppressing invasion but not proliferation in glioma cells. *Neurosci. Lett*. in press

総説

1. 平尾 敦 : 発癌シグナルパラドックス:PI3K-AKT 関連シグナルと白血病幹細胞細胞工学 31: 42-47, 2012
2. 平尾 敦 : mTOR による幹細胞制御 細胞工学 31: 1325-29, 2012
3. 平尾 敦 : 幹細胞とがんの接点 実験医学増刊号 30:1537-43, 2012
4. 平尾 敦 : がんの治療における mTOR/FOXO 実験医学増刊号 30:2488-93, 2012

5. 平尾 敦：分子標的薬剤PI3K-AKT-mTOR 日本臨床 70:57-62, 2011
6. 平尾 敦：幹細胞と代謝 Bio Clinica27:630-34,2012
7. 平尾 敦：白血病幹細胞研究の歩みと今後の展望 臨床血液 53:1814-18, 2012
8. 平尾 敦：幹細胞の生存戦略と低酸素・代謝応答 細胞44:389-92,2012

著書

平尾 敦：再生医療叢書 第一巻 幹細胞（山中伸弥，中内啓光編）がんの起源と幹細胞分化 朝倉書店 2012

<学会発表>

1. Hirao A: Roles of PI3K-AKT-mTOR signaling in the maintenance of stem cell properties in normal hematopoiesis and leukemia. 第10回幹細胞シンポジウム平成24年5月30日，淡路島
2. Hirao A: Roles of PI3K-AKT-mTOR signaling in the maintenance of stem cell properties in normal hematopoiesis and leukemia, The Joint Symposium of the 7th International Symposium of the Institute Network, Jun. 15, 2012, Miyagi
3. 平尾 敦：幹細胞のストレス応答とがん 第2回横断的腫瘍フォーラム平成24年6月18日，大阪
4. 平尾 敦：栄養センサーシグナルとがん幹細胞，第71回日本癌学会学術総会 平成24年9月20日，東京
5. Hirao A: The nutrient sensing signaling pathways in the hematopoietic stem cells and leukemia. New Frontiers of Metabolism Research in Biomedical Sciences Sep. 28th, 2012, Tokyo
6. 平尾 敦：教育講演 白血病幹細胞研究の歩みと今後の展望 第74回日本血液学会学術総会 平成24年10月20日，京都
7. Hirao A：The nutrient sensing signaling pathways in cancer，新学術領域「癌幹細胞」班会議，平成24年11月30日，福岡
8. 平尾 敦：The nutrient sensing signaling pathways in cancer 第35回日本分子生物学会年会 平成24年12月11日，福岡
9. Tadokoro Y, Hirao A, Hoshii T, Naka K, Eto K, Ema H, Yamazaki S, Yoshimura A, Nakauchi H: “A competitive advantage of hematopoietic stem cells in the bone marrow microenvironment controlled by Spred-1” The 10th Stem Cell Research Symposium, May 31- June 2, 2012, Awaji-island.
10. Tadokoro Y, Hirao A, Hoshii T, Naka K, Eto K, Ema H, Yamazaki S, Yoshimura A, Nakauchi H: “A competitive advantage of hematopoietic stem cells in the bone marrow controlled by Spred-1” 第74回日本血液学会学術総会 平成24年10月19-21日，京都
11. 星居孝之：mTORC1 シグナルによる造血細胞の増殖・分化制御，平成24年6月5-7日，新学術領域研究「細胞運命制御」，広島

12. Hoshii T, Tadokoro Y, Naka K, Ooshi T, Muraguchi T, Sugiyama N, Soga T, Araki K, Yamamura K, Hirao A: Acute myeloid leukemia stem cells lacking Raptor self-renew but have defective leukemia initiating capacity in mice, International Society for Stem Cell Research (ISSCR) 10th Annual Meeting, Jun 13-16, 2012, Kanagawa
13. 星居孝之, 仲一仁, 村口輝行, 曾我朋義, 荒木喜美, 山村研一, 平尾敦: Acute myeloid leukemia stem cells lacking mTORC1 self-renew but have defective leukemia-initiating capacity in mice. 平成 24 年 9 月 19-21 日, 第 71 回日本癌学会学術総会, 北海道
14. 星居孝之, 田所優子, 仲一仁, 大塩貴子, 村口輝之, 杉山直幸, 曾我朋義, 荒木喜美, 山村研一, 平尾敦: AML stem cells lacking mTORC1 self-renew but have defective leukemia-initiating capacity in mice. 平成 24 年 10 月 19-21 日, 第 74 回日本血液学会学術集会, 京都府
15. Hoshii T, Hirao A: Analysis of survival signals in mTORC1-deficient acute myeloid leukemia stem cells. 平成 24 年 11 月 6-7 日, International symposium on genetic and epigenetic control of cell fate, 京都
16. Ohta K, Okabe T, Hirao A: Identification of molecules regulating differentiation blockade of leukemia stem cells by monitoring FOXO3a activity, New Frontiers of Metabolism Research in Biomedical Sciences Sep. 27-28th, 2012, Tokyo
17. Uema N, Ooshio T, Harada K, Nakanuma Y, Okuda A, Hirao A: Essential role of Nucleostemin in the maintenance of malignant phenotypes in germ cell tumors. 平成 24 年 9 月 19-21 日, 第 71 回日本癌学会学術総会, 北海道
18. 山田大祐, 星居孝之, 田中慎吾, 平尾敦: Roles of mTORC1 signaling in the regulation of glioma malignancy 第 35 回日本分子生物学会年会 平成 24 年 12 月 12 日, 福岡

<外部資金>

1. 平尾敦: 基盤研究 (A) 「がんの幹細胞特性を支える栄養シグナル制御機構の解明」 13,100千円
2. 平尾敦: 新学術領域研究癌幹細胞「がん幹細胞性獲得・維持機構とニッチシグナルのクロストーク」 7,100千円
3. 平尾敦: 次世代がん研究戦略推進プロジェクト「幹細胞ストレス応答シグナル制御によるがん根治療法の開発」 35,000千円
4. 星居孝之: 若手研究 (B) 「mTOR 複合体 1 による白血病幹細胞自己複製維持メカニズムの解明」 1,600 千円
5. 星居孝之: 新学術領域「細胞運命制御」 「mTOR 複合体 1 を介した細胞分化制御機構の解明」 1,700 千円
6. 田所 優子: 若手研究(B) 「細胞内ATP調節による造血幹細胞制御機構の解明」 1,500千円
7. 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」 900千円

＜共同研究＞

学内

1. 脳腫瘍幹細胞解析：脳神経外科 中田光俊，浜田潤一郎
2. 精巣胚性腫瘍解析：形態機能病理学 原田憲一，中沼安二
3. 肝再生・肝がん解析：恒常性制御学 山下太郎，金子周一

学外

4. 白血病幹細胞の解析：九州大学生体防御医学研究所 中山敬一
5. 肝再生・肝がん解析：東京大学分子細胞生物学的研究所 宮島篤
6. mTORの免疫細胞における機能解析：
 関西医科大学生命医学研究所 松田達志
 慶應義塾大学医学部 小安重夫
7. 白血病幹細胞の代謝解析：慶應義塾大学医学部 田久保圭誉
8. 脳腫瘍幹細胞解析：東京大学医科学研究所先端医療研究センター 藤堂具紀
9. 脳腫瘍幹細胞解析：米国オハイオ州立大学 中野伊知郎
10. 網羅的代謝産物・リン酸化プロテオミクス解析：
 慶應義塾大学先端生命科学研究所 杉山直之，池田和貴，曾我朋義
11. 化合物探索：東京大学創薬オープンイノベーションセンター 岡部隆義
12. 天然物探索：産業技術総合研究所 新家一男

腫瘍遺伝学研究分野

<研究スタッフ>

教 授 大島 正伸

助 教 石川 智夫

助 教 大島 浩子

特任助手 直井 国子

大学院生（博士課程）鞠 小麗

大学院生（博士課程）前田 祐介（特別研究学生）

技能補佐員 渡邊 真奈美

技術補佐員 津田 理子

【研究概要】

胃がんや大腸がんの発生・悪性化進展過程には、慢性炎症反応が関与していると考えられている。当研究室では、炎症反応依存的に胃がんを自然発生するマウスモデル（*Gan* マウス）を用いた研究により、「がん組織における炎症の誘導・遷延化機構」，「慢性炎症による発がん促進機構」，そして「慢性炎症による悪性化誘導機構」に着目した研究を総合的に展開している。これらの研究により，炎症の遷延化がなぜ発がん・悪性化に至るのかを分子レベルで明らかにし，将来的には慢性炎症の制御によるがんの制御を追求することを目指している。2012年はこれまで継続している，下記項目（1）および（2）の研究を発展させ，悪性化進展に着目した項目（3）の研究を新規に開始した。

<2012年の研究成果，進捗状況>

（1）炎症発がんにおける TNF- α の関与の解析

Helicobacter pylori 感染に起因する慢性炎症反応は，胃がん発生の重要な危険因子として知られており，IL-1 β や TNF- α 遺伝子の polymorphism が胃がん発生の感受性に関与する事が報告されている（El-Omar et al, *Gastroenterology*, 2003）。しかし，これまでに胃がん発生におけるサイトカインの作用について遺伝学的な解析はなされていない。そこで，*Gan* マウスと，TNF- α 遺伝子（*Tnf*）欠損マウスとの交配実験を実施した。重要な事に *Tnf*^{-/-} *Gan* マウスでは微小前がん病変は *Tnf*^{+/+} マウスと同様に発生したが，胃がんの発生は顕著に抑制された。すなわち，TNF- α は発がんのイニシエーションには関与せず，プロモーションを促進すると考えられた。さらに，マイクロアレイ解析により TNF- α 依存的に発がん促進に作用する遺伝子群の絞り込みを行ない，候補遺伝子群の中から siRNA によるスクリーニングを行なった結果，胃がん細胞の腫瘍原性に必要な2遺伝子を特定した。これらの遺伝子産物は，幹細胞性を反映する *in vitro* に

における sphere 形成能にも関与していた。したがって、未分化性維持に関与する因子が TNF- α 依存的に腫瘍細胞中で発現し、発がんを促進すると考えられた（投稿中）。

（２）炎症により発現抑制される「がん抑制 microRNA」の解析

microRNA (miRNA) は約 20 塩基の単鎖 RNA であり、特定の mRNA の翻訳阻害により遺伝子発現を制御する。がん遺伝子やがん抑制遺伝子を標的とする miRNA は、それぞれがん抑制またはがん促進に作用する。*Gan* マウスにおける microRNA 発現を網羅的に解析した結果、炎症反応依存的に oncogenic microRNA (miR-21, miR-155 など) の発現が上昇し、逆にがん抑制性 microRNA (miR-7, miR-145 など) の発現が低下した。さらにヒト胃がん組織でも、炎症依存的に miR-7 発現が抑制されており、miR-7 は胃がん細胞の腫瘍原性を抑制することを明らかにした。以上の結果から、がん抑制に作用する miR-7 発現は炎症反応により低下し、それが発がん促進に関与すると考えられた (Kong et al., *Oncogene*, 2012)。

（３）がん細胞浸潤による炎症反応の役割

大腸がんの多段階発がんにおいては、APC 遺伝子変異による Wnt 活性化により良性腫瘍 (adenoma) が発生し、さらに Smad4 変異による TGF- β シグナル遮断により浸潤性の悪性化腫瘍 (adenocarcinoma) が発生する事が示されている。そこで Wnt 活性化、TGF- β 遮断の複合モデルマウスを用いた解析を進めた結果、Wnt/TGF- β が関与する悪性化進展過程にも慢性炎症反応が重要に関与する可能性を示す結果が得られた。本年は、慢性炎症依存的に浸潤がんを発生するマウスモデル系の確立に取り組んだ。また、このモデルでは、がん細胞が炎症反応を誘導している可能性が認められ、今後がんによる炎症誘導・遷延化研究のモデルとしても期待している。

<今後の計画>

これまでの研究では、*Gan* マウスを用いて「慢性炎症による発がん促進機構」を重要な柱として推進した。それにより特定された TNF 依存的因子の発がん誘導機構について、今後は遺伝学的な解析を進めて、阻害薬による治療実験（発がん予防実験）を始める。一方、消化器がんによる死亡例のほとんどは転移・再発が原因である。そこで、本年から、がん悪性化における炎症の役割について理解することを目的として「慢性炎症による悪性化誘導機構」、および「がん組織における炎症の誘導・遷延化機構」を重要な課題として研究を始めた。CREST 研究領域「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」の新規研究課題においては、以上の 3 つの項目を中心にした研究の展開を計画している。今後、本年に確立した炎症依存的浸潤がん発生モデルを用いた解析を進めて、さらに宿主反応依存的に再発を誘導する新規モデル

系の開発を進める。これらの研究をチーム力を結集して推進し、消化器がんの発生・転移・再発における慢性炎症反応の役割を、分子レベルで解明することを目指す。

【研究業績】

<発表論文>

(腫瘍遺伝学研究分野主体)

1. Kong D, Piao YS, Yamashita S, Oshima H, Oguma K, Fushida S, Fujimura T, Minamoto T, Seno H, Yamada Y, Satou K, Ushijima T, Ishikawa T, and Oshima M. Inflammation-induced repression of tumor suppressor miR-7 in gastric tumor cells. *Oncogene* 31: 3949-3960, 2012.
2. Oshima H, and Oshima M. The role of prostaglandin E₂-associated inflammatory responses in gastric cancer development. *Semin Immunopathol* 2012 Oct 11. [Epub ahead of print] (Review)
3. Oshima H, and Oshima M. The inflammatory network in the gastrointestinal tumor microenvironment: Lessons from mouse models. *J Gastroenterol* 47: 97-106, 2012. (Review)

(共同研究)

1. Tye H, Kennedy CL, Najdovska M, McLeod L, McCormack W, Hughes N, Dev A, Sievert W, Ooi CH, Ishikawa T, Oshima H, Bhathal PS, Parker AE, Oshima M, Tan P, and Jenkins B. STAT3-driven upregulation of TLR2 promotes gastric tumorigenesis independent of tumor inflammation. *Cancer Cell*, 22: 466-478, 2012.
2. McCormack W, Oshima M, Tan P, and Jenkins B. Toll-like receptor 2: therapeutic target for gastric carcinogenesis. *Oncotarget* 3: 1260-1261, 2012.
3. Fujita H, Hamazaki Y, Noda Y, Oshima M, and Minato N. Claudin-4 deficiency results in urothelial hyperplasia and lethal hydronephrosis. *PLos One*, 2012, in press.

(日本語総説・著書)

1. 大島 正伸：発がんにおける腫瘍随伴マクロファージの役割. 細胞工学 (秀潤社), 31: 1237-1241, 2012.
2. 大島 正伸：がんモデルマウス・ラットライブラリ第1回「胃がんモデル」. 細胞工学 (秀潤社), 31: 942-946, 2012.
3. 大島 正伸：腫瘍性疾患 1) 胃がん発生の分子機序解明と創薬研究を目的としたマウ

スモデルの開発. 遺伝子医学 MOOK (メディカルドゥ), 22: 236-241, 2012.

4. 大島 正伸: 消化管(胃・腸管). 疾患モデルマウス表現型解析指南(中山書店), 175-180, 2012.

<学会発表>

(国際学会・国際シンポジウム) (*発表者)

1. Oshima M. Inflammatory responses in mouse gastric tumorigenesis. *2nd International Symposium on Carcinogenic Spiral* (京都) 2012 年 1 月 17 日
2. Oshima H, Ishikawa T, and Oshima M*. The role of TNF- α in PGE₂-induced tumorigenesis in gastric cancer mouse model. *103th AACR Annual Meeting* (米国シカゴ) 2012 年 4 月
3. Oshima M. Gastric cancer model by Wnt activation and inflammation. *The 10th Stem Cell Research Symposium* (淡路島) 2012 年 6 月 1 日
4. Oshima M. SPEM and early changes in gastric cancer. *5th Annual Scientific Meeting of Singapore Gastric Cancer Consortium (SGCC)* (シンガポール) 2012 年 7 月
5. Oshima M. Inflammation and TNF signaling in promotion of gastric tumorigenesis. *2012 International Symposium, Tumor Microenvironment Global Core Research Center, Seoul National Univ.* (韓国ソウル) 2012 年 8 月 23 日
6. Oshima M. Inflammatory responses that accelerate gastric tumorigenesis. *2012 Annual Meeting of Korean Society of Molecular and Cellular Biology* (韓国ソウル) 2012 年 10 月 10 日

(国内学会・全国集会)

1. 大島 正伸. 炎症性微小環境の形成と消化管発がん. 第 3 次対がん 10 か年総合戦略・文科省がん支援活動 合同公開シンポジウム (東京) 2012 年 1 月 23 日
2. 大島 正伸. 胃がんにおける炎症の誘導と活性化の役割. 第 49 回日本臨床分子医学会学術総会 (京都) 2012 年 4 月 13 日
3. 大島 正伸. 炎症反応による消化器発がん促進機構の研究. 文部科学省新学術領域 生命科学系 3 分野支援活動合同シンポジウム (東京) 2012 年 7 月 6 日
4. Oshima M. Recent progress in tumor microenvironment. 第 16 回日本がん免疫学会総会 (札幌) 2012 年 7 月
5. Oshima M. The role of inflammatory responses in gastric cancer development. 第 71 回日本癌学会学術総会 (JCA-Mauvernay Award lecture) 2012 年 9 月 20 日
6. Oshima M. Infection and inflammatory responses in mouse gastric tumorigenesis. 第 71 回日本癌学会学術総会 (International Session: Inflammation and Cancer) 2012 年 9 月 20 日
7. Oshima H*, Yoshida GJ, Ishikawa T, Saya H, Oshima M. The role of inflammatory cytokine TNF in CD44 expression-associated mouse gastric tumorigenesis. 第 71 回日本癌学会学術総会 2012 年 9 月 19 日

8. Ishikawa T*, Oshima M. Effects of inflammation on the epithelial differentiation and tumorigenesis. 第 71 回日本癌学会学術総会 2012 年 9 月 20 日

<その他>

1. 文科省新学術領域「がん支援」主催，金沢大学がん進展制御研究所共催による高校生を対象としたがん研究シンポジウム「がん研究の現在・未来-Stand Up To Cancer」を開催（11 月 17 日：金沢歌劇座，石川県下高校生約 260 名参加）。開催報告書は「がん支援」HP (<http://ganshien.umin.jp/public/course/20121117.html>)，および金沢大がん研 HP (<http://www.kanazawa-u.ac.jp/~ganken/file/20121117e.pdf>) に掲載。
2. 文科省新学術領域「がん支援」主催による日韓がんワークショップを開催（12 月 1 日：韓国釜山 Westin Hotel，韓国側 20 名，日本側 16 名参加）。報告書は「がん支援」HP (<http://ganshien.umin.jp/seminar/workshop/japanese-korea/report/20121210.html>) に掲載。

<外部資金>

1. 戦略的創造研究推進事業（CREST）[研究代表者：大島 正伸]
「消化器がんの発生・進展過程における慢性炎症の誘導と役割の解明」 33,000 千円
2. 新学術領域研究 [研究代表者：大島 正伸, 研究分担者：大島 浩子, 石川 智夫]
「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」 20,500 千円
3. 基盤研究（B）[研究代表者：大島 正伸]
「炎症性微小環境の誘導機序および腫瘍免疫制御機序の研究」 5,600 千円
4. 基盤研究（C）[研究代表者 石川 智夫]
「炎症による上皮細胞分化制御の二面性と腫瘍形成機構への関与」 1,600 千円
5. 基盤研究（C）[研究代表者 大島 浩子]
「SOX17 の発現変化による Wnt 活性制御が消化管腫瘍悪性化に及ぼす影響」 1,000 千円
6. 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]
「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：筆宝 義隆）」 4,000 千円
7. 武田科学振興財団 生命科学研究助成 [研究代表者：大島 正伸]
「宿主反応によるがん悪性化進展機構の研究」 10,000 千円
8. 北國がん基金 研究助成 [研究代表者：大島 浩子]
「胃がん発生促進における炎症性微小環境の研究」 1,000 千円
9. 奨学寄付金（サントリーウエルネス株式会社） 1,000 千円

＜共同研究＞

腫瘍遺伝学研究分野主体で実施した共同研究

1. 慶応義塾大学先端医科学研究所： 佐谷 秀行
「消化器がんにおける CD44 および FOXO3a の研究」
2. 東京大学医学研究科： 谷口 維紹
「炎症発がんにおける IRF-5 自然免疫シグナルの研究」
3. シンガポール国立大学： 伊藤 嘉明
「胃がん発生における Runx3 と Wnt の相互作用の研究」

相手先研究室主体で実施・継続した共同研究

[共同利用・共同研究拠点リソースとして構築した発がんマウス組織バンクから組織標本の提供, またはマウス個体の提供による共同研究を含む]

1. 金沢大学がん進展制御研究所： 須田 貴司／今村 龍
「胃がん組織微小環境における PYNOD の関与」
2. 京都大学医学研究科： 藤田 晴美／湊 長博
「Claudin4 遺伝子欠損マウスの作製と解析」(2012 年論文発表)
3. 京都大学医学研究科： 妹尾 浩
「胃がんにおける Dclk1 陽性がん幹細胞の研究」(2012 年度共同研究課題)
4. 国立がん研究センター研究所： 大木 理恵子
「消化器がん悪性化における p53 の役割」(2011 年度共同研究課題)
5. 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」
6. 東京大学医学研究科： 深山 正久／国田 朱子
「EB ウイルス関連胃がんに関する研究」
7. 東北大学加齢医学研究所： 佐藤 靖史
「胃がん組織における血管新生因子の発現制御と役割」
8. モナシュ大学医学研究所 (オーストラリア)： Brendan Jenkins
「胃がん発生における TLR2/MyD88 の解析」(2012 年論文発表)
9. 延世大学医学部 (韓国)： Kyung-Hee Chun
「胃がん発生における Galectin の作用の研究」
10. 韓国先端科学技術研究所 (KAIST): Suk-Jo Kang
「胃発がんにおけるジェネティク, エピジェネティク, および免疫学的因子の解析」

腫瘍分子生物学研究分野

<研究スタッフ>

教 授 高橋 智聡

助 教 木戸 敬治

博士研究員 北嶋 俊輔

博士研究員 河野 晋

大学院生（博士課程） 村中 勇人

技能補佐員 鈴木 美砂

助 教 Shamma Awad

博士研究員 佐々木 信成

大学院生（博士課程） 吉田 晶代

技能補佐員 永谷 直子

【研究概要】

ヒトがんにおける臨床的エビデンスが豊富ながん遺伝子・がん抑制遺伝子を変異させたマウス・細胞を中心に、シンプルで、分子生物学的・遺伝学的な解析がしやすい *in vivo*・*in vitro* がんモデル系を組み立て、発がん・転移・薬剤耐性・がん幹細胞を克服する突破口となる新規パスウェイを探索する。具体的な取り組みは以下。

1) 数多くの増殖シグナルやエフェクターのアダプター分子となる RB 蛋白質(pRB)の不活性化は、多くのヒトがんの悪性進展過程において観察される。そして、その帰結となる細胞の挙動は、実に様々である。我々は、pRB が、従来知られた細胞周期や細胞分化の制御だけでなく、DNA 損傷応答、DNA メチル化、蛋白質イソプレニル化、脂質・コレステロール代謝、解糖系、ミトコンドリア機能、あるいは、細胞自律的な炎症を制御することによっても、腫瘍原性や悪性度を規定することを見出してきた。これまでに試されていないユニークな背景あるいはコンテキストにおいて pRB の新規機能を探索している。

2) 悪性進展機構の深い理解に基づき、がん幹細胞が示すと想定される様々な挙動の一部を安定的に表現するインビトロがん幹細胞モデル系を組み立て、がんの幹細胞様表現型に関連する遺伝子・分子の探索および新しいがん標的薬の開発に応用する。

<2012 年の研究成果、進捗状況と今後の計画>

1) RB のエピジェネティック機能：pRB-ATM-DNMT1 パスウェイの解明

pRB は、LxCxE モチーフを有するクロマチン修飾因子群と直接に結合することによってエピジェネティック制御に関わると考えられてきたが、その実態と生理的意義は深く理解されていない。我々は、複合変異マウスを用い、pRB の不活性化が HDAC1 を含む DNMT1 複合体の機能をどのように変化させるかを解明した。pRB 不活性化時に、Tip60 によるアセチル化を含む様々な経路によって活性化された ATM のキナーゼドメインと DNMT1 の触媒ドメインが直接に結合することを見いだした。また、この結合が、ATM をスキャフォールドにした Tip60 による DNMT1 のアセチル化、そして、それに続く UHRF1(E3 ligase)の結合とユビキチン化を促進することを見いだした。つま

り、RB と ATM のステータスは、DNMT1 蛋白質安定性をダイナミックに規定する。更に、マイクロアレー解析と DNA メチル化解析を組み合わせ、RB が *Ink4a*, *Noggin*, *Shc2*, *FoxO6* 遺伝子のプロモータ DNA メチル化を ATM 依存的に制御することを見いだした。ヒトがんにおいて、pRB 経路と ATM 経路 (DNA 損傷応答経路) は、そのどちらかあるいは両方がしばしば不活性化する。このことががんゲノムの DNA メチル化異常の一因ではないかと提案している (査読中)。

2) RB のメタボリック機能

我々は、RB のステータスによって細胞周期への影響が現れない遺伝学的背景・実験系において pRB 発現を人為的に変化させることによって、pRB が、SREBP 転写因子群と協調して、メバロン酸経路・脂肪酸生合成経路を特異的に制御することを見いだしていた。一方、本年、Prives らのグループは、変異 p53 が、やはり SREBP に直接に結合し、その転写活性化能を亢進することを報告した。つまり、pRB と p53 は、SREBP を共通の標的とするのだ。pRB と p53 の両不活性化は、細胞のコンテキストによって、褐色脂肪細胞型のメタボタイプへのリプログラム、あるいは、高度に未分化な又はがん幹細胞様の細胞集団を誘導することがわかった。pRB および p53 の不活性化は、体細胞を胚性幹細胞に初期化する際にも、促進的に働く。そして、本年、報告が相次いだのは、核リプログラミングに先行する代謝リプログラミングの役割である。ここにごがん化シグナルと代謝をがん細胞の幹細胞様の挙動に結びつけるチャンスがあると感じたのだ。固型がんのいわゆるがん幹細胞は、組織分化のヒエラルキーのどこに位置するかによって規定されるのではなく、ただ確率的に消長を繰り返す亜集団である、ととらえる考え方も出てきた。pRB の不活性化は、翻訳後修飾異常によるものかなりの割合を占めるために、一口に不活性化といっても、おそらく細胞ごとに様々なレベルがある。このことによって生じる細胞自律的な「代謝の揺らぎ」が腫瘍の不均一性の一因ではないかと考えて研究を進めている。

3) インビトロがん幹細胞モデルの創出と解析

遺伝学的背景が明らかなマウス由来細胞を用いて、pRB あるいは p53 のステータスに忠実に依存しつつ、がん幹細胞様の細胞集団を誘導するモデル系を創出した。これらからがん幹細胞様活性の強い細胞を濃縮し、マイクロアレー解析、トランスクリプトーム解析、メタボローム解析、細胞外フラックス解析、LC-MS/MS 解析等を行った。がん幹細胞様の挙動に連動し、かつ、pRB あるいは p53 の制御を受ける遺伝子や分子を抽出することなどによって、がん幹細胞様の挙動に関わる遺伝子群を特定しつつある。また、データベースを利用し、我々のシンプルモデル系の解析によって得られるデータセットと、例えば細胞表面マーカーによって分離・濃縮されたヒトがん幹細胞のその関連性を GSEA 解析によって検討するなどして、従来の研究によって見過ごされてきたかもしれない、がん幹細胞を特徴付ける因子のデータマイニングを試みて

いる。さらに、治療モデルを基盤に、ハイスループットな薬剤スクリーニング系を構築、有効薬剤の標的とトランスクリプトームのデータを対比することによって、がん幹細胞を特異的な標的とし得る化合物を効率的かつロジカルに探索する系の開発を目指している。

【 研 究 業 績 】

<発表論文>

(研究室主体)

該当なし

(共同研究)

1. Taura M, Suico MA, Koyama K, Komatsu K, Miyakita R, Matsumoto C, Kudo E, Kariya R, Goto H, Kitajima S, Takahashi C, Shuto T, Nakao M, Okada S, Kai H. Rb/E2F1 Regulates the Innate Immune Receptor Toll-Like Receptor 3 in Epithelial Cells. Mol Cell Biol, 32: 1581-1590, 2012.

(著書・総説)

1. Takahashi C, Sasaki N, Kitajima S. Twists in views on RB functions in cellular signaling, metabolism and stem cells. Cancer Sci, 103: 1182-1188, 2012.
2. 高橋 智聡. “第 5 節 細胞周期制御遺伝子 3(Rb)”, 「疾患モデルの作製と利用 が ん」中村 卓郎編集, 200-214 頁, エル・アイ・シー, 2012.

<学会発表>

1. 高橋 智聡, 北嶋 俊輔. がん抑制遺伝子 RB のメタボリック機能による幹細胞性制御 (1) (Control of stem cell activity by the metabolic function of RB tumor suppressor gene (1)) .第 85 回日本生化学会大会 2012 年 12 月 (福岡)
2. 河野 晋, 高橋 智聡. がん抑制遺伝子 RB のメタボリック機能による幹細胞性制御 (2) (Control of stem cell activity by the metabolic function of RB tumor suppressor gene (1)) .第 85 回日本生化学会大会 2012 年 12 月 (福岡)
3. 佐々木 信成, Shamma A, 北嶋 俊輔, 河野 晋, 村中 勇人, 高橋 智聡. RB によるメバロン酸経路の制御とがん幹細胞における役割 (The metabolic function of RB in controlling mevalonate (MVA) pathway and cancer stem cells) . 第 35 回日本分子生物学会年会 2012 年 12 月 (福岡)
4. 高橋 智聡. RB がん抑制遺伝子のメタボリック機能 (The metabolic function of RB tumor suppressor gene) . 第 35 回日本分子生物学会年会 2012 年 12 月 (福岡)
5. 北嶋 俊輔, Shamma A, 高橋 智聡. がん抑制遺伝子 Rb によるがん幹細胞化抑制の分子機構の解明 (Undifferentiated state induced by Rb inactivation associated with

- metabolic reprogramming and inflammation) . 第 35 回日本分子生物学会年会 2012 年 12 月 (福岡)
6. 北嶋 俊輔, 高橋 智聡. がん抑制遺伝子 Rb によるがん幹細胞化抑制の分子機構の解明 (Undifferentiated cancer stem cell-like phenotypes induced by Rb-p53 inactivation) . 第 71 回日本癌学会学術総会 2012 年 9 月 (札幌)
 7. 佐々木 信成, 河野 晋, 村中 勇人, 北嶋 俊輔, 木戸 敬治, Shamma A, 高橋 智聡. RB によるメバロン酸経路の制御とがん幹細胞における役割 (The metabolic function of RB in controlling mevalonate (MVA) pathway and cancer stem cells) . 第 71 回日本癌学会学術総会 2012 年 9 月 (札幌)
 8. Shamma A, Sasaki N, Takahashi C. Epigenetic function of retinoblastoma protein entails functional association of ATM and DNMT1. 第 71 回日本癌学会学術総会 2012 年 9 月 (札幌)
 9. 北嶋 俊輔, 高橋 智聡. がん抑制遺伝子 Rb によるがん幹細胞化抑制の分子機構の解明 (Undifferentiated state induced by pRb inactivation associated with metabolic reprogramming and inflammation) .平成 24 年度がん若手研究者ワークショップ 2012 年 9 月 (蓼科)
 10. Kitajima S, Kohno S, Shamma A, Takahashi C. Undifferentiated cancer stem cell-like phenotypes induced by Rb-p53 inactivation. 研究所ネットワーク国際シンポジウム 2012 年 6 月 (仙台)
 11. Shamma A, Kido Y, Sasaki N, Takahashi C. ATM regulates DNMT1 protein stability and coordinates its acetylation-driven ubiquitination during Rb loss-induced carcinogenesis. Gordon Conference 2012 年 3 月 (California, USA)
 12. Kitajima S, Kido Y, Muranaka H, Sasaki N, Kohno S, Takahashi C. The RB-SREBP nexus where RB meets cell signaling and lipid metabolism. Keystone Symposia 2012 年 2 月 (Banff, Canada)

<外部資金>

1. 高橋 智聡 :
先端研究助成基金 (最先端・次世代研究開発支援プログラム) 40,000 千円
第一三共生命科学研究振興財団 研究助成金 1,000 千円
2. Shamma Awad :
科学研究費補助金 基盤 C 600 千円
3. 北嶋 俊輔 :
科学研究費補助金 若手 B 1,400 千円

<共同研究>

1. 北海道大学 藤田恭之博士「がん幹細胞と非がん幹細胞間の細胞競合」
2. 金沢医科大学 岡崎俊朗博士「Rb 遺伝子欠損マウスでの腺癌発症機構におけるスフィンゴ脂質代謝調節を介した細胞周期制御の解明」

3. 千葉大学 田中知明博士「がん幹細胞制御を目指した癌抑制遺伝子 p53-Rb ネットワークによる細胞内代謝・脂質代謝調節における基盤的研究」
4. 小野薬品工業株式会社筑波研究所 多田秀明, 林昭夫博士「Rb がん抑制遺伝子による脂質代謝制御機構とその臨床的意義の解明」
5. 筑波大学人間総合科学研究科 島野仁, 松坂賢博士「がん幹細胞の脂質代謝における Rb がん抑制遺伝子と SREBP-1 遺伝子」
6. 京都大学大学院農学研究科 河田照雄, 高橋信之, 後藤剛博士「がん幹細胞モデルにおけるミトコンドリア機能測定」
7. 東京大学大学院薬学系研究科 内山聖一, 岡部弘基博士「がん幹細胞モデルにおける細胞内小器官温度分布測定」
8. 東京大学分子細胞生物學研究所 末次志郎博士「Rb と IRSp53 の遺伝学的関係」
9. 金沢大学がん進展制御研究所 山本健一, 林直之, 小林昌彦博士「DNMT1 の翻訳後修飾」
10. Pontificia Universidad Católica de Chile Jaime Gutiérrez 博士「Function of RECK in muscle dystrophy」

がん幹細胞探索プロジェクト

<研究スタッフ>

准教授 仲 一仁

技能補佐員 定免 由枝

技術補佐員 石原 薫理

【研究概要】

慢性骨髄性白血病 (CML) は BCR-ABL を原因遺伝子とする骨髄増殖性疾患である。この BCR-ABL を分子標的とするチロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) の開発によって CML 患者の治療成績は劇的に改善された。しかし、TKI 治療後も、CML 細胞の供給源となる CML 幹細胞が残存し、再発を引き起こすことが知られている。

研究代表者、仲は TGF- β -FOXO シグナルが CML 幹細胞の抗がん剤抵抗性メカニズムに重要な役割を担うことを報告した。当研究プロジェクトでは TKI 治療後の CML の再発の克服を指向し、1) TGF- β -FOXO シグナルによる CML 幹細胞の抗がん剤抵抗性メカニズムの解明、並びに 2) 当該メカニズムをターゲットとする薬剤耐性 CML 幹細胞の治療薬の開発を目的とした研究を進めている。

一方、CML 細胞と固形がんのがん細胞の特性は異なると考えられる。しかし、がん幹細胞における細胞周期の静止期制御などの分子機構は、CML 幹細胞と固形がんのがん幹細胞の間で共通性が存在する可能性が考えられる。そこで、3) マウス乳がんモデルより乳がん幹細胞を純化し、CML 幹細胞研究で明らかになった研究成果を乳がん幹細胞の維持機構にも応用可能か検討する。

<2012 年の研究成果、進捗状況と今後の計画>

1) TGF- β -FOXO シグナルによる CML 幹細胞の制御機構 (担当: 仲)

【目的】CML 幹細胞の抗がん剤抵抗性・自己複製能の維持機構を明らかにするため、TGF- β シグナルによる FOXO の活性化メカニズムを解明する。【本年成果】マウス CML モデルより純化した CML 幹細胞に対して、TGF- β -FOXO シグナルの制御に関わる分子、並びにその変異体の遺伝子導入を行った。その結果、CML 幹細胞の細胞周期の静止期制御と自己複製能の維持に関わる候補分子を見出した。【今後の方向性】CML 幹細胞の制御における当該 TGF- β -FOXO シグナル制御分子の機能解析を行う。また、野生型、並びに Foxo3a ノックアウトマウス由来の CML 幹細胞に、上記の TGF- β -FOXO 制御分子の活性化変異体を導入し、網羅的遺伝子発現解析を行う。

2) 薬剤耐性 CML 幹細胞に対する治療薬の開発 (担当：石原，仲)

【目的】 TGF- β -FOXO シグナルをターゲットとする CML 幹細胞治療薬を開発する。

【本年成果】昨年度，TGF- β -FOXO シグナルを標的とする CML 幹細胞治療薬の候補化合物を見出した。本年は，TKI 耐性 CML 幹細胞に対する TGF- β -FOXO シグナル標的治療薬の抑制効果を検討した。

CML 患者における再発の原因として，TKI 耐性の BCR-ABL の変異を有する CML 幹細胞の発生が知られている。CML 患者における再発を克服するためには，このような TKI 耐性の CML 幹細胞を治療することが必要である。そこで，このような BCR-ABL の TKI 耐性変異として知られている T315I 変異型 BCR-ABL を用いて CML マウスモデルを構築し，TKI 耐性 CML 幹細胞に対する TGF- β -FOXO シグナル標的治療薬の抑制効果を検討した。その結果，*in vitro* において，TGF- β -FOXO シグナル阻害薬は TKI 耐性 CML 幹細胞のコロニー形成能を抑制できることを見いだした (特願 2012-131328)。【今後の方向性】マウス生体内において，TKI 耐性 CML 幹細胞に対する TGF- β -FOXO シグナル阻害薬の治療効果を解析する。

3) 固形がんのがん幹細胞治療への応用 (担当：定免，仲)

【目的】CML 幹細胞の解析により明らかになった TGF- β -FOXO シグナルによる制御メカニズムが，乳がんのがん幹細胞治療にも応用可能か検討する。【本年成果】マウス乳がんモデル MMTV-PyVT マウスから乳がん幹細胞の純化を試みた。その結果，CD24⁺CD49f⁺CD14⁺cKit⁺Lin⁻細胞中に乳がん幹細胞としての能力を有する細胞が存在することを見出した。次に，このマウス乳がん幹細胞に FOXO のドミナントネガティブ変異体を導入し，レシピエントマウスの乳腺脂肪組織に移植を行った。その結果，この FOXO のドミナントネガティブ変異体を導入した乳がん幹細胞は *in vivo* での自己複製能が低下していることを見出した。したがって，TGF- β -FOXO はマウス乳がん幹細胞の維持にも関与する可能性が考えられる。【今後の方向性】上述の CML 幹細胞の維持に関わる TGF- β シグナル分子をマウス乳がん幹細胞へと導入し，乳がん幹細胞の自己複製能の維持，EMT，並びに転移における当該分子の役割を解析する。

【研究業績】

<発表論文>

原著論文

(研究室主体) なし

(共同研究)

1. Takeishi S., Matsumoto A., Onoyama I., Naka K., Hirao A., and Nakayama KI. (2013) Ablation of Fbxw7 Eliminates Leukemia-Initiating Cells by Preventing Quiescence. **Cancer Cell**. in press.
2. Hoshii T., Tadokoro Y., Naka K., Ooshio T., Muraguchi T., Sugiyama N., Soga T., Araki K., Yamamura K., and Hirao A. (2012) mTORC1 is essential for leukemia-propagation but not stem cell self-renewal. **J Clin Invest**. 122(6):2114-2129, 2012.
3. Shugo H., Ooshio T., Ohmura M., Naka K., Hoshii T., Tadokoro Y., Muraguchi T., Tamase A., Uema N., Yamashita T., Nakamoto Y., Suda T., Kaneko S., and Hirao A. (2012) Nucleostemin in injury-induced liver regeneration. **Stem Cells and Development**. 21(16):3044-3054.

総説

1. Naka K., Hirao A.: TGF- β in Leukemogenesis. **TGF- β in human disease**, Moustakas A, Miyazawa K eds, Springer: 2013 in press.
2. 仲 一仁, 癌幹細胞のバイオマーカー, **Frontiers in Gastroenterology**. 17 (1), 70-76, 2012

<学会発表>

1. Kazuhiro Naka: A Role of TGF- β -FOXO Signaling in CML Stem Cells, CHA University Seminar Series, February 20th 2012, Seoul, Republic of Korea
2. 仲 一仁, がん幹細胞におけるTGF- β -FOXOシグナルの役割.愛媛大学プロテオ医学研究センター・愛媛大学大学院医学系研究科 ProMRes研究会&生化学・分子遺伝学ジョイントセミナー, 平成24年7月19日, 松山市
3. 仲 一仁, TGF- β -FOXOシグナルによるがん幹細胞の抗がん剤抵抗性機構. 北海道大学遺伝子病制御研究所・金沢大学がん進展制御研究所ジョイントシンポジウム, 平成24年11月5日, 札幌市
4. Kazuhiro Naka, A Role of TGF- β -FOXO Signaling in CML Stem Cells, The 17th Annual Meeting of Korean Society of Cancer Prevention, November 9th-10th 2012, Seoul, Republic of Korea
5. 仲 一仁, TGF- β -FOXOシグナルによるCML幹細胞の維持機構. 第11回秋田分子

病態研究会，平成24年11月27日 秋田市

一般対象

1. 仲 一仁，市民公開講座「幹細胞とがん」，平成24年5月26日，金沢市
2. 仲 一仁，「がんの多層性・幹細胞とがん」，第24年度国立大学附置研究所・センター長会議第二部会シンポジウム，平成24年10月26日，金沢市

<知的財産>

1. 【発明者】仲 一仁 【出願者】金沢大学 【名称】慢性骨髄性白血病治療剤及びそのスクリーニング方法 【出願日】2012 年 6 月 8 日【出願番号】特願 2012-131328

<外部資金>

1. 仲 一仁：内閣府 最先端・次世代研究開発支援プログラム
「抗がん剤抵抗性がん幹細胞をターゲットとする革新的がん治療戦略」
平成 22-25 年度総額 直接経費 118,000 千円，間接経費 35,400 千円
2. Kazuhito Naka, Ewha Academia-Industry Cooperation Foundation,
「TGF- β 阻害剤による CML 幹細胞の治療効果の解析」
平成 24～25 年度総額 127,500,000 韓国ウォン

<共同研究>

学内

1. CML 幹細胞の治療抵抗性メカニズム：遺伝子染色体構築 平尾敦
2. 乳がん幹細胞の維持機構：腫瘍遺伝学 大島正伸，大島浩子
3. CML 幹細胞の自己複製機構：医学系研究科 小児科 西村良成

学外

1. CML 幹細胞の維持機構：東京医科歯科大学 佐藤卓 樗木俊聡
2. CML 幹細胞の維持機構：秋田大学 田川博之 高橋直人 澤田賢一
3. 乳がん幹細胞の維持機構：慶応義塾大学 甲斐千晴 佐谷秀行
4. 乳がん幹細胞の維持機構：神戸大学 下野洋平 高井義美
5. 乳がん幹細胞の維持機構：大阪大学 谷山義明
6. Foxo3a シグナルの役割：国立長寿医療センター研究所 本山昇
7. TGF- β シグナルの役割：CHA Cancer Institute, CHA University (Republic of Korea) ,

Eun-Jin Bae, Mi-Kyung Kwak, 真村瑞子, 大島章, Seong-Jin Kim

8. TGF- β シグナルの役割: Ewha Womans University (Republic of Korea)

Dae-Kee Kim, Yhun Yhong Sheen

がん微小環境研究プログラム

細胞機能統御研究分野

<研究スタッフ>

教 授 佐藤 博

准教授 滝野 隆久

技能補佐員 山岸 小百合

大学院生（博士課程） 郭 魯決 大学院生（博士課程） 田中 望

大学院生（博士課程） 佐藤 友美

大学院生（博士課程） 吉本 泰祐(口腔外科)

研究生 李 子晨

【 研 究 概 要 】

膜型マトリックスメタロプロテアーゼ-1 (MT1-MMP) は細胞外マトリックスを中心とするがん微小環境の構築・再構築に中心的な役割を果たすことによりがんの浸潤・転移・運動・増殖など様々ながん悪性化形質に関与している。また、近年注目されている MT1-MMP 活性のひとつは細胞表面の膜たんぱく質のシェディングである。我々はこれまでに MT1-MMP の基質および制御因子を検索するための発現クローニング法を開発し、新規基質ならびに制御因子を同定してきた。さらに同定された分子と構造的、生理・病理的に関連する分子からも新規基質を見出し、MT1-MMP が様々な局面においてがんの悪性化に関与することを見出してきた。また、微小環境の構築に関連し、MT1-MMP がファイブロネクチン重合を制御することを報告してきたが、さらに重合ファイブロネクチンによる細胞運動・増殖のコントロールメカニズムについて新たな知見を得た。これまでの知見を総合して MT1-MMP および関連分子を標的とした制御法の開発を目指す。

<2012 年の研究成果、進捗状況と今後の計画>

膜型セリンプロテアーゼ阻害因子 HAI-1 による転移阻害：

これまでに MT1-MMP による膜型のセリンプロテアーゼ阻害因子 HGF Activator Inhibitor-1 (HAI-1)の切断活性について報告してきた。上皮系細胞においては HAI-1 の標的はマトリプターゼであり HAI-1 の切断・シェディングによりマトリプターゼが活性化され、MT1-MMP とマトリプターゼの協調作用が浸潤性増殖には必須であることを見出した(文献1)。一方、間葉系細胞である HT1080 細胞に MT1-MMP に切断されない変異型 HAI-1 を発現させることにより細胞形態変化、運動能、浸潤性増殖の低下と共に発育鶏卵法での肝転移を著しく低下させた。膜型セリンプロテアーゼだけでも

20 以上のファミリーメンバーがあり, MT1-MMP 抵抗性の HAI-1 は転移阻止に有用と考えられた。MT1-MMP 抵抗性の変異型 HAI-1 の有用性をより多くのがん細胞について検証する。

MT1-MMP による KIM-1 切断は浸潤・転移を亢進する：

これまでに MT1-MMP の新規基質とし免疫グロブリンファミリーの Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1)を同定したことを報告した。KIM-1 はホスファチジルセリン受容体としての機能が知られていたが,今回 KIM-1 がコラーゲンなどへの細胞接着を負に制御することを見出した。すなわち MT1-MMP に切断されない変異体 KIM-1 は HT1080 細胞表面に蓄積し, コラーゲンへの接着・伸展を抑制することによりコラーゲングル内での浸潤性増殖, 発育鶏卵法での肝転移を有意に低下させた(文献2)。

MT1-MMP による N-カドヘリン接着の制御：

細胞—ECM 間接着と細胞—細胞間接着は, 相互干渉しながら細胞接着のネットワークを構築し, 増殖・運動・極性形成などの細胞機能を制御している。MT1-MMP は ECM 分解能とともにクローディン, カドヘリンなどの細胞間接着因子の分解能も有している。これまでに MT1-MMP はファイブロネクチンの重合・集積を抑制することから MT1-MMP の阻害・ノックダウンなどによりファイブロネクチンの重合・集積が起こることを報告した。今回, 重合したファイブロネクチンは N-カドヘリンの安定化を増強し, その結果として細胞運動のみならず増殖をも抑制することを見出した。また, 解析の過程において MT1-MMP は Src の活性化を亢進し, Src の基質であるパキシリンのリン酸化レベルを上昇させることを見出した。Src 阻害剤や siRNA による Src ノックダウンは N-カドヘリンレベルを亢進したことから, MT1-MMP による N-カドヘリンの安定化には Src を介した別経路も存在することが示唆された。

【 研 究 業 績 】

<発表論文>

原著論文

(研究室主体)

1. Guo L., Takino T., Endo Y., Domoto T., Sato, H. (in press) Shedding of kidney injury molecule-1 by membrane-type 1 matrix metalloproteinase. J. Biochem.
2. Domoto T., Takino T., Guo L., and Sato, H. (2012) Cleavage of hepatocyte growth factor activator inhibitor-1 by membrane-type MMP-1 activates matriptase. *Cancer Sci.* 2012, 103; 448-454.

(共同研究)

1. Jin R, Nakada M, Teng L, Furuta T, Sabit H, Hayashi Y, Demuth T, Hirao A, Sato H, Zhao G, Hamada JI. Combination therapy using Notch and Akt inhibitors is effective for suppressing invasion but not proliferation in glioma cells. Neuroscience letters (in press)

<学会発表>

1. 佐藤 博, 滝野 隆久
「MT1-MMP による HAI-1 切断は細胞運動・浸潤に関わるセリンプロテアーゼを活性化する」
第 21 回日本がん転移学会総会 (平成 24 年 7 月 13 日 広島)
2. 滝野 隆久, 堂本 貴寛, 佐藤 博
「MT1-MMP による N-カドヘリン接着の制御」
第 21 回日本がん転移学会総会 (平成 24 年 7 月 13 日 広島)
3. 堂本 貴寛, 滝野 隆久, 源 利成, 佐藤 博
「HAI-1 分解を介するセリンプロテアーゼ系の活性化は腫瘍細胞の遊走と浸潤能を亢進する」
第 71 回日本癌学会学術総会 (平成 24 年 9 月 20 日 札幌)
4. 滝野 隆久, 堂本 貴寛, 佐藤 博
「MT1-MMP による N-カドヘリン接着制御」
第 71 回日本癌学会学術総会 (平成 24 年 9 月 20 日 札幌)

<外部資金>

1. 基盤研究 (C) (代表) 滝野 隆久
「細胞外マトリックス分解と細胞 運動の極性形成維持機構」 1,200 千円

<共同研究>

1. 望月 早月 (慶應義塾大学医学部病理)
メタロプロテアーゼ ADAM28 の遺伝子発現機構解析に基づく治療法開発の基礎研究
2. 東 昌市 (横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科)
高特異性 MMP インヒビターの分子設計による制癌剤の開発
3. 中田 光俊 (金沢大学医学系研究科 脳外科)
「グリオーマにおける MT1-MMP 制御機構の解析」
4. 宇都 義浩 (徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部)・遠藤 義男
「ヒトがん細胞を用いた抗転移性低酸素サイトトキシン類の開発」

分子生体応答研究分野

<研究スタッフ>

教 授 向田 直史

助 教 馬場 智久

博士研究員 佐々木 宗一郎

技能補佐員 南 邦子

大学院生 楊 秀峰

大学院生 宋 瑤

大学院生 浜野 良子（第2内科） 大学院生 内藤 達志（福井大・医）

大学院生 古川 芳（自然科学研究科・修士課程）

【 研 究 概 要 】

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

<2012 年の研究成果，進行状況>

1) 担癌マウスが産生するケモカイン，**CCL2** が胸腺皮質の傍血管領域に蓄積する結果，**Sirpα**陽性の樹状細胞亜群が傍血管領域に集積する可能性を示す結果が得られた。集積した **Sirpα**陽性の樹状細胞亜群が，腫瘍細胞が血中に放出する腫瘍特異抗原などの血中循環抗原を取り込み，胸腺内において取り込んだ抗原に対して免疫寛容を引き起こすことも明らかにした。

2) 放射線非照射のヌードマウスの骨髄内に，**Bcr-Abl** 遺伝子導入した骨髄前駆細胞を投与することによって，著明な白血球増多症と種々の臓器での白血病細胞の浸潤を伴った，ヒト慢性骨髄性白血病に類似した病態を再現することに成功した。このモデルにおける解析の結果，白血病細胞が産生するケモカインによって，正常骨髄細胞が骨髄外へと移動することが，白血病細胞の骨髄内での生着と増殖に不可欠であることを見出した。

3) アゾキシメタン（**AOM**）とデキストラン硫酸塩（**DSS**）との投与によって生じる大腸がんモデルにおいて，ケモカイン **CCL3** がシクロオキシゲナーゼ（**COX**）-2を発現している顆粒球の大腸組織への浸潤を制御する以外に，線維細胞ならびに線維芽細胞の大腸組織への集積の誘導にも重要な役割を果たしていることを見出した。さらに，集積した線維芽細胞は肝細胞増殖因子を産生することで，大腸がん発症に関与

している可能性を示唆する結果を得た。

4) 試験管内で **gemcitabine** を添加すると、ヒト膵臓がん細胞によるセリン／スレオニン・キナーゼ **Pim-3** の発現ならびにケモカイン **CXCL8/IL-8** 産生が誘導されることを見出した。

5) 抗原と一緒にインターロイキン 2 (IL-2) – 抗 IL-2 抗体複合体を投与することによって誘導された抗原特異的抑制性 T 細胞 (**Treg**) が、抗原投与部位に移動し、投与抗原によって惹起される遅延型過敏症反応を抑制できることを証明した。

<今後の計画>

1) 今年樹立した慢性白血病モデルを用いて、慢性白血病過程におけるケモカインの細胞レベルならびに分子レベルでの役割を解明し、ケモカインを標的とした治療法ならびに診断法の開発のための基礎となる知見を得る。

2) AOM と DSS 投与によって引き起こる大腸がん発症モデルにおける、**CCL3** による線維細胞ならびに線維芽細胞集積過程の調節機構を解明する。大腸がん発症モデル以外にウレタン投与による肺がん発症モデルなどにおいても同様の解析を行う。

3) **Gemcitabine** を始めとする種々の抗がん剤存在下において認められた、がん細胞株のケモカイン産生誘導や **Pim-3** 発現誘導の病態生理学的役割の解明を行う。

4) 現在までに得られている置換フェナントレン化合物に対して種々の修飾を加えた化合物の抗がん作用を検討する。さらに、**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】

<発表論文>

原著論文

(分野主体の研究論文)

1. Wang Y-Y, Taniguchi T, Baba T, Li Y-Y, Ishibashi H, and Mukaida N. Identification of a phenanthrene derivative as a potent anti-cancer drug with Pim kinase inhibitory activities. *Cancer Sci* 103 (1): 107-115, 2012.
2. Baba T, Badr MES, Tomaru U, Ishizu A, and Mukaida N. Novel process of intrathymic tumor-immune tolerance through CCR2-mediated recruitment of Sirp α^+ dendritic cells: murine model. *PlosOne* 7 (7): e41154, 2012.

(他の研究室との共同研究)

1. Ishida Y, Kimura A, Kuninaka Y, Inui M, Matsushima K, Mukaida N, and Kondo T. Pivotal role of the CCL5-CCR5 interaction for recruitment of endothelial progenitor cells in mouse wound healing. *J Clin Invest* 122 (2): 711-721, 2012.
2. Furuichi K, Kokubo S, Hara A, Imamura R, Wang Q, Kitajima S, Toyama T, Okumura T, Matsushima K, Suda T, Mukaida N, Kaneko S, and Wada T. Fas ligand has a greater impact than TNF- α on apoptosis and inflammation in ischemic acute kidney injury. *Nephron Extra* 2: 27-38, 2012.
3. Marukawa Y, Nakamoto Y, Kakinoki K, Tsuchiyama T, Iida N, Kagaya T, Sakai Y, Mukaida N, and Kaneko S. Membrane-bound form of monocyte chemoattractant protein-1 enhances antitumor effects of suicide gene therapy in a model of hepatocellular carcinoma. *Cancer Gene Ther* 19: 312-319, 2012.
4. Wang W, Li Q, Takeuchi S, Yamada T, Koizumi H, Nakamura T, Matsumoto K, Mukaida N, Nishioka Y, Sone S, Nakagawa T, Uenaka T, and Yano S. Met kinase inhibitor E7050 reverses three different mechanisms of hepatocyte growth factor-induced tyrosine kinase inhibitor resistance in EGFR mutant lung cancer. *Clin Cancer Res* 18 (6): 1663-1671, 2012.
5. Kitade H, Sawamoto K, Nagashimada M, Inoue H, Yamamoto Y, Sai Y, Takamura T, Yamamoto H, Miyamoto K, Ginsberg HN, Mukaida N, Kaneko S, and Ota T. CCR5 plays a critical role in obesity-induced adipose tissue inflammation and insulin resistance by regulating both macrophage recruitment and M1/M2 status. *Diabetes* 61 (7): 1680-1690, 2012.
6. Lu P, Li L, Liu G, Baba T, Ishida Y, Nosaka M, Kondo T, Xhang X, and Mukaida N. Critical role of TNF- α -induced macrophage VEGF and iNOS production in the experimental corneal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 53 (7): 3516-3526, 2012.
7. Kimura A, Ishida Y, Inagaki M, Nakamura Y, Sanke T, Mukaida N, and Kondo T. IFN- γ is protective in cisplatin-induced renal injury by enhancing autophagic flux. *Kidney Int* 82 (10):1093-1104, 2012.
8. Arai M, Ikawa Y, Chujo S, Hamaguchi Y, Ishida W, Shirasaki F, Hasegawa M, Mukaida N, Fujimoto M, and Takehara K. Chemokine receptors CCR2 and CX3CR1 regulate skin fibrosis in the mouse model of cytokine-induced systemic sclerosis. *J Dermatol Sci*. 2012 Oct 24. doi:pii: S0923-1811(12)00320-9. 10.1016/j.jdermsci.2012.10.010.
9. Liu H-X, Lopatina O, Higashida H, Fujimoto H, Akther S, Inzhutova A, Liang M, Zhong J, Tsuji T, Yoshihara T, Sumi K, Ishiyama M, Ma W-J, Ozaki M, Yagitani S, Yokoyama, Mukaida N, Sakurai T, Hori O, Yoshioka K, Hirao A, Kato Y, Ishihara K, Kato I, Okamoto H, Cherepanov SM, Salmina A, Hirai H, Asano M, Brown DA, Nagano I and Higashida H. Displays of mouse pup retrieval as paternal parental behaviour following communicative interaction with maternal mates. *Nature Commun* (in press).

総説論文(英文論文に限る)

1. Mukaida N and Baba T. Chemokines in tumor development and progression. *Exp Cell Res* 318: 95-102, 2012.
2. Fujii H, Baba T, Yamagishi M, Kawano M, and Mukaida N. The role of a chemokine receptor, CCR2, in suppressing the development of arthritis in IL-1 receptor antagonist-deficient mice. *Inflamm Regen* 32(3): 124-131, 2012.
3. Mukaida N and Popivanova BK. Novel mediators for chronic inflammation and oncogenic transformation: tumor necrosis factor (TNF)- α . In *From Inflammation to Cancer: Advances in Diagnosis and Therapy for Gastrointestinal and Hepatological Diseases.* (Cho CH and Yu J eds.) World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapore, pp. 259-276, 2012.

<学会発表> (筆頭発表者が分野所属の者に限る)

1. Mukaida N and Baba T. Novel process of intratymic tumor-immune tolerance through CCR2-mediated recruitment of Sirp α + dendritic cells. 第16回日本がん免疫学会総会。2012年7月26日~28日, 札幌。
2. 馬場智久, 楊秀峰, 向田直史。胸腺Sirp α +樹状細胞サブセットによる抗腫瘍免疫寛容の新規誘導メカニズム。第71回日本癌学会学術集会。2012年9月19日~21日, 札幌。
3. 佐々木宗一郎, 馬場智久, 楊秀峰, 向田直史。炎症誘発性の腫瘍形成マウスモデルではCCL3/CCR5による線維芽細胞の集積が重要である。第71回日本癌学会学術集会。2012年9月19日~21日, 札幌。
4. Baba T and Mukaida N. Novel process of intrathymic immune tolerance against secretory tumor-specific antigens. 第41回日本免疫学会学術集会。2012年12月5日~7日, 神戸。
5. Sasaki S, Baba T, and Mukaida N. Crucial contribution of CCL3-CCR5 axis, to murine chronic colitis-associated fibrosis/carcinogenesis. 第41回日本免疫学会学術集会。2012年12月5日~7日, 神戸。
6. Hamano R, Baba T, Kawano M, and Mukaida N. Antigen-specific immune suppression mediated by systematically induced Tregs against blood-borne antigen. 第41回日本免疫学会学術集会。2012年12月5日~7日, 神戸。

<知的財産>

なし

<外部資金>

1. 向田直史

戦略的創造研究推進事業 CREST「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」研究領域（分担）

慢性炎症に伴う臓器線維化の分子・細胞基盤

直接経費 2,700 千円，間接経費 810 千円

2. 馬場智久

科学研究費・若手研究（B）

胸腺 Sirp α +樹状細胞による自己免疫寛容の新規誘導メカニズムの解明

直接経費 1,600 千円，間接経費 480 千円

3. 佐々木宗一郎

科学研究費・若手研究（B）

がん発症過程における線維化へのケモカインによる調節機構の解明

直接経費 1,700 千円，間接経費 510 千円

<共同研究>

学内

1. 医薬保健研究域・薬学系 石橋弘行教授，谷口剛助教
Pim-3 キナーゼ阻害活性を指標とした，新規の抗がん剤の開発
2. 医薬保健研究域・医学系 金子周一教授
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

学外

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. 福井大学・医学部 中本安成教授
ケモカインを標的としたがん免疫療法の開発
6. 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
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

大学院生（博士課程） 王 強

技術補佐員 古市 いづみ

助 教 木下 健

大学院生（博士課程） 串山 裕子

【 研 究 概 要 】

がん組織においては血流不足による低酸素、低栄養や抗がん剤の影響で多くの細胞が死ぬ。これまでの我々や他の研究から、死につつある細胞や死細胞から様々な炎症誘導シグナルが発せられることが明らかになってきた。我々は、死細胞が発する炎症シグナルががん微小環境に影響を与え、がんの消長や悪性化に影響を及ぼすと考え、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。昨年に引き続き、特に自然免疫応答や細胞死の誘導・制御に働く NLR ファミリー に属する細胞質蛋白とそのシグナル伝達因子 ASC に着目した研究を行っている。

<2012 年の研究成果、進捗状況及び今後の計画>

1) ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害剤の IL-1 β 産生誘導機構の解析 : HDAC 阻害剤は抗がん剤としての開発が進められている。我々は、HDAC 阻害剤のプロトタイプであるトリコスタチン A が PMA で前処理したヒト単球様白血病細胞株 THP-1 に NLRP3-ASC-カスパーゼ 1 経路依存性の IL-1 β 産生を誘導することを見出した。今回、vorinostat 等他の HDAC 阻害剤についても同様の結果を得たことから、エピジェネティックな遺伝子発現制御が関与することが示唆された。実際、トリコスタチン A は NLRP3 の mRNA 発現を促進することを見出した。この IL-1 β 産生は NADPH オキシダーゼ阻害剤で阻害されることから ROS が関与していると考えられ、今後 ROS の産生や分解に寄与する遺伝子の発現についても検討する予定である。

2) PYNOD の機能解析 : NLR ファミリーのメンバーで、ASC とカスパーゼ 1 の阻害蛋白として我々が同定した PYNOD (NLRP10) のノックアウトマウスを樹立し、解析を行っている。以前の結果から、PYNOD 欠損マクロファージは IL-1 β 産生が亢進すると期待していたが、現時点でそのような結果は得られていない。これは IL-1 β 産生調節機構の redundancy のためと考えられる。最近、Eisenbarth らによって、NLRP10 欠損マウスでは樹状細胞の移動に異常があり、獲得免疫応答が著しく抑制されていると報告された。我々も PYNOD 欠損マウスでは接触過敏症応答などが著しく低下している

ことを見出したが、樹状細胞の移動については異常を認めていない。今後、PYNOD 欠損マウスの獲得免疫不全の真の原因を解明したい。また、大島教授らが開発した K19-C2mE および Gan マウスの胃病変部において PYNOD の発現が増加していることから、本モデルにおける胃病変の発症率や悪性度に PYNOD が関与するか検討する目的で PYNOD 欠損 K19-C2mE マウスを樹立し、現在経過観察中である。さらに、当研究所の源教授との共同研究により、ヒトの胃がんや大腸がん病変部における PYNOD の発現についても検討した結果、一部の症例で PYNOD mRNA の発現上昇が認められた。今後、組織染色などで PYNOD 蛋白発現レベルを検討するとともに、PYNOD の発現と腫瘍の組織型、悪性度、予後などとの関連を検討する予定である。

3) がん細胞のサイトカイン産生における NLRP3 の役割の解析: 我々は、HT1080 ヒト線維肉腫細胞株が IL-1 β を発現し、これに NLRP3 が関与していることを見出した。本年は、他のヒトがん細胞株 (SH10-TC 胃癌細胞株, HT29 および WiDr 大腸がん細胞株)においても、NLRP3 のノックダウンで IL-1 β mRNA の発現が抑制されることを確認した。さらに IL-6, TGF- β , b-FGF の mRNA 発現も減少した。これらのサイトカインは、がんの悪性化に関わる因子であり、NLRP3 ががんの悪性化に寄与している可能性がある。今後は、1) *in vivo*, *in vitro* で NLRP3 ノックダウンがん細胞の特性を解析する、2) NLRP3 から NF- κ B 活性化に至る分子機序を明らかにする、3) ヒトがん症例サンプルで NLRP3 の発現レベルを調べる、ことにより NLRP3 のがん細胞およびその微小環境の特性構築過程への寄与を明らかにすることを目指す。

4) パイロプトーシス細胞の食食機構の解析: 細菌などに感染したマクロファージはしばしばネクローシス様の細胞死を引き起こす。このような細胞死は、細菌毒素などによる受動的細胞死と考えられてきたが、近年、カスパーゼ 1 依存性のプログラム細胞死であることが判明し、パイロジェン IL-1 β の産生を伴うことからパイロプトーシスと名付けられた。アポトーシスの過程では、細胞は収縮、断裂するが、細胞膜はバリア機能を保ち、マクロファージによる食食を誘発するフォスファチジルセリン (PS) を細胞表面に露出するとともに、マクロファージを誘引する ATP を放出することで、死細胞はマクロファージによって速やかに食食除去される。一方、パイロプトーシス細胞はネクローシス細胞同様、早期に細胞膜が破綻する。これにより、炎症性サイトカインや細胞内炎症誘導物質が最大限に放出され、炎症が誘導される。しかし、死んだマクロファージの処理については不明であった。今回我々は、緑膿菌や黄色ブドウ球菌でパイロプトーシスに陥ったマクロファージはアポトーシス細胞同様 PS を露出し、ATP を放出することで、マクロファージによって効率よく食食除去されることを *in vitro* で示した。今後は、このような機構が細菌感染に対する生体防御にとってどのような意義をもつのか明らかにしたい。

【研究業績】

<論文発表>

原著

(当研究室主体)

1. Wang, Q., Imamura, R., Motani, K., Kushiyaama, H., Nagata, S., and Suda, T. Pyroptotic cells externalize eat-me and release find-me signals and are efficiently engulfed by macrophages. *Int. Immunol.* 2013, in press

(共同研究)

1. Harashima, N., Inao, T., Imamura, R., Okano, S., Suda, T., and Harada, M.: Roles of the PI3K/Akt pathway and autophagy in TLR3 signaling-induced apoptosis and growth arrest of human prostate cancer cells. *Cancer Immunol. Immunother.* 2012, 61:667-676
2. Furuichi, K., Kokubo, S., Hara, A., Imamura, R., Wang, Q., Kitajima, S., Toyama, T., Okumura, T., Matsushima, K., Suda, T., Mukaida, N., Kaneko, S. and Wada, T.: Fas Ligand Has a Greater impact than TNF- α on Apoptosis and Inflammation in Ischemic Acute Kidney Injury. *Nephron Extra* 2012, 2:27-38

総説

1. 須田貴司：細菌感染による能動的細胞死とインフラマソーム. 実験医学 30 : 566-570

<学会発表>

1. Imamura, R., and Suda, T.: Functional analyses of PYNOD (NLRP10) in mice 2012 年日本免疫学会学術集会 (神戸) 2012 年 12 月
2. Kinoshita, T., Imamura, R., and Suda, T.: The Role of NLRP3 in the Induction of Cytokine Gene Expression in Tumor Cells. 第 35 回日本分子生物学会年会, (福岡) 2012 年 12 月
3. Imamura, R.: Functional Analyses of PYNOD (NLRP10) in Mice. 3rd International Symposium on Carcinogenic Spiral and International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa, (金沢) 2013 年 1 月

<外部資金>

1. 須田貴司、科学研究費 基盤研究 (B) (代表): 炎症抑制型 NLR 蛋白 PYNOD の生理的・病理的役割の解明.

2. 今村 龍、科学研究費 基盤研究(C) (代表):抗炎症 NLR ファミリー分子 PYNOD の発現制御機構の解析.
3. 今村 龍、科学研究費 新学術領域「発がんスパイラル」(公募)(代表): 胃がん および大腸がんの発症における細胞質病原体センサー蛋白の役割の解明.
4. 木下 健、科学研究費 基盤研究 (C) (代表): 自然免疫ストレスセンサーNLRP の新機能とその分子機構解明.

<共同研究>

学外

1. 琉球大学熱帯生物圏研究センター 松崎 吾朗 教授, 梅村 正幸 助教
BCG の抗癌活性発現における炎症反応および免疫応答の分子基盤の確立
2. 京都府立医科大学大学院医学研究科 鈴木孝禎 教授
HDAC 阻害剤の IL-1 β 産生誘導機構の解析
3. 鳥取大学医学部 林 眞一 教授, 吉野 三也 准教授
PYNOD 欠損樹状細胞の抗原輸送能の検討
4. 島根大学医学部 原田 守 教授, 原嶋 奈々江 助教
Toll 様レセプター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
5. 小澤 岳昌 東京大学理学系研究科化学専攻 教授
ネクロシス細胞の可視化技術の開発

学内

1. 医薬保健研究域医学系 和田 隆志 教授, 古市 賢吾 准教授
虚血性急性腎障害における Fas リガンドの役割
2. 医薬保健研究域薬学系・川畑 哲郎 助教
ASC を活性化する海洋微生物由来天然物の探索

所内

1. 腫瘍遺伝学研究分野 大島 正伸 教授
胃がん発症モデルマウスにおける PYNOD の役割の検討
2. 腫瘍制御研究分野 源 利成 教授
ヒト消化器がんにおけるインフラマゾーム関連遺伝子発現の解析

腫瘍動態制御研究分野

<研究スタッフ>

教授	松本 邦夫		
助教	中村 隆弘	助教	酒井 克也
博士研究員	鈴木 芳典	研究員	足立 恵理
大学院生	道越 洸允	大学院生	横山 茉梨
技術補佐員	丹保 智佳子	技能補佐員	端谷 泉

【研究概要】

がんは修復に至らない傷（wound that do not heal）に例えられる。組織傷害を引き金とする組織修復につながるメカニズムが、がんの微小環境の形成や微小環境を介したがんの悪性進展に関与する。HGF（hepatocyte growth factor）は Met チロシンキナーゼを受容体とし、主として間葉由来の因子として、上皮組織の3次元（3-D）形態形成、肝臓や神経系をはじめとする組織の再生・保護を担う。一方、HGF はとりわけがん細胞の3-D 浸潤を促す生物活性が強く、がん転移に深く関与する。加えて、HGF は抗がん剤に対する耐性獲得に関与することが明らかにされた。HGF-Met 系を介した組織修復の仕組みは悪性腫瘍の生物学的特性に深く関与すると考えられる。

私達はがん微小環境を介したがん悪性化（浸潤・転移・薬剤耐性）ならびに組織再生制御における HGF-Met 系の意義とメカニズムの研究を中心に進めており、とりわけ HGF による 3-D 上皮管腔形態形成のダイナミクス、構造生物学を基盤とする低分子 HGF-Met 阻害剤の創薬研究、HGF-Met 系を介した再生制御の研究などを行っている。さらに、研究成果を疾患の治療につなげることも研究の完成に向けた取り組みである。HGF 医薬による難治性疾患の治療法開発にも力を注いでいる。

また、良性腫瘍と悪性腫瘍の明確な違いは、悪性腫瘍は活発に組織内を浸潤することであり、活発な浸潤性はがん転移につながる。がんの 3-D 浸潤性制御の研究から、自律的に 3-D 浸潤性を示す細胞と、たとえ HGF などの増殖因子が存在しても浸潤性を示さない非浸潤性細胞に分けられることがわかった。3-D 浸潤性獲得のメカニズムについての研究もスタートした。

<2012 年の研究成果、進行状況>

1. 構造生物学を基盤とする低分子 HGF-Met 系阻害剤創製研究

バイオインフォマティクス技術、結晶構造解析、化学合成などの研究者と協力し、HGF と Met 受容体相互作用を阻害する低分子創薬研究を進めている。前年までにリード化合物が得られ、タンパク質へのドッキング構造、活性-構造相関に基づいて、化合物の活性向上を進めたが、マイクロモルオーダー以下に活性が向上した化合物を得るに至っていない。一方、活性向上に向けては、基本骨格の異なる複数のリード化合物が必要と判断し、high throughput screening（HTS）のためのアッセイ系を構築した。今後、化合物ライブラリーの HTS によって新規骨格の化合物を見出し、それらの構造ならびにポケットへのドッキング構造を基盤として活性の向上を進める

予定である。

2. Met 受容体活性化のリガンド依存性の研究

HGF-Met 系の活性化は肺がんにおける EGF 受容体キナーゼ阻害剤に対する薬剤耐性に関与する。Met 受容体活性化の 1 つのメカニズムとして、Met 受容体の過剰発現が関与することが知られている他、Met 受容体の発現上昇が多くのがんで明らかにされ、過剰発現=Met 活性化と考えられている。今回、Met 受容体過剰発現による Met チロシンリン酸化は生物活性に至らないこと、リガンドによって引き起こされる Met 受容体の安定 2 量体形成が生物活性に必要であることを明らかにした。HGF-Met 系を介した薬剤耐性におけるリガンド発現の重要性が示唆される。

3. HGF-Met 系を介した肝再生制御の研究

HGF に対する応答性は傷害の有無によって制御されている。Met 受容体 OFF 機構の 1 つとして、Met 受容体 juxtamembrane 領域 Ser985 リン酸化に着目している。肝細胞培養系において Met-Ser985 のリン酸化が Met 受容体の細胞膜局在を減少させ HGF による Met チロシンリン酸化を抑制することを明らかにした。肝再生過程で Met 受容体 Ser985 リン酸化とチロシンリン酸化が相反的に制御されることから、傷害の有無によって HGF に対する応答性を制御するメカニズムの 1 つと考えられる。

4. がん細胞 3-D 浸潤性ならびに上皮 3-D 形態形成のダイナミクスの研究

各種ヒトがん細胞はコラーゲンゲル内での 3-D 培養系において、浸潤性を示さないものとダイナミックな自立的浸潤性を示すがん細胞に分けられる。前年までに、ヒト悪性中皮腫細胞などを中心に非浸潤性と浸潤性を区別するメカニズムとして、ヒストン/DNA のメチル化を介した細胞外マトリックス分解酵素の遺伝子発現が関与することを明らかにした。今回、ヒストンメチル化を旗印にする PRC (polycomb Repressive Complex) の形成、これによる遺伝子セットの連動的 ON-OFF スイッチが 3-D 浸潤性の制御に関与することを明らかにした。

<今後の計画>

1. がん細胞の自立的 3-D 浸潤性制御: 上記の成果に続き、非浸潤性 vs 浸潤性に関与する遺伝子セットの ON-OFF 制御の詳しい機構を明らかにする。とりわけ、PRC 複合体の形成を制御するメカニズムを明らかにするとともに、悪性中皮腫以外のがん細胞の 3-D 浸潤性制御における同メカニズムの役割を明らかにする。
2. HGF による 3-D 上皮形態形成とがん細胞浸潤のダイナミクス: HGF による 3-D 上皮管腔形成とがん細胞浸潤から、がん細胞の特性を明らかにするアプローチを進める。乳腺上皮細胞は HGF により 3-D 管腔構造を形成する。上皮は乳がん、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。
3. 構造生物学を基盤とする低分子 HGF-Met 系阻害剤創製研究: 化合物-HGF 複合体の結晶構造解像度を高めることによる分子設計の精度を高めるとともに、HTS によって HGF-Met 相互作用阻害の新規骨格化合物を見出す。化学合成チームの協力を得て化合物数を増やすことによって、数十倍～100 倍の活性向上を目指す。

【 研 究 業 績 】

<論文発表>

(研究室主体)

1. Xu Q, Nakayama M, Suzuki Y, Sakai K, Nakamura T, Sakai Y, Matsumoto K.
Suppression of acute hepatic injury by a synthetic prostacyclin agonist through hepatocyte growth factor expression. *Am J Physiol*, 302: G420-G429, 2012.

(共同研究)

1. Yamada T, Takeuchi S, Kita K, Bando H, Nakamura T, Matsumoto K, Yano S. Hepatocyte growth factor induces resistance to anti-epidermal growth factor receptor antibody in lung cancer. *J Thoracic Oncol*, 7: 272-280, 2012.
2. Hirata Y, Shimabukuro M, Uematsu E, Soeki T, Yamada H, Sakai Y, Nakayama M, Matsumoto K, Igarashi T, Sata M. A synthetic prostacyclin agonist with thromboxane synthase inhibitory activity, ONO-1301, protects myocardium from ischemia/reperfusion injury. *Eur J Pharmacol*, 674: 352-358, 2012.
3. Wang W, Li Q, Takeuchi S, Yamada T, Koizumi H, Nakamura T, Matsumoto K, Mukaida N, Nishioka Y, Sone S, Uenaka T, Yano S. Met kinase inhibitor E7050 reverses three different mechanisms of hepatocyte growth factor-induced tyrosine kinase inhibitor resistance in EGFR mutant lung cancer. *Clin Cancer Res*, 18: 1663-1671, 2012.
4. Nasu T, Kinomura M, Tanabe K, Yamasaki H, Htay SL, Saito D, Hinamoto N, Watatani H, Ujike H, Suzuki Y, Sugaya T, Sugiyama H, Sakai Y, Matsumoto K, Maeshima Y, Makino H. A sustained-release prostacyclin analog ONO-1301 ameliorates tubulointerstitial alterations in a mouse obstructive nephropathy model. *Am J Physiol-Renal Physiol*, 302: F1616-F1629, 2012.
5. Suzuki Y, Yamamoto K, Ando J, Matsumoto K, Matsuda T. Arterial shear stress augments the differentiation of endothelial progenitor cells adhered to VEGF-bound surfaces. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 423: 91-97.
6. Koizumi H, Yamada T, Takeuchi S, Nakagawa T, Kita K, Nakamura T, Matsumoto K, Suda K, Mitsudomi T, Yano S. Hsp90 inhibition overcomes HGF-triggering resistance to EGFR-TKIs in EGFR mutant lung cancer by decreasing client protein expression and angiogenesis. *J Thoracic Oncol*, 7: 1078-1085, 2012.
7. Yamada T, Takeuchi S, Nakade J, Kita K, Nakagawa T, Nanjo S, Nakamura T, Matsumoto K, Soda M, Mano H, Uenaka T, Yano S. Paracrine receptor activation by microenvironment triggers bypass survival signals and ALK inhibitor resistance in EML4-ALK lung cancer cells. *Clin Cancer Res*, 18: 3592-3602, 2012.
8. Takeuchi S, Wang W, Li Q, Yamada T, Kita K, Donev IS, Nakamura T, Matsumoto K, Mukaida N, Shimizu E, Nishioka Y, Sone S, Uenaka T, Yano S. Dual Inhibition of Met Kinase and Angiogenesis to Overcome HGF-induced EGFR-TKI Resistance in EGFR Mutant Lung Cancer. *Am J Pathol*, 181: 1034-1043, 2012.
9. Nakagawa T, Takeuchi S, Yamada T, Nanjo S, Ishikawa D, Sano T, ita K, Nakamura T, Matsumoto K, Suda K, Mitsudomi T, Sekido Y, Uenaka T, Yano S. Combined therapy with mutant-selective EGFR inhibitor and Met kinase inhibitor to overcome erlotinib resistance in EGFR mutant lung cancer. *Mol Cancer Ther*, 11: 2149-2157, 2012.
10. Yamabayashi C, Koya T, Kagamu H, Kawakami H, Kimura Y, urukawa T, Sakagami T, Hasegawa T, Sakai Y, Matsumoto K, Nakayama M, Gelfand EW, Suzuki E, Narita I. A

novel prostacyclin agonist protects to airway hyperresponsiveness and remodeling in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 47: 170-177, 2012.

11. Goshima K, Nakase J, Xu Q, Matsumoto K, Tsuchiya H. Repair of segmental bone defects in rabbit tibia using a complex of β -tricalcium phosphate and hepatocyte growth factor. *J Orthopaedic Sci*, 17: 639-648, 2012.
12. Sugiura T, Takahashi S, Sano K, Abe T, Fukuta K, Adachi K, Nakamura T, Matsumoto K, Nakamichi N, Kato Y. Pharmacokinetic modeling of hepatocyte growth factor in experimental animals and humans. *J Pharm Sci*, 102, 237-249, 2013.
13. Hirata Y, Kurobe H, Uematsu E, Yagi S, Soeki T, Yamada H, Fukuda D, Shimabukuro M, Nakayama M, Matsumoto K, Sakai Y, Kitagawa T, Sata M. Beneficial effect of a synthetic prostacyclin agonist, ONO-1301, in rat autoimmune myocarditis model. *Eur J Pharmacol*, in press, 2013.
14. Sano T, Takeuchi S, Nakagawa T, Ishikawa D, Nanjo S, Yamada T, Nakamura T, Matsumoto K, Yano S. The novel PI3K-mTOR inhibitor, BEZ235, circumvents erlotinib-resistance of *EGFR* mutant lung cancer cells triggered by HGF. *Int J Cancer*, in press, 2013.
15. Matsumura A, Kubota T, Taiyoh H, Fujiwara H, Okamoto K, Ichikawa D, Shiozaki A, Komatsu S, Nakanishi M, Kuriu Y, Murayama Y, Ikoma H, Ochiai T, Kokuba Y, Nakamura T, Matsumoto K, Otsuji E. HGF regulates VEGF expression via the c-Met receptor downstream pathways, PI3K/Akt, MAPK and STAT3, in CT26 murine cells. *Int J Cancer*, in press, 2013.

<学会発表>

1. 松本邦夫：細胞生理学分野セミナー「再生・がん悪性進展における HGF の意義と創薬」神戸大学大学院医学系研究科，2012 年 5 月 31 日（神戸）
2. 鈴木芳典，山本希美子，安藤譲二，松本邦夫，松田武久：In situ 血管内皮前駆細胞捕捉・分化誘導バイオインターフェースの開発：接着細胞へのシェアストレスの影響．第 11 回に本再生医療学会総会，2012 年 6 月 12-14（横浜）
3. 酒井克也，松本邦夫：マウス乳腺上皮細胞における 4 倍体細胞の形成と増殖能の解析．第 71 回日本癌学会総会，2012 年 9 月 19 日（札幌）
4. 中村隆弘，酒井克也，足立恵理，鈴木芳典，中山瑞穂，松本邦夫：肺がん細胞を用いた Wnt/ β -catenin シグナル抑制における Kremen の機能解析．第 71 回日本癌学会総会，2012 年 9 月 19 日（札幌）
5. 道越洸充，中村隆弘，酒井克也，松本邦夫，松郷誠一：リポ酸による Met/HGF 受容体活性化阻害を介したヒト肺がん細胞増殖抑制．日本生物工学会 2012 年度大会，2012 年 10 月 23-26 日（兵庫県神戸国際会議場）
6. Saki Takahashi, Tomoko Sugiura, Tetsushi Abe, Kazuhiro Fukuta, Kiichi Adachi, Toshikazu Nakamura, Kunio Matsumoto, Noritaka Nakamichi, Yukio Kato. Pharmacokinetic modeling of hepatocyte growth factor after repeated intravenous injections in experimental animals. 第 27 回日本薬物動態学会年会，2012 年 11 月 21-22 日（千葉）

＜外部資金＞

1. 中村隆弘：科学研究費補助金 基盤研究（若手）「cMet/HGF 受容体 ON-OFF 機能変換を介した再生・病態・発癌制御の研究」 2,860 千円
2. 酒井克也：科学研究費補助金 基盤研究（若手）「3-D 上皮組織化モデルにおける動的細胞分化転換と形態形成の研究」 2,600 千円
3. 松本邦夫：地域産学官連携化学技術振興事業費補助金 ほくりく健康創造クラスター「医工融合による動脈硬化の診断と治療の先導的研究／血管病変部位の治療」 1,500 千円
4. 松本邦夫：科学研究費補助金 基盤研究（B）「3-D 浸潤性獲得と上皮形態形成制御を基盤とする腫瘍悪性化機構の研究」 7,280 千円
5. 松本邦夫：次世代がん研究推進プロジェクト「結晶構造を基盤とするリード化合物の最適化による低分子 HGF-Met 阻害剤の創製研究」 4,000 千円

＜共同研究＞

1. 大阪府立大学大学院理学系研究科 構造生物学 木下誉富准教授：結晶構造に基づく HGF-Met 系阻害剤創成の研究
2. 大阪大学大学院工学研究科 井上豪教授（構造物理化学）南方聖司教授（構造物質機能化学）：結晶構造に基づく HGF-Met 系阻害剤創成の研究
3. 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
4. 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：プロスタグランジン類による HGF 発現誘導を介した喘息治療の研究
5. 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：プロスタグランジン類による HGF 発現誘導を介した肺線維症・肺高血圧症治療の研究
6. 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：プロスタグランジン類による HGF 発現誘導を介した心筋梗塞・拡張型心筋症治療の研究
7. 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：プロスタグランジン類による HGF 発現誘導を介した膵島移植・糖尿病治療の研究
8. 横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科 宮崎香教授：がん細胞浸潤における TGF- β と HGF の相互作用
9. 金沢大学大学院医学系研究科（組織発達構築学）井関尚一教授・若山友彦准教授：精巣機能における HGF-Met 系の役割についての研究
10. 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
11. 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研究と臨床開発
他多数

がん分子標的探索プログラム

ゲノム分子病態研究分野

<研究スタッフ>

教 授 山本 健一

助 教 林 直之

助 教 小林 昌彦

学生（学部4年）田中 陽有

技能補佐員 武 紀代子

【 研 究 概 要 】

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。

<2012 年の研究成果, 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, あるいは発がんに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。我々は, ATM が DNA 二重鎖切断以外に, プロスタグランディン, 脂質, 核酸由来の代謝産物により活性化され, その ATM 活性化が DNA 塩基の修飾を介さない, ATM 蛋白に対する直接作用であることを見出した。さらに, このような DNA 損傷を介さない ATM の活性化は, Chk1 や Chk2 などの活性化は起こさないが, p53 の活性化や, 代謝ストレスセンサーである AMPK のリン酸化と, mTOR 活性化の指標である S6K リン酸化の抑制も引き起こすことを明らかにした。
- 2) 我々は, DNA 2 重鎖切断のセンサー因子 NBS1 が, DNA 複製損傷チェックポイント因子 ATR の下流の Chk1 のリン酸化や FancD2 のユビキチン化に必要であることを見出した。さらに, NBS1 の BRCT と FHA ドメインを含む N 末端と相互作用する ATR の部位を同定し, この ATR 部位の過剰発現により, NBS1 と ATR の結合を阻害した結果, Chk1 のリン酸化が抑制されることを示した。また NBS1 の N 端が *in vitro* で ATR を直接活性化することや, PCNA と融合した NBS1 の N 端の Rad17 ノックアウト細胞における強制発現により Chk1 のリン酸化が起こることなど, NBS1 が TOPBP1 とは独立して ATR を活性化できることを明らかにした。
- 3) NBS1 の相互作用因子として主要な CpG メチル化酵素である DNA(cytosine-5-)-methyltransferase 1(DNMT1)を分離した。NBS1 は, DNMT1 の活

性領域中の Target Recognition Domain で結合しており, NBS1 ではN末端にある FHA Domain が結合領域であった。DNMT1 は p53 に依存して Apoptosis 阻害因子 *survivin* の発現を DNA 複製異常の条件下で抑制する。我々はこの機能が NBS1 に依存していることを示した。

<今後の計画>

様々な代謝ストレスによるATMの活性化に関与するシステイン残基の同定と, その生理学的意義, 特に代謝ストレス応答異常とがん化における役割との関連について細胞レベルで検討すると共に, 最近その抗がん作用が注目されている糖尿病治療薬のメトフォルミンによるATM活性化とその活性化機序について検討する。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, 今後, NBS1によるDNMT1のメチル化活性制御の詳細な解析とさらにNBS1と相互作用する他の因子の分析と機能解析を行うと共に, 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>

原著論文

1. Kobayashi, M., Hayashi, N., Takata, M., and Yamamoto, K. NBS1 directly activates ATR independently of MRE1 and TOPBP1. Genes to Cells, in press, 2013 (研究室主体)
2. Shigechi, T., Tomida, J., Sato, K., Kobayashi, M., Eykelenboom, J., Pessina, F., Zhang, Y., Uchida, E., Lowndes, N. F., Yamamoto, K., Kurumizaka, H., Maehara, Y., & Takata, M. ATR-ATRIP kinase complex is responsible for triggering the FA pathway activation. Cancer Res. 72: 1149-1156, 2012 (共同研究)
3. Tomida, J., Itaya, A., Uchida, E., Shigechi, T., Unno, J., Ikura, M., Masuda, Y., Matsuda, S., Adachi, J., Kobayashi, M., Meetei, R., Maehara, Y., Yamamoto, K., Kamiya, K., Matsuura, A., Matsuda, T., Ikura, T., Ishiai, M., Smogorzewska, A., and Takata, M. The Fanconi anemia core complex promotes chromatin recruitment of ATRIP-ATR kinase following replication stress. Nucleic Acids Res., in press, 2013 (共同研究)

<学会発表>

1. 塩谷裕司, 小林昌彦, 松郷誠一, 山本健一: プロスタグランジン代謝物 15d-PGJ₂ による ATM 活性化機構。第 11 回予防環境医学研究会。2012 年 1 月, 川崎 (口頭)

2. 林直之, 小林昌彦, 山本健一: エピジェネティクス制御における NBS1 と DNA メチル化酵素 DNMT1 の機能。第 71 回日本癌学会。2012 年 9 月, 札幌 (口頭)
3. 小林昌彦, 林直之, 山本健一: DNA 複製異常時の ATR 活性化における NBS1 の直接的役割。第 71 回日本癌学会。2012 年 9 月, 札幌 (口頭)
4. 林直之, 小林昌彦, 山本健一: ATR 活性制御におけるチェックポイントタンパク質 NBS1 とテロメアタンパク質 TPP1 の相互作用。第 35 回日本分子生物学会。2012 年 12 月, 福岡 (口頭)
5. 林直之, 小林昌彦, 山本健一: Regulatory interactions between NBS1 and DNMT1 for epigenetical control. 第 3 回発がんスパイラル国際シンポジウム&金沢国際がん生物学シンポジウム。2013 年 1 月, 金沢 (ポスター)
6. 小林昌彦, 林直之, 山本健一: A direct role for NBS1 in ATR activation pathway induced by DNA replication stall. 第 3 回発がんスパイラル国際シンポジウム&金沢国際がん生物学シンポジウム。2013 年 1 月, 金沢 (ポスター)

<共同研究>

1. 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; 金沢大, 松郷誠一教授, 篁俊成准教授)
2. ATR 活成果における NBS1 の役割 (京都大, 高田穰教授)

シグナル伝達研究分野

<研究スタッフ>

教 授 善岡 克次

助 教 佐藤 時春

大学院生（博士課程） Anir Enkhbat（～H24.9）

大学院生（博士課程） Baljinnyam Tuvshintugs

大学院生（博士課程） Radnaa Enkhtuya 大学院生（博士課程） 宮田 大史

大学院生（修士課程） 石川 桃絵 大学院生（修士課程） 李 蓉

大学院生（修士課程） 望月 美希 大学院生（修士課程） 太田 雅樹

大学院生（修士課程） I Ketut Gunarta（H24.10～）

事務補佐員 大橋 智江

【 研 究 概 要 】

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

<2012 年の研究成果、進捗状況と今後の計画>

1. 紫外線誘導性アポトーシスにおける JLP の役割とその分子機構

JSAP1-ROCK1 シグナル伝達経路は、皮膚表皮における紫外線（UVB）誘導性アポトーシスを仲介することが報告されている（*Sci. Signal.*, 2008）。しかし、基底細胞特異的に Cre 組換え酵素を発現する K5-Cre マウスを用いて、JSAP1 コンディショナル

ノックアウト [JSAP1 cKO(K5-Cre)] マウスの作出・解析を行ったところ、足場タンパク質 JSAP1 は UVB 誘導性アポトーシスに関与していないことを示唆する結果が得られた。一方、JLP KO 及び JLP cKO(K5-Cre)マウスを用いた解析では、UVB 誘導性アポトーシスが有意に抑制された。現在、基底細胞特異的 JSAP1, JLP ダブル KO マウスの作出・解析を行っており、その予備的結果も JSAP1 の UVB 誘導性アポトーシスへの関与を支持していない。一方、UVB 誘導性アポトーシスの分子機構を明らかにするため、JLP cKO(K5-Cre)マウス由来のケラチノサイトやヒトケラチノサイト HaCaT 細胞を用いた解析を進めている。今後、マウス UVB 皮膚発がんにおける JLP の役割についても検討する予定である。

2. Shh-Gli 経路と MAPK 経路のクロストーク

小脳顆粒前駆細胞 (GCP) は、生後まもなく爆発的な増殖を始めるが、その際に強力なマイトジェンとして働くのはソニックヘッジホッグ (Shh) である。我々は、JSAP1-JNK 経路が GCP (髄芽腫の起源細胞と考えられている) の増殖抑制及び分化促進に関わることを、及び JSAP1 は bFGF/FGF-2 (GCP の分化誘導因子) に応答して JNK, ERK MAPK シグナル伝達系を空間的に制御することをすでに発表している。また昨年度、FGF 受容体-JNK シグナル伝達経路の活性化に伴って Gli1 タンパク質の発現レベルが減少することを見出した。本年は、様々な Gli1 変異体を用いた解析を行い、Gli1 において、これまでに報告されていない新たな領域が MAPK 経路とのクロストークに関与することを示唆する結果を得た。

3. JSAP1, JLP ダブル KO マウスの作出・解析

JSAP1, JLP の生理的機能の解明に向け、現在、様々な部位特異的 JSAP1, JLP ダブル KO マウスの作出・解析を行っている。これまでに、背側終脳特異的および小脳プルキンエ細胞特異的 JSAP1, JLP ダブル KO マウスを作製し、JSAP1, JLP 欠失は神経細胞死を引き起こすことを見出した。本年は、主に初代培養系を用いた解析を行い、JSAP1, JLP は Kinesin-1 依存的な軸索輸送の制御因子であり、JSAP1, JLP 欠失は JNK の異常な活性亢進を介して神経細胞死を誘導する、という予想外の結果を得た。

4. がん転移における転写因子 Gli1 の役割とその分子機構

転写因子 Gli1 (Shh シグナル伝達経路のエフェクター) ががんの転移に関与することは知られているが、その詳細については不明な点が多い。我々は、まず、B16 メラノーマ細胞 (低転移能株) において転写因子 Gli1 を安定に発現する細胞株の樹立を試みた。次に、受精鶏卵を用いて転移能を解析し、高転移能を示す Gli1 発現細胞株を見出した (金沢大学・遠藤良夫博士との共同研究)。今後、MAPK 経路とのクロストーク解析の結果を基に、変異 Gli1 を安定に発現する細胞株の樹立・解析を行う予定であ

る。また、転移能獲得のメカニズムを分子レベルで解明する糸口を得るために、網羅的遺伝子発現解析も計画している。

【 研 究 業 績 】

<発表論文>

原著（研究分野主体）

なし

原著（共同研究）

1. Liu, H.-X., Lopatina, O. (他 30 名, Yoshioka, K. は 20 番目) Displays of paternal mouse pup retrieval following communicative interaction with maternal mates. *Nat. Commun.* (in press) DOI: 10.1038/ncomms2336
2. Espinoza, J.L., Takami, A., Yoshioka, K., Nakata, K., Sato, T., Kasahara, Y., and Nakao, S. (2012) Human microRNA-1245 down-regulates the NKG2D receptor in natural killer cells and impairs NKG2D-mediated functions. *Haematologica* 97: 1295-1303.

<学会発表>

1. Tokiharu Sato, Baljinnyam Tuvshintugs, Anir Enkhbat, Rong Li, Katsuji Yoshioka
Cross talk between Shh-Gli and JSAP1-JNK signaling pathways in regulation of cell proliferation and differentiation
第 7 回研究所ネットワーク国際シンポジウム, 2012 年 6 月, 仙台
2. Miki Mochizuki, Tokiharu Sato, Katsuji Yoshioka
Functional analysis of the MAP kinase scaffold proteins JSAP1 and JLP in cortical neurons
第 11 回アジア太平洋神経化学学会大会・第 55 回日本神経化学学会大会, 2012 年 9 月, 神戸
3. Momoe Ishikawa, Tokiharu Sato, Masaki Ohta, Katsuji Yoshioka
Role of the MAP kinase scaffold proteins JSAP1 and JLP in cerebellar Purkinje cells
小脳プルキンエ細胞における足場タンパク質 JSAP1, JLP の役割
第 35 回 日本分子生物学会年会, 2012 年 12 月, 福岡
4. Baljinnyam Tuvshintugs, Tokiharu Sato, Katsuji Yoshioka
Role of JNK signaling pathway in the regulation of stability of transcription factor Gli1
第 35 回 日本分子生物学会年会, 2012 年 12 月, 福岡

<外部資金>

平成 24 年度

科学研究費補助金 基盤研究(C) (研究代表者: 善岡克次) 1,300 千円
「軸索輸送における足場タンパク質 JSAP の役割とその分子メカニズム」

<学内外との共同研究>

1. 共同研究者：福永 理己郎（大阪薬科大学）
「がん細胞の増殖における Mnk プロテインキナーゼと JSAP の機能的相互作用の解析」
2. 共同研究者：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」
3. 共同研究者：高松 信彦（北里大学）
「足場タンパク質 JSAP1, JLP の機能解析」
4. 共同研究者：井関 尚一（金沢大学）
「足場タンパク質 JSAP1, JLP の組織学的解析」

腫瘍制御研究分野

<研究室スタッフ>

教 授 源 利成

准教授 川上 和之

博士研究員 廣瀬 まゆみ

堂本 貴寛

大学院生（博士課程）

松之木 愛香（心肺総合外科学）

金子 真美（心肺総合外科学）

北村 祥貴（心肺総合外科学）

下崎 真吾（整形外科）

富田 泰斗（金沢医科大学一般・消化器外科学）

松井 大輔（がん局所制御学 6 月～）【研究指導の依頼】

大学院生（修士課程）伊藤 有美（4 月～）

技能補佐員 浅香 敦子

技能補佐員（ヒトがん組織バンク） 枡井 亜希子

技能補佐員（ヒトがん組織バンク） 中 みぎわ（～9 月）

共同研究員 小竹 優範（石川県立中央病院消化器外科）

【研究概要と成果】

消化器がんを中心に、がんの多様な分子細胞病態と腫瘍外科学的特性の解明を目指して、基礎・臨床橋渡し研究を実施している。なかでも、膵がん、膠芽腫、骨軟部肉腫と再発や転移を含む難治性がんと希少がんの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 経路に関わる新しい分子細胞機構の検討

Wnt 経路の制御破綻が固有のがん化シグナルを誘発する仕組みと、それを修飾する分子細胞機構について β -カテニンを中心に研究を進めている。そして、大腸がんの腫瘍-宿主境界の腫瘍環境で活性化される β -カテニンを機軸とするがん化シグナル回路の病理作用を明らかにしてきた。そのなかで、 β -カテニンが RNA 安定化因子 CRD-BP (coding region determinant-binding protein) を転写誘導することを同定した。本年は、大腸がん病巣における CRD-BP の発現と各種がん関連分子の mRNA 安定化による病的作用や臨床所見との関連について研究を継続している。

がん細胞における β -カテニン活性化の仕組みについて従来、その分解複合体の構成因子とユビキチン経路による蛋白質安定性の調節異常に焦点が当てられてきた。一方、 β -カテニン活性化の必須要件である核移送の仕組みやその細胞内微細構造の研究は未開の領域である。 β -カテニンの通過経路は核膜孔であり、30 種類の核膜孔複合体 (nuclear pore complex: NPC) 因子 (nucleoporins: Nups) から構成される。本年は、 β -カテニンの核移送に作用する Nup(s) を同定するために、複数の大腸がん細胞株と少数例の大腸がん組織を対象に両分子群の発現と局在の比較解析を開始した。

(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中心に異常活性を示す GSK3 β が腫瘍細胞の生存、増殖、遊走・浸潤を推進し、治療（抗がん剤、放射線）抵抗性を賦与することを発見した。そして、その阻害によるがん治療効果の分子機構の検討と難治がん治療の臨床研究を進めている。2009 年から GSK3 β 阻害医薬品の併用による再発膠芽腫治療の医師主導型第 I/II 相臨床研究 (UMIN: 000005111) を本学附属病院脳神経外科で実施し、本年までにその安全性と治療効果を確認した。今後、本学を中心に多施設臨床研究を構想し、厚労省科学研究費に応募する。進行腫瘍がんに対する同様の臨床研究 (UMIN: 000005095) は 2011 年 4 月から金沢医科大学病院集学的がん治療センターで開始され、現在も症例を登録、集積中で、その成果にもとづく新しい腫瘍がん治療法として共同出願を予定している。本年は研究対象を、希少かつ難治性の骨肉腫の治療と消化管実験発がん動物モデルに広げ、GSK3 β 阻害によるがん治療とがん（化学）予防効果についてそれぞれ本学整形外科、消化器外科と共同研究を開始した。

本酵素阻害によるがん治療効果の分子機構として、がん細胞の糖エネルギー代謝に及ぼす作用を検討している。これまでのメタボローム解析から、がん細胞特有の代謝 Warburg 効果における GSK3 β の責任作用を示唆する予備成果がえられている。現在、その中心的役割を担うと考えられる代謝酵素と GSK3 β の相互作用について機能解析を進めている。創薬への応用を考え、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のため、GSK3 β の代表的な基質であるグリコーゲン合成酵素とその第 641 セリンリン酸化ペプチド特異抗体を作成中である。

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、オーダーメイド治療を実現させることを目的に研究を進めている。大腸がんでは常用される 5-FU の個別化を実現した後、放射線治療や免疫治療を含めた集学的治療の個別化につなげることを目標にしている。本年は、がんのクロマチン構造が 5-FU の DNA 取り込みと修復過程に関与することを大腸がん細胞で解析した。この機構は thymidylate synthase (TS) 阻害による 5-FU の効果発現機構とは異なるため、がん細胞が両機構のいずれに反応性が高いかにより 5-FU の個別化が可能である。現在、臨床試験での検証を計画中である。

3. エピジェネティクスを標的にするがん診断・治療法の開発

大腸がんをモデルとして、発がん経路をジェネティック・エピジェネティックな変化により説明・細分類し、診断・治療に臨床応用することを直近の目的としている。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) やゲノム全体のメチル化状態の代用マーカーである LINE-1 を解析している。また、microsatellite instability (MSI), chromosomal instability などの表現型や K-ras, B-raf, APC 遺伝子変異等のジェネティック解析を順次追加し、大腸がん発癌経路の詳細を構築中である。本年は、LINE-1 のメチル化が大腸がんの進行に伴い変化する様式を、各臨床ステージのがん組織検体を用いて解析した。その結果、LINE-1 の低メチル化はがん進展の早期に確定し、がん浸潤や転移に伴っての変化は乏しいと考えられた。この結果から LINE-1 の低メチル化をターゲットしてがんの早期診断が可能と考えられる。現在、がん早期診断法開発を目的として、血液や便中の DNA メチル化解析を行っている。

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．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 年から本学附属病院，金沢医科大学病院と市中の基幹病院（金沢赤十字病院，石川県立中央病院）外科と連携して，本事業を開始した．2010 年にこの事業を当研究所ヒトがん組織バンクに継承し，大腸がんと胃がん患者様の手術検体から正常と病巣組織を系統的に集積している．本事業の概要は昨年までの当研究所年報を参照されたい．これらの組織・バイオバンクを利用して複数の共同研究が学内外で進行している．

【研究業績】

<論文発表>

原著

1. Kitano A, Shimasaki T, Chikano Y, Nakada M, Hirose M, Higashi T, Ishigaki Y, Endo Y, Takino T, Sato H, Sai Y, Miyamoto KI, Motoo Y, Kawakami K, Minamoto T. Aberrant glycogen synthase kinase 3 β is involved in pancreatic cancer cell invasion and resistance to therapy. *PLoS ONE*, in press.
2. Matsunoki A, Kawakami K, Kotake M, Kaneko M, Kitamura H, Ooi A, Watanabe G, Minamoto T. LINE-1 methylation shows little intra-patient heterogeneity in primary and synchronous metastatic colorectal cancer. *BMC Cancer*, in press.
3. Nakajima H, Koizumi K, Tanaka T, Ishigaki Y, Yoshitake Y, Yonekura H, Sakuma T, Fukushima T, Umehara H, Ueno S, Minamoto T, Motoo Y. Loss of HITS (FAM107B) expression in cancer of the multiple organs: a tissue microarray analysis. *Int J Oncol*, 2012. Jul 10. doi: 10.3892/ijo.2012.1550. [Epub ahead of print]
4. Loh M, Chua D, Yao Y, Soo RA, Zeps N, Platell C, Kawakami K, Minamoto T, Iacopetta B, Soong R. Can population differences in chemotherapy outcomes be inferred from differences in pharmacogenetic frequencies? *Pharmacogenomics J*, 2012 Jun 26. doi: 10.1038/tpj.2012.26. [Epub ahead of print].
5. Kong D, Piao YS, Oshima H, Oguma K, Minamoto T, Yamada Y, Sato K, Yamashita S, Ushijima T, Ishikawa T, Oshima M. Inflammation-induced repression of tumor suppressor miR-7 in gastric epithelial cells. *Oncogene* 31(35): 3949-60, 2012.
6. Shimasaki T, Ishigaki Y, Nakamura Y, Takata T, Nakaya N, Nakajima H, Sato I, Zhao X, Kitano A, Kawakami K, Tanaka T, Takegami T, Tomosugi N, Minamoto T, Motoo Y. Glycogen synthase kinase 3 β inhibition sensitizes pancreatic cancer cells to gemcitabine. *J Gastroenterol* 47(3): 321-33, 2012.
7. Mimura M, Masuda A, Nishiumi S, Kawakami K, Fujishima Y, Yoshie T, Mizuno S, Miki I, Ohno H, Hase K, Minamoto T, Azuma T, Yoshida M. AP1B plays an important role in intestinal tumorigenesis with the truncating mutation of an *APC* gene. *Int J Cancer* 130(5): 1011-20, 2012.

著書・総説

8. Shimasaki T, Kitano A, Motoo Y, Minamoto T. Aberrant glycogen synthase kinase 3 β in pancreatic cancer development, progression and resistance to therapy. *J Carcinog* 11: 15, 2012.
9. Nakada M, Furuta T, Hayashi Y, Minamoto T, Hamada JI. The strategy for enhancing temozolomide against malignant glioma. *Front Oncol* 2: 98, 2012.
10. Minamoto T, Kotake M, Nakada M, Shimasaki T, Motoo Y, Kawakami K. Distinct pathologic role for glycogen synthase kinase 3 β in colorectal cancer progression. In: *Colorectal Cancer Biology - From Genes to Tumor*, Rajunor Ettarh (Ed.), ISBN: 978-953-51-0062-1, pp. 107-34, 2012; InTech.

<学会発表>

国際学会

1. Toshinari Minamoto, Wei Mai, Satoru Kyo, Abbas Shakoori, Katsuyoshi Miyashita, Kenji Yokoi, Takeo Shimasaki, Yoshiharu Motoo, Kazuyuki Kawakami. Deregulated GSK3 β sustains gastrointestinal cancer cells by modulating hTERT and telomerase. 103rd Annual Meeting of American Association for Cancer Research (AACR 2012), March 31-April 4, 2012, Chicago, Illinois, U.S.A.
2. Aika Matsunoki, Kazuyuki Kawakami, Masanori Kotake, Mami Kaneko, Go Watanabe, Toshinari Minamoto. LINE-1 methylation level is a molecular marker with little intra-patient heterogeneity in primary and synchronous metastatic colorectal cancer. 103rd Annual Meeting of American Association for Cancer Research (AACR 2012), March 31-April 4, 2012, Chicago, Illinois, U.S.A.
3. Nakada M, Chikano Y, Sabit H, Furuta T, Miyashita K, Hayashi Y, Sato H, Kawakami K, Minamoto T, Hamada JI. Aberrant glycogen synthase kinase 3 β is involved in glioma invasion. 9th Meeting for the Asian Society for Neuro-Oncology, April 20-22, 2012, Taipei, Taiwan.
4. Domoto T. Cleavage of hepatocyte growth factor activator inhibitor-1 by membrane-type MMP-1 stimulates tumor invasive growth. The Joint Symposium of the 7th International Symposium of Institute Network (第6回附置研究所ネットワーク国際シンポジウム) and the 45th IDAC Symposium, the 2nd Symposium for Joint Usage/Research Center of Aging, June 14-15, 2012, Smart Ageing International Research Center, Institute of Development, Ageing and Cancer, Tohoku University, Sendai, Japan.
5. Kazuyuki Kawakami, Aika Matsunoki, Masanori Kotake, Mami Kaneko, Hiroataka Kitamura, Go Watanabe, Toshinari Minamoto. Knockdown of LINE-1 enhances sensitivity to 5-FU in LINE-1-hypomethylated colorectal cancer cell. 22nd Biennial Congress of the European Association for Cancer Research (EACR 22), July 7-10, 2012, Centre Convencions International Barcelona, Barcelona, Spain.
6. Nakada M, Hayashi Y, Miyashita K, Kinoshita M, Furuta T, Sabit H, Kita D, Hayashi Y, Uchiyama N, Kawakami K, Minamoto T, Hamada JI. Phase I/II study for recurrent glioblastoma with the drugs inhibiting GSK3 β . Society for Neuro-Onology 17th Annual Meeting 2011, November 15-18, 2012, Washington DC, U.S.A.
7. Pyko VI, Nakada M, Furuyama N, Lei T, Hayashi Y, Kawakami K, Minamoto T, Fedulau AS, Hamada JI. Glycogen synthase kinase 3 β inhibition sensitize human glioma cells to

temozolomide by means of c-myc signaling. Society for Neuro-Onology 17th Annual Meeting 2011, November 15-18, 2012, Washington DC, U.S.A.

国内学会

8. 島崎猛夫, 石垣靖人, 高田尊信, 川上和之, 上田順彦, 友杉直久, 小坂健夫, 源利成, 元雄良治. GSK3 β 標的治療と化学療法を併用する膵がんの新規治療戦略と分子基盤. 第 43 回日本膵臓学会大会, 2012 年 6 月 28-29 日, ホテルメトロポリタン山形, 山形市.
9. Shimasaki T, Kitano A, Minamoto T, Motoo Y. Aberrant glycogen synthase kinase 3 β is involved in pancreatic cancer cell invasion and resistance to therapy (島崎猛夫, 北野綾子, 源利成, 元雄良治. GSK3 β の異常活性に起因する膵がん細胞の浸潤と治療抵抗性). 第 10 回日本臨床腫瘍学会学術集会: IS1: Biomarker & Developmental Therapeutics (English Session), 2012 年 7 月 26-28 日, 大阪国際会議場, 大阪.
10. Mami Kaneko, Kazuyuki Kawakami, Masanori Kotake, Hiroataka Kitamura, Go Watanabe, Toshinari Minamoto. LINE-1 methylation level is a potential marker of the sensitivity to 5-FU plus oxaliplatin in colorectal cancer cells (金子真美, 川上和之, 小竹優範, 北村祥貴, 渡邊 剛, 源利成. LINE-1 メチル化は大腸がん細胞のオキザリプラチン・5-FU 併用処理への感受性と相関する). 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012 年 9 月 19-21 日, ロイトン札幌, さっぽろ芸文館, 札幌市教育文化会館, 札幌.
11. Takeo Shimasaki, Ayako Kitano, Yasuhito Ishigaki, Takanobu Takata, Kazuyuki Kawakami, Tsutomu Takegami, Naohisa Tomosugi, Toshinari Minamoto, Yoshiahu Motoo. GSK3 β is an emerging therapeutic target in pancreatic cancer: its implication for cancer cell migration and invasion (島崎猛夫, 北野綾子, 石垣靖人, 高田尊信, 川上和之, 竹上 勉, 友杉直久, 源利成, 元雄良治. 膵癌の新規治療標的としての glycogen synthase kinase (GSK) 3 β : がん浸潤に対する作用). 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012 年 9 月 19-21 日, ロイトン札幌, さっぽろ芸文館, 札幌市教育文化会館, 札幌.
12. ピコ イリア, 中田光俊, 古山奈月, 藤 雷, 林 裕, 川上和之, 源利成, Fedulau Aliaksandr S, 濱田潤一郎. Sensitizing human glioma cells to temozolomide by glycogen synthase kinase 3 β inhibition. 第 13 回日本分子脳神経外科学会, 2012 年 9 月 20-21 日, 熊本.
13. 島崎猛夫, 川上和之, 上田順彦, 小坂健夫, 友杉直久, 源利成, 元雄良治. GSK3 β 標的治療を併用した膵癌の新規治療戦略と分子基盤. 第 20 回 JDDW 2012 / 第 54 回日本消化器病学会大会, 2012 年 10 月 10-13 日, 神戸国際展示場・ポートピアホテル・神戸国際会議場, 神戸.
14. 小竹優範, 川上和之, 金子真美, 北村祥貴, 伴登宏行, 山田哲司, 源利成. 【優秀演題】大腸がんにおける microsatellite instability と CpG island methylator phenotype の解析. 第 20 回 JDDW 2012 / 第 10 回日本消化器外科学会大会, 2012 年 10 月 10-13 日, 神戸国際展示場・ポートピアホテル・神戸国際会議場, 神戸.
15. 宮下勝吉, 中田光俊, 林 裕, 渡邊卓也, 木下雅史, 古田拓也, 淑瑠へムラサビ, 喜多大輔, 林 康彦, 内山尚之, 川上和之, 源利成, 濱田潤一郎. 再発神経膠芽腫に対して GSK3 β 阻害作用を有する既存薬剤を用いた第 I・II 相臨床試験

における剖検例の免疫組織学的検討. 第 71 回日本脳神経外科学会総会, 2012 年 10 月 17-19 日, 大阪.

16. 中田光俊, 林 裕, 宮下勝吉, 木下雅史, 古田拓也, 淑瑠へムラサビット, 喜多大輔, 林 康彦, 内山尚之, 川上和之, 源 利成, 濱田潤一郎. GSK3 β 阻害作用を有する既存薬剤を用いた再発膠芽腫治療の第 I・II 相臨床試験, 第 50 回日本癌治療学会学術集会, 2012 年 10 月 25-27 日, パシフィコ横浜, 横浜.
17. 下崎真吾, 山本憲男, 林 克洋, 西田英司, 武内章彦, 丹沢義一, 木村浩明, 五十嵐健太郎, 稲谷弘幸, 源 利成, 土屋弘行. GSK-3 β 阻害にもとづく骨肉腫に対する分子標的治療の可能性. 第 27 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2012 年 10 月 26-27 日, 名古屋国際会議場, 名古屋.
18. 島崎猛夫, 北野綾子, 友杉直久, 川上和之, 源 利成. 【優秀演題】GSK3 β 異常活性による膵がんの浸潤と治療抵抗性. 第23回日本消化器癌発生学会総会, 2012 年11月15-16日, ルネッサンスリゾートナルト, 鳴門市.
19. 宮下勝吉, 中田光俊, 林 裕, 木下雅史, 古田拓也, 淑瑠へムラサビット, 渡邊卓也, 喜多大輔, 林 康彦, 内山尚之, 川上和之, 源 利成, 濱田潤一郎. 再発膠芽腫に対して GSK3 β 阻害作用を有する既存薬剤を用いた単施設第 I・II 相臨床試験. 第 30 回日本脳腫瘍学会, 2012 年 11 月 25 日-27 日, 広島

司会

20. 深町博史, 源 利成. シグナル伝達阻害剤 (3) / Signal transduction inhibitors (3). 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012 年 9 月 19-21 日, ロイトン札幌, さっぽろ芸文館, 札幌市教育文化会館, 札幌.
21. 源 利成, 今野雅允. ワークショップ 3 : 消化器癌とプロテアソーム・オートファジー. 第 23 回日本消化器癌発生学会, 2012 年 11 月 15-16 日, ルネッサンスリゾートナルト, 鳴門市.

講演, その他

22. 源 利成. がんを含む慢性進行性疾患の創薬標的 GSK3 β . 第 1 回富山大学和漢医薬学総合研究所・金沢大学がん進展制御研究所ジョイントセミナー, 2012 年 1 月 18 日, 富山大学和漢医薬学総合研究所民族薬物資料館, 富山.
23. 源 利成. 発がん学, がん医科学とがん医療—消化器がんを中心に—. がんにおける質の高い看護師育成研修会, 2012 年 1 月 18 日, 金沢大学附属病院, 金沢.
24. 源 利成. 大腸がん研究から開発した新しいがん治療法—分子基盤と膠芽腫治療への橋渡し—. 第 5 回金沢脳腫瘍セミナー, 2012 年 1 月 21 日, ホテル日航金沢, 金沢.
25. 源 利成. がん細胞の代謝特性と治療. 金沢医科大学大学院第 29 回医学研究セミナー, 2012 年 1 月 27 日, 金沢医科大学, 内灘町.

26. 源 利成. 難治がんの新しい治療法—膵がんと脳腫瘍への取り組み—. 金沢大学公開講座：がん研究の最前線, 2012 年 6 月 16 日, 金沢大学サテライト・プラザ(西町), 金沢.
27. 源 利成. がん医科学とがん医療—消化器がんを中心に—. がんにおける質の高い看護師育成研修会, 2012 年 10 月 18 日, 金沢大学附属病院, 金沢.
28. 源 利成. 大腸がん研究から発見したがん治療標的—金沢発膠芽腫治療法への展開—. STOP 学術講演会, 2012 年 11 月 22 日, 福井パレスホテル, 福井.

＜外部資金＞（2012 年が含まれる課題）

1. 2012 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
元雄良治（代表）源 利成, ほか（分担）
課題：GSK3 β 阻害による新規膵がん化学療法の開発と臨床試験
500 千円
2. 2012 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
小坂健夫（代表）源 利成, 川上和之, ほか（分担）
課題：大腸がんの分子病理学的特性の解析と診断, 治療のための分子指標の解明
750 千円
3. 2011－2013 年度 科学研究費補助金（基盤研究 B）：課題番号 23390321
川上和之（代表）源 利成（分担）曾我朋義（連携）
課題：ゲノムの低メチル化とレトロポゾンの活性化を特徴とする大腸がんの診断・治療開発
16,340 千円
4. 2011－2013 年度 科学研究費補助金（基盤研究 C）：課題番号 23591955
廣瀬まゆみ（代表）源 利成, 川上和之（分担）
課題：GSK3 β 阻害による消化器がん治療法の開発と分子機構の解明
4,550 千円
5. 2011－2012 年度 科学研究費補助金（挑戦的萌芽研究）：課題番号 23659643
源 利成（代表）川上和之（分担）曾我朋義（連携）
課題：がん特異的エネルギー代謝を標的とする消化器がん治療法の開発
3,340 千円
6. 2011－2013 年度 科学研究費補助金（基盤研究 C）：課題番号
中田光俊（代表）源 利成（連携）
課題：悪性グリオーマの浸潤シグナルを狙った分子標的療法の確立
4,550 千円
7. 2011－2013 年度 科学研究費補助金（基盤研究 C）：課題番号 23590898
中島日出夫（代表）源 利成, ほか（分担）
課題：がん温熱療法の新規分子マーカー候補 FAM107 ファミリー蛋白質の発現・機能解析
5,200 千円
8. 2011－2013 年度 科学研究費補助金（基盤研究 C）：課題番号 23591016
島崎猛夫（代表）源 利成, ほか（分担）

課題：化学療法により誘発される EMT 誘導因子の同定とその制御による膵がん
治療法の開発

5,200 千円

9. 2010－2012 年度 科学研究費補助金（基盤研究 A）：課題番号 20890086

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

41,990 千円

奨学寄附金

10. 2012 年 3 月 財団法人石川県予防医学協会 670 千円

11. 2012 年 3 月 財団法人石川県予防医学協会 400 千円

12. 2012 年 3 月 株式会社アルプ 147 千円

＜共同研究＞

1. 2012 年度 金沢大学がん研究所共同研究（一般）

金沢医科大学腫瘍内科学 元雄良治，島崎猛夫，ほか

課題：GSK3β阻害による新規膵がん化学療法の開発と臨床試験

2. 2012 年度 金沢大学がん研究所共同研究（一般）

金沢医科大学消化器外科学 小坂健夫，富田泰人，ほか

課題：大腸がんの分子病理学的特性の解析と診断，治療のための分子指標の解明

＜特許出願＞

なし

＜報 道＞

1. 小竹優範，ほか，川上和之，源 利成．北國がん基金 27 日に助成金贈呈式．解明，治療，確かな歩み．昨年 of 助成対象者の成果：組織のデータを蓄積．北國新聞 日刊，2012 年 9 月 21 日．

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

博士研究員 丹下 正一朗

事務補佐員 小田原 敦子

研究生 寺島 農

大学院生（博士課程）Zanabazar Enkhbaatar

大学院生（博士課程）Dulamsuren Oktyabri

【 研 究 概 要 】

レトロウイルス挿入変異によって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の探索を進めてきた。その結果，ヒストンや DNA のメチル化修飾に関わる酵素の遺伝子が，ウイルスの標的として高頻度に同定された。これらの酵素が引き起こすエピジェネティクス制御の異常は，可逆的に正常に戻すという治療戦略が想定されるため，次世代のがん治療の標的として注目される。現在，がんの発症・悪性化の様々なステップにおいて，これらメチル化制御酵素の果たす役割とその作用メカニズムを明らかにするために研究を進行している。

<2012 年の研究成果，進行状況と今後の計画>

1) がんの悪性進展過程におけるヒストンのメチル化制御酵素群の関与

がん細胞の浸潤をはじめ，上皮・間葉転換（EMT）や薬剤耐性などは，がんの悪性化や難治性の本態であり，これらを阻止するがんの治療法の開発は極めて重要である。挿入変異の標的として同定したヒストンのメチル化酵素（EZH2, SETD7, SMYD2 など）と脱メチル化酵素（JMJD5, PLU1, UTX, JMJD3 など）について，乳がん，肺がん，大腸がんなど様々ながん細胞株を用いて発現解析を行なった。その結果，細胞の浸潤能，上皮系・間葉系の特徴，抗がん剤耐性などの性質と相関性を示す発現様式をもつ酵素を複数同定することができた。また，酵素によって発現調節される標的遺伝子を探索する方法として，網羅的 cDNA シークエンスデータを情報学的に処理するデジタル発現プロファイル法を確立し，標的遺伝子候補のデータベースを作成した。

2) がん関連遺伝子候補 JMJD5 の機能解析

候補遺伝子のひとつ JMJD5 の生理機能や発がんにおける役割を解明するために，ノックアウト（KO）マウスを作製した。Jmjd5 null マウスは，胚性致死の表現系を示

し、その原因のひとつが、細胞周期制御因子 p21/Cdkn1a の異常な発現亢進であることを見いだした。マウス胚線維芽細胞を用いた解析からも JMJD5 が細胞増殖の制御に重要であることが示された。クロマチン免疫沈降解析の結果、JMJD5 は p21/Cdkn1a 遺伝子の転写領域上のヒストン H3K36 のメチル化状態を変化させて、その発現調節に関与することが明らかになった（文献 1）。さらに、p21/Cdkn1a 以外の p53 によって発現制御される標的遺伝子の解析や、Jmjd5 KO マウスと p53 KO マウスとの交配実験などから、JMJD5 が p53 シグナル経路を Fine-tuning する新しいタイプの制御因子であることを見いだした。また、JMJD5 は、ヒストンの脱メチル化酵素としてのほたらしき以外にも、転写制御因子 NFATc のユビキチン修飾に影響を与えて、骨細胞の分化を負に調節するという機能を持つこともわかった。（文献 2）。

3) 上皮-間葉転換 (EMT) に関与するヒストンのメチル化制御酵素

がん細胞の細胞浸潤能を亢進する活性を既に報告したヒストン H3K4 脱メチル化酵素 PLU1 が、細胞の EMT を誘導することを新たに見いだした。この際、EMT の誘導に重要な転写因子である ZEB1, ZEB2 の発現を抑制している microRNA-200 ファミリーの発現をヒストンのメチル化を介して調節することを証明した（投稿中）。一方、H3K27 脱メチル化酵素 JMJD3 は、その発現の低下が EMT を促進するが、同じ miR-200 ファミリーを標的としてその発現を調節することがわかった。すなわち、Bivalent なヒストンのメチル化修飾による microRNA のエピジェネティックな制御が、EMT の可逆的性質に関係している可能性が示された。さらに、PLU1, JMJD3 以外にも EMT に影響を与えるメチル化制御酵素を現在 3 種類同定しており、それぞれ異なるメカニズムでの作用が示唆されている。

4) 薬剤耐性獲得に関与するヒストンのメチル化制御酵素

分子標的治療薬イレッサに感受性の肺がん細胞株において、JMJD3 脱メチル化酵素をノックダウンすると、耐性獲得能が著しく上昇することをこれまでに検出してきた。この細胞株においても、miR-200 ファミリーの発現抑制に伴う転写因子 ZEB1, ZEB2 の発現上昇と EMT の誘導が観察された。したがって、JMJD3 ノックダウンによる薬剤耐性獲得の亢進メカニズムのひとつとして、EMT が重要な役割を果たしていることが示された。

5) がん細胞における DNA の脱メチル化に関与する酵素群の発現解析

TET ファミリー (TET1, 2, 3) タンパク質は、ゲノム DNA のメチル化されたシトシン (5mC) をヒドロキシメチル化 (5hmC) する酵素であり、DNA の積極的脱メチル化の第一段階を担う。様々な細胞、組織での TET ファミリー遺伝子の発現解析を行ったところ、TET1 酵素の発現と、細胞の EMT、幹細胞的性質、セネセンスとの関

係性を示す結果が得られた。また、TET1 自身の発現の制御に対する DNA のメチル化やヒストンのメチル化の関与も示唆された。がんにおける DNA の積極的脱メチル化の役割や、ヒストンと DNA のメチル化制御の新たな関係性を発見することを目指して、TET1 の機能解析を現在進行している。

【 研 究 業 績 】

< 発表論文 >

原著

(研究室主体)

1. Ishimura A, Minehata K, Terashima M, Kondoh G, Hara T and Suzuki T. Jmjd5, an H3K36me2 histone demethylase, modulates embryonic cell proliferation through the regulation of *Cdkn1a* expression. Development, 139, 749-759, 2012.

(共同研究)

2. Youn MY, Yokoyama A, Fujiyama-Nakamura S, Ohtake F, Minehata K, Yasuda H, Suzuki T, Kato S and Imai Y. JMJD5, a Jumonji C (JmjC) domain-containing protein, negatively regulates osteoclastogenesis by facilitating NFATc1 protein degradation. J. Biol. Chem., 287, 12994-13004, 2012.

著書・総説

1. 鈴木健之. “第 5 章造血系第 1 節 自然発症モデル BXH2 および AKxD マウス” 「疾患モデルの作製と利用 がん」中村卓郎編集, 399-408 頁, エル・アイ・シー, 2012

< 学会発表 >

国内学会

1. Suzuki T, Terashima M, Enkhbaatar Z, Oktyabri D, and Ishimura A. Functional characterization of histone modifying enzymes in the process of malignant progression of cancer. 第71回日本癌学会学術総会 (札幌2012年9月)
2. Oktyabri D, Terashima M, Enkhbaatar Z, Tange S, Ishimura A and Suzuki T. Functional analysis of histone demethylases in epithelial-mesenchymal transition of cancer cells. 第35回日本分子生物学会年会 (福岡2012年12月)
3. Ishimura A, Minehata K, Terashima M, Kondoh G, Hara T and Suzuki T. Jmjd5, an H3K36me2 histone demethylase, modulates embryonic cell proliferation through the regulation of p53-target genes expression. 第 35 回日本分子生物学会年会 (福岡 2012 年 12 月)
4. Tange S, Zhou Y and Nakanishi A. Signaling pathways that involve in human astroviral

infection. 第 35 回日本分子生物学会年会（福岡 2012 年 12 月）

一般対象

1. 鈴木健之, 金沢大学市民公開講座「ウイルス研究とがん」, 金沢 2012 年 6 月

＜外部資金＞

1. 文部科学省科学研究費補助金, 基盤研究 (C), 研究代表者 鈴木健之
研究課題名「ウイルス挿入変異法で同定されたエピゲノム制御因子による疾患発症機構の解析」 1,700 千円
2. 文部科学省科学研究費補助金, 新学術領域研究 (がん微小環境), 研究分担者 鈴木健之
研究課題名「呼吸器悪性腫瘍の微小環境の特性を標的とした新規制御法の開発」 1,000 千円
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
研究課題名「ウイルス挿入変異法で同定された新規がん関連遺伝子 Jmjd5 の機能解析」 1,400 千円

＜共同研究＞

1. 原 孝彦 副参事研究員 東京都医学総合研究所 ウイルス挿入変異によっ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. 今井 祐記 特任講師 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. 木村 宏 准教授 大阪大学大学院生命機能研究科 がんの悪性化に関与するヒストン修飾変化とその解析ツールの開発
4. 本田 浩章 教授 広島大学原爆放射線医科学研究所 がんの発症・悪性進展過程におけるヒストン脱メチル化酵素 JMJD3 の役割の解析
5. 小出 寛 准教授 金沢大学医薬保健研究域医学系 DNA 脱メチル化関連酵素の幹細胞およびがん細胞における役割の解析

がん分子標的医療開発プログラム

腫瘍内科研究分野

<研究スタッフ>

教 授	矢野 聖二	講 師	山田 忠明
准教授	安本 和生	助 教	毛利 久継
講 師	大坪 公士郎	助 教	衣斐 寛倫
助 教	山下 要	医 員	石川 大輔
助 教	竹内 伸司		
医 員	南條 成輝		
特任助手	北 賢二		
博士研究員	佐野 峻子	博士研究員	福田 康二
大学院生	中川 学之	大学院生	中出 順也
大学院生	ZHAO LU		
事務補佐員	岡本 恵子	事務補佐員	堂林 淳子

【 研 究 概 要 】

がん治療の最大の障壁は、転移と薬剤耐性である。当研究室では、肺がん、胸膜中皮腫、膵がん、胃がんについて、転移や浸潤の分子機構解明とそれに基づいた分子標的治療開発および薬剤耐性（自然耐性および獲得耐性）の克服に向けたトランスレーショナルリサーチを行っている。特にわが国のがん死亡原因第1位の肺がんにおいて、肝細胞増殖因子(HGF)による EGFR（上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害薬（EGFR-TKI：イレッサやタルセバ）耐性の診断および治療法確立を目指し総力を挙げて研究を進めている。

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。

<2012 年の研究成果、進捗状況>

1. HGF は、1) Met/PI3K/Akt の活性化による EGFR-TKI 耐性の誘導、2) Met 遺伝子増幅細胞の増殖による EGFR-TKI 耐性の促進、3) T790M に起因する耐性克服薬である不可逆型 EGFR-TKI 耐性の誘導という、3つの異なる機構で EGFR 変異肺がんの EGFR-TKI 耐性を誘導する。Met 阻害薬である E7050 が HGF による3つの耐性機構を阻害することを明らかにした。また、変異 EGFR 選択的 TKI と E7050 の併用療法は T790M, Met 増幅, HGF いずれによる耐性も解除することや, Hsp90 阻害薬は単独でも HGF による耐性を制御しうることを報告した。（中川, 佐野, 石川, 竹内, 山田, 矢野）
2. 本年日本で EML4-ALK 肺がんに対し認可された ALK 阻害薬クリゾチニブも、獲得耐性が生じることが臨床的問題となっている。ALK 二次的変異によるクリゾチニブ耐性を克服する第2世代の選択的 ALK 阻害薬に対しても、いずれ耐性が生じることが容易に想像される。第2世代 ALK 阻害薬の耐性を宿主由来の EGFR リガンドや HGF が誘導することを明らかにした。また、EGFR 阻害薬や Met 阻害薬により、それぞれの耐性が解除できることを示した。（山田, 竹内, 中川, 南條,

北, 矢野)

3. HGF が EGFR 変異肺がんからの VEGF 産生を増強し, 血管新生を促進することにより, EGFR-TKI 耐性化させるとともに進展を促進していることを明らかにした。さらに, Met および VEGFR-2 阻害活性を有する E7050 が, HGF による血管新生と EGFR-TKI 耐性を阻害し, EGFR 変異肺がんにおいて EGFR-TKI の治療効果を増強することを報告した。(竹内, 中川, 佐野, 山田, 北, 矢野)
4. T790M による EGFR-TKI 耐性の治療標的として, EGFR 選択的足場蛋白である Aki-1 に着目し, EGFR 変異肺がんにおいては Aki-1 が恒常的に EGFR に会合し, Akt を介した生存シグナル伝達に寄与していることを明らかにした。さらに, Aki-1 のノックダウンにより, T790M により EGFR-TKI 耐性となった EGFR 変異肺がんの増殖を抑制できることを *in vitro* および *in vivo* のモデルで明らかにした。(山田, 中川, 南條, 竹内, 北, 矢野)
5. 進行肺がんに対し, ジェムザール+TS-1 併用(GS)療法とジェムザール単独(G)療法の治療効果を検討する多施設共同臨床第2相試験(117例)に施設別第5位となる5症例を登録し, GS療法が奏効率(28.3% vs 6.8%), 病勢制御率(64.2% vs 44.1%), 全生存期間(13.7ヶ月 vs 8.0ヶ月)においてG療法より有意に優れていることを報告した。(毛利, 大坪, 山下, 安本, 矢野)

<今後の計画>

1. HGF による EGFR-TKI 耐性肺がん症例の実用的な診断法を確立する。
2. BIM 遺伝子多型による EGFR-TKI 耐性を克服する治療法を開発する。
3. 金沢大学附属病院呼吸器外科と協力し, 240 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。
4. *in vivo* イメージングを用いた肺がんの脳転移および骨転移モデルを確立し, 分子機構解析および治療法開発を推進する。
5. 胸膜中皮腫に対する血管新生因子や新規がん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。
6. 肺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。
7. 骨転移治療薬であるゾレドロンートによる発熱を予測する実用的な検査法を確立する。
8. 原発不明がんの初回化学療法および二次化学療法の有効性を検証する多施設共同臨床試験を実施する。

【 研 究 業 績 】

< 発表論文 >

原著論文

(研究室主体)

1. Nakagawa T, Takeuchi S, Yamada T, Ebi H, Sano T, Nanjo S, Ishikawa D, Sato M, Hasegawa Y, Sekido Y, Yano S. EGFR-TKI resistance due to BIM polymorphism can be circumvented by in combination with HDAC inhibition. **Cancer Res** 2013 ; 73(8):2428-34.
2. Sano T, Takeuchi S, Nakagawa T, Ishikawa D, Nanjo S, Yamada T, Nakamura T, Matsumoto K, Yano S. Novel PI3K-mTOR inhibitor, BEZ235, circumvents erlotinib-resistance of EGFR mutant lung cancer cells triggering by HGF. **Int J Cancer** 2013 ;133(2):505-13.
3. Wang W, Li Q, Takeuchi S, Yamada T, Koizumi H, Nakamura T, Matsumoto K, Mukaida N, Nishioka Y, Sone S, Nakagawa T, Uenaka T, Yano S. Met Kinase Inhibitor E7050 Reverses Three Different Mechanisms of Hepatocyte Growth Factor-induced Tyrosine Kinase Inhibitor Resistance in EGFR Mutant Lung Cancer. **Clin Cancer Res** 2012 ; 18(6):1663-71.
4. Yamada T, Takeuchi S, Nakade J, Kita K, Nakagawa T, Nanjo S, Nakamura T, Matsumoto K, Soda M, Mano H, Uenaka T, Yano S. Paracrine receptor activation by microenvironment triggers bypass survival signals and ALK inhibitor-resistance in EML4-ALK lung cancer cells. **Clin Cancer Res** 2012 ; 18(13):3592-602.
5. Takeuchi S, Wang W, Li Q, Yamada T, Kita K, Donev IS, Nakamura T, Matsumoto K, Shimizu E, Nishioka Y, Sone S, Nakagawa T, Uenaka T, Yano S. Dual inhibition of Met kinase and angiogenesis to overcome HGF-induced EGFR-TKI resistance in EGFR mutant lung cancer. **Am J Pathol** 2012;181(3):1034-43.
6. Ohtsubo K, Watanabe H, Mouri H, Yamashita K, Yasumoto K, Yano S. Endoscopic findings of upper gastrointestinal lesions in patients with pancreatic cancer. **JOP** 2012;13(4):420-6.
7. Nakagawa T, Takeuchi S, Yamada T, Nanjo S, Ishikawa D, Sano T, Kita K, Nakamura T, Matsumoto K, Suda K, Mitsudomi T, Sekido Y, Uenaka T, Yano S. Combined therapy with mutant-selective EGFR inhibitor and Met kinase inhibitor for overcoming erlotinib resistance in EGFR mutant lung cancer. **Mol Cancer Ther** 2012;11(10):2149-57.

8. Yamada T, Takeuchi S, Fujita N, Nakamura A, Wang W, Li Q, Oda M, Mitsudomi T, Yatabe Y, Sekido Y, Yoshida J, Higashiyama M, Noguchi M, Uehara H, Nishioka Y, Sone S, Yano S. Akt kinase-interacting protein1, a novel therapeutic target for lung cancer with EGFR activating and gatekeeper mutations. **Oncogene** [Epub ahead of print]
9. Koizumi H, Yamada T, Takeuchi S, Nakagawa T, Kita K, Nakamura T, Matsumoto K, Suda K, Mitsudomi T, Yano S. Hsp90 inhibition overcomes HGF-triggering resistance to EGFR-TKIs in EGFR-mutant lung cancer by decreasing client protein expression and angiogenesis. **J Thorac Oncol** 2012; 7(7): 1078-85.
10. Yamada T, Takeuchi S, Kita K, Bando H, Nakamura T, Matsumoto K, Yano S. Hepatocyte growth factor induces resistance to anti-epidermal growth factor receptor antibody in lung cancer. **J Thorac Oncol** 2012; 7(2):272-80.
11. 山田忠明, 大坪公士郎, 石川大輔, 南條成輝, 竹内伸司, 毛利久継, 山下要, 安本和生, 矢野聖二. Gefitinibが有効であった上皮成長因子受容体（EGFR）遺伝子変異陽性原発不明癌の1症例. **癌と化学療法** 2012; 39(8):1291-4.
12. 山下要, 石川大輔, 南條成輝, 竹内伸司, 山田忠明, 毛利久継, 大坪公士郎, 安本和生, 熊谷将史, 上田善道, 矢野聖二. Cisplatin/Irinotecan併用療法が有効であった大腸原発小細胞癌, 多発肝転移の1例. **癌と化学療法** 2012; 39(9):1427-30.

(共同研究)

1. Uramoto H, Yamada T, Yano S, Kondo N, Hasegawa S, Tanaka F. Prognostic value of acquired resistance-related molecules in Japanese patients with NSCLC treated with an EGFR-TKI. **Anticancer Res** 2012; 32(9):3785-90.
2. Kurai J, Chikumi H, Hashimoto K, Takata M, Sako T, Yamaguchi K, Kinoshita N, Watanabe M, Touge H, Makino H, Igishi T, Hamada H, Yano S, Shimizu E. Therapeutic antitumor efficacy of anti-epidermal growth factor receptor antibody, cetuximab, against malignant pleural mesothelioma. **Int J Oncol** 2012; 41(5):1610-8.
3. Nishi T, Kawabata Y, Hari Y, Imaoka H, Ishikawa N, Yano S, Maruyama R, Tajima Y. A case of pancreatic neuroendocrine tumor in a patient with neurofibromatosis-1. **World J Surg Oncol** 2012; 10(1):153.
4. Uramoto H, Yano S, Tanaka F. T790M is associated with a favorable prognosis in Japanese patients treated with an EGFR-TKI. **Lung Cancer** 2012; 76(1):129-30.
5. Ozaka M, Matsumura Y, Ishii H, Omuro Y, Itoi T, Mouri H, Hanada K, Kimura Y, Maetani I, Okabe Y, Tani M, Ikeda T, Hijioka S, Watanabe R, Ohoka S, Hirose Y, Suyama

- M, Egawa N, Sofuni A, Ikari T, Nakajima T. Randomized phase II study of gemcitabine and S-1 combination versus gemcitabine alone in the treatment of unresectable advanced pancreatic cancer (Japan Clinical Cancer Research Organization PC-01 study). **Cancer Chemother Pharmacol** 2012; 69(5):1197-204.
6. 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 in in vitro culture. **Cell Biol Int** 2012;36(6):545-53.
 7. Tajima H, Ohta T, Shinbashi H, Hirose A, Tsukada T, Okamoto K, Nakanuma S, Sakai S, Furukawa H, Makino I, Nakamura K, Hayashi H, Oyama K, Inokuchi M, Nakagawara H, Miyashita T, Fujita H, Takamura H, Ninomiya I, Kitagawa H, Fushida S, Fujimura T, Mouri H, Ohtsubo K. Successful treatment of unresectable gallbladder cancer with low-dose paclitaxel as palliative chemotherapy after failure of gemcitabine and oral S-1: A case report. **Oncol Lett** 2012; 4(6):1281-4.
 8. Corcoran RB*, Ebi H*, Turke AB, Coffee EM, Nishino M, Cogdill AP, Brown RD, Della Pelle P, Dias-Santagata D, Hung KE, Flaherty KT, Piris A, Wargo JA, Settleman J, Mino-Kenudson M, Engelman JA. EGFR-mediated re-activation of MAPK signaling contributes to insensitivity of BRAF mutant colorectal cancers to RAF inhibition with vemurafenib. **Cancer Discovery** 2012;2(3):227-35. (*; co-first author)
 9. Chen Z, Cheng K, Walton Z, Wang Y, Ebi H, Shimamura T, Liu Y, Tupper T, Ouyang J, Li J, Gao P, Woo MS, Xu C, Yanagita M, Altabef A, Wang S, Lee C, Nakada Y, Peña CG, Sun Y, Franchetti Y, Yao C, Saur A, Cameron MD, Nishino M, Hayes DN, Wilkerson MD, Roberts PJ, Lee CB, Bardeesy N, Butaney M, Chirieac LR, Costa DB, Jackman D, Sharpless NE, Castrillon DH, Demetri GD, Jänne PA, Pandolfi PP, Cantley LC, Kung AL, Engelman JA, Wong KK. A murine lung cancer co-clinical trial identifies genetic modifiers of therapeutic response. **Nature** 2012; 483(7391):613-7.
 10. Corcoran RB, Cheng KA, Hata AN, Faber AC, Ebi H, Coffee EM, Greninger P, Brown RD, Godfrey JT, Cohoon TJ, Song Y, Lifshits E, Hung KE, Shioda T, Dias-Santagata D, Singh A, Settleman J, Benes CH, Mino-Kenudson M, Wong KK, Engelman JA. Synthetic lethal interaction of combined BCL-XL and MEK inhibition promotes tumor regressions in KRAS mutant cancer models. **Cancer Cell** 2012 [Epub ahead of print]
 11. Xu L, Kikuchi E, Xu C, Ebi H, Ercan D, Cheng KA, Padera R, Engelman JA, Jänne PA, Shapiro GI, Shimamura T, Wong KK. Combined EGFR/MET or EGFR/HSP90 inhibition is effective in the treatment of lung cancers codriven by mutant EGFR containing T790M and MET. **Cancer Res** 2012;72(13):3302-11.

総説

1. Yano S, Takeuchi S, Nakagawa T, Yamada T. Ligand-triggered resistance to molecular targeted drugs in lung cancer: Roles of hepatocyte growth factor and epidermal growth factor receptor ligands. **Cancer Sci** 2012; 103(7):1189-94.
2. Ebi H, Mitsudomi T. Oncogenic Driver Mutations. Chapter 5 **Lung Cancer Therapy Annual** 7,2012
3. Faber AC, Ebi H, Costa C, Engelman JA. Apoptosis in targeted therapy responses: the role of BIM. **Adv Pharmacol** 65:519-42, 2012.
4. 矢野聖二. EGFRチロシンキナーゼ阻害薬の耐性. **薬事** 54 (8) 1289-93,2012.
5. 矢野聖二. EGFR-TKI耐性の分子メカニズム. **医学のあゆみ** 240 (13) : 1065-72,2012.
6. 大坪公士郎, 北川裕久, 蒲田敏文. 肺癌診断における超音波内視鏡 (endoscopic ultrasonography: EUS) の役割. **画像と病理の対比から学ぶ肺癌診療アトラス** 41-69, 2012.
7. 毛利久継, 矢野聖二. 蛋白尿. **作用軽減化 新薬開発** : 160-3,2012.
8. 山田忠明. 非小細胞肺癌におけるHGFによるEGFR阻害薬耐性の機構解明とその克服. **金沢大学十全医学会雑誌** 121(1) : 18-22,2012.
9. 山田忠明, 矢野聖二. 肺癌の治療—非小細胞肺癌の化学療法,分子標的薬の進歩; 耐性克服と新たな治療ターゲット. **「Mebio」肺癌治療 2012** 29(7) : 71-77,2012.
10. 山田忠明, 矢野聖二. がんのheterogeneity—分子標的薬耐性から見た肺癌のheterogeneity. **実験医学** 31(1) 33-38,2013.
11. 衣斐寛倫. Oncogene addictionとnon-oncogene addiction. **がん分子標的治療** 10(3):180-187,2012.
12. 衣斐寛倫, 光富徹哉. 腺癌の分子標的治療について : EGFR変異およびALK陽性肺癌の診断と標的治療. **臨床と病理** 30(5),2012.
13. 衣斐寛倫, 光富徹哉. 肺癌 術後補助化学療法が適応となる症例と,期待される効果 (特集 術後補助化学療法 : 臨床現場ではどう行われているのか) -- (がん種毎にみた術後補助化学療法の施行規準と使用レジメン) **臨床腫瘍プラクティス** 8(1): 8-11,2012.
14. 南條成輝, 山田忠明, 竹内伸司, 矢野聖二. 血管新生阻害薬による胸水マネージ

メント. 分子呼吸器病 16(1) 68-71,2012.

15. 中川学之, 矢野聖二. 新たな標的となる遺伝子とその変異, 新薬 HGF/Metを標的とした分子標的薬の現状. 最新医学 (67) : 1465-74,2012.

<学会発表・国内>

1. 第 109 回日本内科学会総会・講演会 毛利久継, 石川大輔, 南條成輝, 竹内伸司, 山田忠明, 大坪公士郎, 山下 要, 安本和生, 矢野聖二. 原発不明癌に対する CBDCA/TXT併用化学療法を検討. 2012 年 4 月 京都
2. 第 52 回日本呼吸器学会学術講演会 山田忠明. HGFによるEGFR変異陽性肺がんの薬剤耐性に対するHsp90 阻害薬の治療効果. 2012 年 4 月 神戸
3. 第 52 回日本呼吸器学会学術講演会 南條成輝. 遷延性・慢性咳嗽コルセットによる鎮咳野効果の多施設共同第 2 相試験. 2012 年 4 月 神戸
4. 第 52 回日本呼吸器学会学術講演会 当センターにおけるBevacizumab治療の使用経験. 石川大輔, 山田忠明, 南條成輝, 竹内伸司, 毛利久継, 大坪公士郎, 山下 要, 安本和生, 矢野聖二. 2012 年 4 月 神戸
5. 第 48 回日本腹部救急医学会総会 大坪公士郎, 毛利久継, 山下 要, 安本和生, 永井圭一, 南哲弥, 蒲田敏文, 松井 修, 西川昌志, 矢野聖二. CTにて出血源を特定し, IVRにて止血しえた大腸憩室出血の 1 例. 2012 年 3 月 金沢
6. 第 35 回日本呼吸器内視鏡学会学術集会 南條成輝, 佐野峻子, 竹内伸司, 山田忠明, 矢野聖二. 気管支鏡細胞診微量検体におけるNested RT-PCR法を用いた EML4-ALK融合遺伝子の検出. 2012 年 5 月 東京
7. 第 43 回日本膵臓学会大会 大坪公士郎. 非アルコール性早期慢性膵炎における超音波内視鏡 (EUS) による診断と臨床的検討. 2012 年 6 月 山形
8. 第 16 回日本がん分子標的治療学会 山田忠明, 竹内伸司, 中川学之, 南條成輝, 間野博行, 矢野聖二. EML4-ALK肺がんの肝細胞増殖因子による新たなALK阻害薬耐性機構. 2012 年 6 月 北九州
9. 第 16 回日本がん分子標的治療学会 竹内伸司, 矢野聖二. 分子標的薬に対する側副経路活性化による耐性メカニズム. 2012 年 6 月 北九州
10. 第 16 回日本がん分子標的治療学会 石川大輔, 竹内伸司, 佐野峻子, 中川学之, 山田忠明, 松本邦夫, 矢野聖二. mTOR阻害薬は, EGFR変異陽性肺癌でのHGFによ

るEGFR-TKI耐性を克服する. 2012 年 6 月 北九州

11. 第 16 回日本がん分子標的治療学会 佐野峻子, 竹内伸司, 石川大輔, 中川学之, 山田忠明, 松本邦夫, 矢野聖二. PI3K/mTOR阻害薬BEZ235 によるEGFR遺伝子変異肺がん細胞におけるHGF誘導性薬剤耐性の克服効果. 2012 年 6 月 北九州
12. 第 21 回日本がん転移学会学術集会・総会 安本和生, 山田忠明, 矢野聖二. 腹膜播腫 がん微小環境からみた臓器特異的転移機序の解析並びに新規標的分子阻害. 2012 年 7 月 広島
13. 第 21 回日本がん転移学会学術集会・総会 南條成輝, 山田忠明, 竹内伸司, 矢野聖二. 非小細胞肺癌におけるHGFによる抗EGFR抗体感受性. 2012 年 7 月 広島
14. 第 10 回日本臨床腫瘍学会学術集会 矢野聖二. Molecular mechanisms of EGFR-TKI resistance and strategy with HGF-Met inhibitors to overcome the resistance. 2012 年 7 月 大阪
15. 第 10 回日本臨床腫瘍学会学術集会 安本和生, 竹内伸司, 山田忠明, 毛利久継, 山下 要, 大坪公士郎, 矢野聖二. 骨髄機能低下を伴う進行再発大腸癌に対してCapecitabine + Bevacizumab 療法使用により重篤な合併症なく奏効が得られた 2 例. 2012 年 7 月 大阪
16. 第 10 回日本臨床腫瘍学会学術集会 大坪公士郎, 石川大輔, 南條成輝, 竹内伸司, 山田忠明, 毛利久継, 山下 要, 安本和生, 矢野聖二. 膵癌, 胃癌, 大腸癌の同時性 3 重複癌に対しS-1 が奏功し, 膵外分泌不全による吸収不良症候群にパンクレリパーゼが著効した 1 例. 2012 年 7 月 大阪
17. 第 10 回日本臨床腫瘍学会学術集会 山田忠明, 矢野聖二. The resistance to EGFR-TKIs in lung cancer. 2012 年 7 月 大阪
18. 第 10 回日本臨床腫瘍学会学術集会 衣斐寛倫. EGFR-mediated re-actoin of MAPK signaling contributes to insensitivity of BRAF mutant colorectal cancers to RAF inhibition. 2012 年 7 月 大阪
19. 第 10 回日本臨床腫瘍学会学術集会 中川学之, 竹内伸司, 山田忠明, 矢野聖二. Met kinase inhibitor E7050 reverses three different mechanisms of hepatocyte growth factor-induced tyrosine kinase inhibitor resistance in EGFR mutant lung cancer. 2012 年 7 月 大阪
20. 第 71 回日本癌学会学術集会 矢野聖二. Ligand-stimulated receptor activation as novel targets to overcome resistance to molecular targeted drugs in lung cancer. 2012 年 9 月 札幌

21. 第 71 回日本癌学会学術集会 安本和生, 山田忠明, 川島篤弘, Lu Zhao, 矢野聖二. EGFR ligands promote peritoneal carcinomatosis in CXCR4-expressing gastric cancer. 2012 年 9 月 札幌
22. 第 71 回日本癌学会学術集会 山田忠明, 竹内伸司, 藤田直也, 矢野聖二. Akt kinase-interacting protein 1, a novel therapeutic target for lung cancer with EGFR activating mutations. 2012 年 9 月 札幌
23. 第 71 回日本癌学会学術集会 衣斐寛倫. EGFR activation induced by Vemurafenib contributes to its insensitivity colorectal cancers harboring BRAF mutation. 2012 年 9 月 札幌
24. 第 20 回日本消化器関連学会週間 安本和生. CXCR4 胃癌癌性腹膜炎発症機序の分子生物学的解明並びに新規標的治療法の開発. 2012 年 10 月 神戸
25. 第 20 回日本消化器関連学会週間 大坪公士郎. 膵癌における新規足場蛋白Akt kinase-interacting protein 1(Aki 1)の発現と臨床病理学的検討. 2012 年 10 月 神戸
26. 第 50 回日本癌治療学会学術集会 安本和生. XP療法が奏功した胃癌腹膜播腫の一例. 2012 年 10 月 横浜
27. 第 53 回日本肺癌学会総会 山田忠明, 竹内伸司, 中出順也, 中川学之, 南條成輝, 石川大輔, 曾田学, 間野博行, 矢野聖二. LigandによるALK肺がんのALK阻害薬耐性機構の解明とその克服. 2012 年 11 月 岡山
28. 第 53 回日本肺癌学会総会 南條成輝, 山田忠明, 竹内伸司, 矢野聖二. 次世代 EGFR-TKI耐性克服における新規分子標的薬Crizotinibの有用性. 2012 年 11 月 岡山
29. 第 53 回日本肺癌学会総会 中出順也, 竹内伸司, 中川学之, 山田忠明, 矢野聖二. 新規Met/VEGFR2 阻害薬TAS-115 はEGFR変異肺癌のHGFによるEGFR-TKI耐性を克服する. 2012 年 11 月 岡山
30. 第 53 回日本肺癌学会総会 中川学之, 竹内伸司, 山田忠明, 矢野聖二. BIM遺伝子多型に起因したEGFR-TKI耐性のHDAC阻害薬との併用による克服. 2012 年 11 月 岡山

<学会発表・国際>

1. AACR-ISLAC joint conference on Molecular Origins of Lung Cancer: Biology, Therapy, and Personalized Medicine. Nakagawa T, Takeuchi S, Yamada T, Kita K, Yano S. E7050, a Met kinase inhibitor, reverses three different mechanisms of hepatocyte growth

- factor-induced resistance to tyrosine kinase inhibitors in EGFR mutant lung cancer cells. 2012 年 1 月 San Diego, USA.
2. The 16th Japanese Foundation for Cancer Research International Symposium on Cancer Chemotherapy. (JFCR-ISCC) Yamada T, Yano S. Hepatocyte growth factor induces resistance to anti-epidermal growth factor receptor antibody in lung cancer. 2012 年 1 月 Tokyo.
 3. AACR Annual Meeting 2012. Yamada T, Koizumi H, Takeuchi S, Nakagawa T, Yano S. Heat Shock protein 90 inhibition overcomes hepatocyte growth factor-triggering resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in EGFR mutant lung cancer by decreasing client protein expression and angiogenesis. 2012 年 4 月 Chicago, USA.
 4. AACR Annual Meeting 2012. Nanjo S, Yamada T, Takeuchi S, Yano S. Hepatocyte growth factor induces resistance to anti-epidermal growth factor receptor antibody in lung cancer. 2012 年 4 月 Chicago, USA.
 5. WJOG 4th International Symposium Program. Ebi H. Resistance mechanism of EGFR-TKI. 2012 年 4 月 Fukuoka.
 6. AACR Molecularly Targeted Therapies: Mechanisms of Resistance Conference. Yano S. Paracrine receptor activation by microenvironment triggers bypass survival signals and ALK inhibitor-resistance in EML4-ALK lung cancer cells. 2012 年 5 月 San Diego, USA
 7. 5th Asia Pacific Lung Cancer Conference.(APLCC) Yano S. Strategy to treat EGFR-TKI resistance in EGFR mutant lung cancer. 2012 年 11 月 Fukuoka.
 8. 5th Asia Pacific Lung Cancer Conference. (APLCC) Yamada T. Paracrine receptor ligands activate bypass tracts and cause ALK inhibitor resistance in EML4-ALK lung cancer cells. 2012 年 11 月 Fukuoka.
 9. 5th Asia Pacific Lung Cancer Conference. (APLCC) Nanjo S. Combined therapy with next generation EGFR inhibitor and Met kinase inhibitor for overcoming the resistance in EGFR mutant lung cancer. 2012 年 11 月 Fukuoka.
 11. The 17th Japanese Foundation for Cancer Research International Symposium on Lung Cancer Chemotherapy. (JFCR-ISCC) Ebi H. Receptor tyrosine kinases exert dominant control over PI3K signaling in human KRAS mutant colorectal cancers. 2012 年 12 月 Tokyo.
 12. The 17th Japanese Foundation for Cancer Research International Symposium on Lung Cancer Chemotherapy. (JFCR-ISCC) Nakagawa T, Takeuchi S, Yamada T, Yano S.

Epigenetic circumvention of EGFR-TKI resistance due to BIM deletion polymorphism by HDAC inhibitor and EGFR-TKI. 2012 年 12 月 Tokyo.

<外部資金>

1. 次世代がん研究 文部科学省
矢野聖二
研究代表者
分子標的薬の感受性・耐性を規定する新たな分子機構の解明 20,000 千円
2. 新学術領域 日本学術振興会
矢野聖二
研究代表者
呼吸器悪性腫瘍の微小環境の特性を標的とした新規制御法の開発 11,000 千円
3. 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
中皮腫の進展におけるAggrusの関与を解明する研究 8,500千円
4. 基盤研究（B）日本学術振興会
矢野聖二
研究代表者
肺がんの転移と分子標的薬耐性を克服する統合的研究 7,400千円
5. 基盤研究（C）日本学術振興会
安本和生
研究代表者
HGF/c-MET axisとHB-EGFを標的とした胃癌標的治療法の開発 1,100千円
6. 若手研究（B）日本学術振興会
山田忠明
研究代表者
新規足場蛋白Aki1を標的としたEGFR遺伝子変異肺癌の制御法開発 1,500千円
7. 挑戦的萌芽研究 日本学術振興会
毛利久継
研究代表者
ゾレドロネート投与と発熱およびサイトカイン産生に関する検討 1,200千円
8. 若手研究（B）日本学術振興会
竹内伸司
研究代表者
Rasシグナル活性化変異を有する原発性肺癌を標的とした新規治療法の開発
1,200千円
9. 挑戦的萌芽研究 日本学術振興会

北 賢二

研究代表者

肺癌脳転移の Metastasis initiating cell 1,200 千円

10. 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

腫瘍脈管系を標的としたがん浸潤転移とがん幹細胞制御法の確立 1,500 千円

11. 共同研究 大鵬薬品工業

矢野聖二

研究代表者

肺がんにおける EGFR-TKI の耐性機構の解明 4,762 千円

12. 共同研究 エーザイ

矢野聖二

研究代表者

肺癌領域におけるエーザイ品を中心とした新たな治療戦略・レジメ開発

1,420 千円

13. 共同研究 協和発酵キリン

矢野聖二

研究代表者

抗 GM2 抗体の活性評価 95.3 千円

<共同研究>

1. がん研究会がん化学療法センター 基礎研究部 藤田直也

「中皮腫の進展における Aggrus の関与を解明する研究」

2. 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 呼吸器・膠原病内科 西岡安彦

「悪性胸膜中皮腫に対する特異的免疫療法の開発」

3. エーザイ株式会社 上仲俊光

「肺癌領域におけるエーザイ品を中心とした新たな治療戦略・レジメ開発」

4. 大鵬薬品工業 宇津木照洋

「肺癌における TKI の耐性機構の解明」

5. 愛知県がんセンター 胸部外科 光富徹哉

「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」

6. 愛知県がんセンター 分子腫瘍部 関戸好孝

「胸膜中皮腫に対する新規分子標的治療法を開発する研究」

7. 安田女子大学薬学部薬学科生命薬学講座 柳原五吉

「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」

8. 兵庫県立尼崎病院呼吸器外科 糸井和美, 岩切章太郎

「胸膜中皮腫の分子標的の臨床検体における解析」

9. 協和発酵キリン
「悪性中皮腫に対する抗 GM2 抗体の活性評価」
10. 特殊免疫研究所
「肺がんの EGFR-TKI 治療の効果予測における血液中 HGF および関連因子
測定の意義を検討する研究」
11. 筑波大学医学医療系呼吸器内科 石井 幸雄
「新たなる EGFR-TKI 耐性機構としての Keap1/Nrf2 システム-その遺伝子診断や
治療への応用」

中央実験施設

中央実験施設

＜研究スタッフ＞

准教授	黒木 和之	准教授	遠藤 良夫
准教授	久野 耕嗣		
助 教	天野 重豊		
技術補佐員	久保 周子		

【研究概要】

中央実験施設では、がん研究所共同利用施設および中央研究室の運営に関わると共に、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の雌生殖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。

＜2012年の研究成果、進行状況と今後の計画＞

B型肝炎ウイルスの増殖と感染の分子機構（黒木）

肝炎、肝がん発生の原因ウイルスであるB型肝炎ウイルスのLife cycleを理解することは、このウイルスの感染・増殖を阻止する新たな方策を探る上で大切である。HBV感染の分子メカニズム解明のため、HBV感染培養細胞系樹立を進めていく。本年はより安全なHBV感染と迅速・簡便な検出のため、自立的な増殖能を欠損し、かつ、GFP等感染成立の指標となるマーカー遺伝子を組み込んだ組換えHBVベクターの構築を行った。正常肝細胞によく似た遺伝子発現プロファイルを持つ各種培養細胞を得ることができたので感染能等について検討するとともにHBV感染研究に適した均質な肝細胞を大量に得ることが期待されるiPSCの樹立についても進めている。

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-アミノレブリン酸を用いる光線力学的治療（5-ALA-PDT）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。本年は、独自に樹立した5-ALA-PDT耐性株における遺伝子発現プロファイルの解析結果から、PEPT1の発現の低下とABCG2の発現亢進が耐性獲得に関与していることが確認された。その一方で、PEPT1とABCG2の発現変化を伴わない耐性株も見出され、それらの耐性細胞では鉄やカチオン性アミノ酸、モノカルボン酸の膜輸送に関与するsolute carrier familyのトランスポーターの遺伝子発現が低下していること、ABCG2と同様に抗がん剤の多剤耐性に関与する輸送担体や化学物質、脂質などを排出するABCトランスポータ

一の発現が亢進していることが明らかになった。

〈今後の計画〉5-ALA-PDT 耐性株における遺伝子発現プロファイルの解析により得られた耐性化に関与すると考えられる新規候補遺伝子の機能解析を行い、感受性規定因子としての有用性を検討する。5-ALA-PDT 効果増強剤の探索研究を継続的に実施すると共に、効果増強の作用機序の解明とそれに基づく誘導体の開発を展開する。

ADAMTS-1 の雌生殖機能における役割の解析（久野）

ADAMTS-1^{-/-}マウス（129/B6 遺伝子背景）は、腎盂尿管移行部閉塞症と酷似した表現型を示し、排卵過程、卵胞生育過程、卵巢髄質部の血管形成、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出ししている。また ADAMTS-1^{-/-}マウスの子宮平滑筋では、KCl、オキシトシン等に対する収縮応答性が低下していることを見出ししているが、今回その原因を明らかにするため、L 型 Ca チャンネルや uterotonic 受容体等の遺伝子発現について解析を行った。その結果、L 型 Ca チャンネル遺伝子の妊娠 19 日目の子宮組織における発現量は、ADAMTS-1^{-/-}および野生型マウスの間で有意差は認められなかった。一方、妊娠 19 日目分娩直前の ADAMTS-1^{-/-}マウス子宮におけるオキシトシン受容体 mRNA 量は、野生型マウスと比較して有意に低下していることがわかった。このことから、ADAMTS-1^{-/-}マウスでは、分娩前のオキシトシン受容体遺伝子の発現誘導が不十分なために、オキシトシンに対する収縮応答性が低下しており、このことが分娩異常の一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他の子宮収縮調節因子や ECM 構成成分の変化、子宮頸管熟化過程について解析を行い、ADAMTS-1 の分娩過程全般における役割を明らかにする。

Mast cell の進化について（天野）

進化の過程で、動物は様々な生体防御システムを発達させてきたが、なかでも血球による免疫系は極めて重要な役割を担っている。非自己を認識し異物排除の役割を持つ貪食細胞は、最初が多細胞生物である海綿動物の中膠に見られる。血管を持つ最初の動物は環形動物で、貪食能を備えた血球が血流に乗って全身を巡り異物を排除している。それ故血球の起源は中膠の貪食細胞と考えられている。その後無脊椎動物で血球は徐々に進化してきたが、脊椎動物になって様々な機能を持った多様な血球が現れてきた。そのうちの一つ mast cell も特に脊椎動物で発達したが、その元になった血球は明らかでなかった。Mast cell の形態は特徴的で、細胞質中にぎっしりと顆粒がある。またアレルギーを引き起こす血球としてよく知られている。近年 mast cell は自然免疫系ばかりでなく、獲得免疫系でも重要な働きを持っていることが明らかにされてきた。その起源については、これまで無脊椎動物に mast cell があるかどうか明らかでなかったが、ホヤ類で形態的及び機能的に mast cell

類似の血球を見いだした。それはホヤの顆粒性血球で、その顆粒にヘパリン様分子及びヒスタミンが存在することを証明した。さらにこの血球は哺乳類の mast cell と同様に、compound 48/80 に反応して顆粒を細胞外に放出した。これらの結果は、無脊椎動物ですでに mast cell と呼び得る血球が現れていることを示している。しかし放出されたヘパリンやヒスタミンが、ホヤ類でどのような機能を持っているかは明らかでなく、今後の課題である。

【 研 究 業 績 】

< 発表論文 >

(研究室主体)

1. Hagiya Y, Endo Y (equal contribution), Yonemura Y, Okura I, Ogura S: Tumor Suppressor Protein p53-dependent Cell Death Induced by 5-Aminolevulinic Acid (ALA)-based Photodynamic Sensitization of Cancer cells in Vitro. ALA-Porphyrin Science (ISSN 2187-1639), 2012; 1: 23-31.
2. Hagiya Y, Endo Y (equal contribution), Yonemura Y, Takahashi K, Ishizuka M, Abe F, Tanaka T, Okura I, Nakajima M, Ishikawa T, Ogura S: Pivotal Roles of Peptide Transporter PEPT1 and ATP-Binding Cassette (ABC) Transporter ABCG2 in 5-Aminolevulinic Acid (ALA)-Based Photocytotoxicity of Gastric Cancer Cells in Vitro. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2012 Sep;9(3):204-14.

(共同研究)

1. Yonemura Y, Elnemr A, Endou Y, Ishibashi H, Mizumoto A, Miura M, Li Y: Effects of neoadjuvant intraperitoneal/systemic chemotherapy (bidirectional chemotherapy) for the treatment of patients with peritoneal metastasis from gastric cancer. Int J Surg Oncol. 2012;2012:148420. Epub 2012 Jul 31.

総説および著書

1. 遠藤良夫：プリンおよびピリミジン系代謝拮抗薬の作用機序，耐性化と造血腫瘍での使い分け。“特集 血液内科領域における抗腫瘍薬の作用機序・副作用に基づく使い分け”，血液内科 65(4), 511-522, 2012.
2. Kuno K: ADAMTS-1. In *the Handbook of Proteolytic Enzymes* (The third edition), eds. Neil D Rawlings & Guy Salveson. (Oxford, Elsevier Science), 2013

<学会発表>

1. 黒木和之, 石川隆 : Inhibition of the activity of DHBV core promoter by Retinoid-related orphan receptor α (ROR α) 第35回日本分子生物学会年会 2012年12月 (福岡, 福岡国際会議場)
2. 遠藤良夫, 小倉俊一郎, 萩谷祐一郎, 米村豊, 石塚昌宏, 井上克司, 高橋究, 中島元夫: 5-アミノレブリン酸を用いるがんの光線力学的療法感受性と膜輸送系の関連性 日本薬学会第132年会 2012年3月30日(札幌, 北海道大学) 口演
3. 田中大地, 宇都義浩, 安部千秋, 遠藤良夫, 前澤博, 原田浩, 増永慎一郎, 堀均: 腫瘍移植鶏卵における低酸素腫瘍の同定とエタニダゾールのin vivo放射線増感活性の評価 日本薬学会第132年会 2012年3月29日(札幌, 北海道大学)
4. Yoshio Endo, Shun-ichiro Ogura, Yutaka Yonemura, Masahiro Ishizuka, Katsushi Inoue, Kiwamu Takahashi, Motowo Nakajima, Masashi Kimura: Molecular mechanism underlying ALA-PDT resistance in human cancer cells 第71回日本癌学会学術総会2012年9月 (札幌, ロイトン札幌, 札幌市教育文化会館)
5. Yutaka Yonemura, Yoshio Endo, Shun-ichiro Ogura, Akiyoshi Mizumoto, Haruki Ishibashi, Candy Emel: Visualization and detection small PC by 5-aminolevulinic acid (5-ALA) 第71回日本癌学会学術総会2012年9月 (札幌, ロイトン札幌, 札幌市教育文化会館)
6. Evaluation of *in vivo* antioxidative activity of O-TEMPO-RNP using our newly developed chicken egg assay: Yoshihiro Uto, Chiaki Abe, Toru Yoshitomi, Yukio Nagasaki, Yoshio Endo and Hitoshi Hori The 16th biennial meeting for the Society for Free Radical Research International (SFRRI) 6-9 September 2012 (Imperial College's SOUTH KENSINGTON campus, London, UK)
7. 宇都義浩, 田中大地, 野口智帆, 原田 浩, 遠藤良夫, 前澤 博, 増永慎一郎, 堀 均 : HIF-1-GFP 発現系を利用した腫瘍移植鶏卵における低酸素領域の解析と放射線による分布変化の観察 第18回癌治療増感研究会 2012年6月9日(土) (大阪, 大阪大学吹田キャンパス)
8. 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 の子宮筋機能における役割の解析」 第35回日本分子生物学会年会 2012年12月 (福岡, 福岡国際会議場)

<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 (65万円)
2. 厚生労働科学研究費補助金 B型肝炎創薬実用化等研究事業 分担: 黒木和之 (1,100万円)

3. 科学研究費補助金（基盤研究C）代表：遠藤良夫（110万円）
4. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 分担：遠藤良夫（30万円）
5. 産学官連携共同研究（平成23年8月～平成24年3月1件）代表：遠藤良夫（30万円）

<共同研究>

1. HBV エンベロープタンパク質と相互作用する細胞膜表面分子の網羅的探索（大阪大学大学院医学系研究科ウイルス学）（黒木和之）
2. 5-ALA を用いた転移性胃癌の術中診断および治療法の開発（東工大・フロンティア研究機構，徳島大・ソシオテクノサイエンス研究部，SBI アラプロモ，NPO 腹膜播種治療支援機構）（遠藤良夫）
3. アミノレブリン酸投与後の腫瘍特異的ポルフィリン蓄積メカニズムの細胞レベルでの解明（東工大・フロンティア研究機構）（遠藤良夫）
4. 受精鶏卵を用いる放射線増感剤感受性試験の確立
ヒトがん細胞を用いた抗転移性低酸素サイトトキシン類の開発（徳島大・ソシオテクノサイエンス研究部）（遠藤良夫）
5. 腹膜偽粘液腫の本邦における発生頻度・病態の解明・治療法の開発（NPO 腹膜播種治療支援機構）（遠藤良夫）
6. 脳腫瘍における 5-ALA-PDT の感受性規定因子（金沢大・医・脳外）（遠藤良夫）



基礎統計

決算額（運営費交付金）

（単位：千円）

区 分		平成 20 年度	平成 21 年度	平成 22 年度	平成 23 年度	平成 24 年度
運営費交付金		531, 217	723, 893	507, 414	564, 308	624, 321
内 訳	人 件 費	454, 245	388, 901	386, 797	411, 774	475, 998
	物件費等	76, 972	334, 992	120, 617	152, 534	148, 323

科学研究費補助金（間接経費含む）

（単位：千円）

研究種目	平成 20 年度		平成 21 年度		平成 22 年度		平成 23 年度		平成 24 年度	
	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額
特定領域研究	9	46, 600	8	44, 200	1	3, 500	0	0	0	0
新学術領域研究					2	47, 840	5	65, 520	5	60, 710
基盤研究（A）	0	0	0	0	1	16, 510	1	14, 560	2	26, 910
基盤研究（B）	7	46, 670	8	50, 700	8	45, 500	7	43, 290	5	35, 620
基盤研究（C）	5	8, 840	5	8, 450	7	12, 090	9	15, 210	11	17, 745
挑戦的萌芽研究	0	0	1	1, 500	3	5, 600	4	8, 840	4	4, 810
若手研究（S）	1	21, 307	0	0	0	0	0	0	0	0
若手研究（A）	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
若手研究（B）	4	8, 060	5	13, 390	7	13, 130	9	20, 800	9	16, 640
研究活動スタート支援	3	5, 239	1	1, 560	1	1, 260	1	1, 508	0	0
特別研究員奨励費	3	2, 400	2	1, 800	3	2, 700	1	900	1	900
最先端・次世代研究開発支援プログラム					2	20, 150	2	149, 500	2	78, 390
合 計	32	139, 116	30	121, 600	35	168, 280	39	320, 128	39	241, 725

外部資金（間接経費含む）

（単位：千円）

研究種目	平成 20 年度		平成 21 年度		平成 22 年度		平成 23 年度		平成 24 年度	
	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額
受託研究	7	112, 388	8	125, 161	7	89, 060	7	82, 343	7	123, 460
受託事業経費	1	20, 000	1	20, 000	1	18, 000	2	17, 668	1	16, 600
民間等との共同研究	9	10, 875	2	2, 499	4	12, 850	5	8, 285	3	6, 570
寄附金	22	26, 324	23	23, 614	27	32, 897	22	30, 018	16	24, 774
合 計	39	169, 587	34	171, 274	39	152, 807	36	138, 314	27	171, 404

土地・建物

区 分		研究所
建築面積		894 m ²
建物延床面積	鉄骨コンクリート造	(6F) 5,072 m ²

教育活動

大学院生・研究生数

平成 25 年 5 月 1 日現在

				プログラム				合計 (人)
				がん幹細胞研究	がん微小環境研究	がん分子標的探索	がん分子標的医療開発	
大学院生	医薬保健学総合研究科	修士課程	I					26
			II		1			
		博士課程	I	1	1	1	1	
			II		2			
			III					
			IV					
	医学系研究科	博士課程	I					
			II					
			III	4	2	1	4	
			IV	2	1	5		
	自然科学研究科	前期課程	I	2	2	1		11
			II		1	1		
		後期課程	I	1		1		
			II			1		
			III			1		
研究生（特別研究学生含む）				2	1	3		6

※平成 24 年度に医学系研究科から医薬保健学総合研究科へ改組

交流協定校

平成 25 年 5 月 1 日現在

交流協定校	協定大学・部局等名	国（都市名）
大学間交流協定	蘇州大学	中国（蘇州）
	四川大学	中国（成都）
	ハルビン医科大学	中国（ハルビン）
	釜山国立大学校	韓国（釜山）
	バルナ医科大学	ブルガリア（バルナ）
	モンゴル国立大学	モンゴル（ウランバートル）
部局間交流協定	韓国科学技術研究院遺伝工学研究所	韓国（大田）
	モンゴル科学アカデミー生物学研究所	モンゴル（ウランバートル）
	復旦大学上海がん病院	中国（上海）

各種シンポジウム開催状況

1. 共同利用・共同研究拠点シンポジウム

目 的：共同利用・共同研究拠点「がんの転移・薬剤耐性に関わる先導的共同研究拠点」としての活動を推進するため、シンポジウムを開催する。平成24年度は、がん進展制御研究所が4-5年に一度実施している外部評価の一環として「がん悪性進展克服のための標的分子研究と革新治療」と題して開催。

日 時：平成24年10月31日（水）
13：30～18：05

場 所：金沢大学自然科学系図書館 大会議室
来場者数：90人

プログラム：

- ①「ヒストンのメチル化制御とがんの悪性化」
鈴木 健之（金沢大学がん進展制御研究所）
- ②「RBがん制御遺伝子のエピジェネティック機能」
高橋 智明（金沢大学がん進展制御研究所）
- ③「生活歴を刻むエピジェネティック異常とその機構」
牛島 俊和（国立がん研究センター研究所）

- ④「がんの発生・進展過程と線維化」
向田 直史（金沢大学がん進展制御研究所）
- ⑤「肺がんの分子標的薬耐性のメカニズムとその克服」
矢野 聖二（金沢大学がん進展制御研究所）
- ⑥「EML4-ALKがん遺伝子の発見と分子標的療法の実現」
間野 博之（自治医科大学）



2. 金沢国際がん生物学シンポジウム

目 的：がん及びがん関連分野の基礎及び臨床研究の国際的な交流と研究協力を促進することを目的としている。

日 時：平成25年1月24日（木）
13：00～17：50
平成25年1月25日（金）
9：00～16：30

場 所：金沢エクセルホテル東急

来場者数：421名（2日間延べ）

プログラム：

①セッションⅠ：

Tumor Promotion & Prevention

大島 正伸（金沢大学がん進展制御研究所）

Dingzhi Wang (MD アンダーソンがんセンター・米国)

渋谷 和子（筑波大学）

②セッションⅡ：

Oncoprotein & Tumor Suppressor 1

畠山 正則（東京大学）

Patrick Mehlen（リヨン大学・仏国）

③セッションⅢ：

Oncoprotein & Tumor Suppressor 2

月田 早智子（大阪大学）

伊藤 嘉明（シンガポール大学・シンガポール）

④セッションⅣ：Cancer & Stem Cell

平尾 敦（金沢大学がん進展制御研究所）

Nick Barker (A-STAR Inst, Medical Biol・シンガポール)

佐谷 秀行（慶応義塾大学）

⑤セッションⅤ：Young Scientist Presentation

北嶋 俊輔（金沢大学がん進展制御研究所）

石村 明彦（金沢大学がん進展制御研究所）

馬場 智久（金沢大学がん進展制御研究所）

仲 一仁（金沢大学がん進展制御研究所）

⑥セッションⅥ：Innate Immunity & Cancer

瀬谷 司（北海道大学）

今村 龍（金沢大学がん進展制御研究所）

谷口 維紹（東京大学）

⑦セッションⅦ：

ECM & Tumor Microenvironment

佐藤 博（金沢大学がん進展制御研究所）

Ilaria Malanchi (Cancer Research UK, 連合王国)



3. 青少年・市民公開講座

文部科学省科学研究費補助金新学術領域「がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動」青少年・市民公開講座実施委員会主催、がん進展制御研究所共催

目 的：最先端のがん研究の現状および将来のがん研究の方向性について石川県内の高校生を対象に発信し、がん研究の意義や重要性を理解してもらい、次世代のがん研究者を開拓する。

日 時：平成24年11月17日（土）
13：30～16：40

場 所：金沢歌劇座 展示棟2階大会議室

来場者数：約270人

プログラム：がん研究の現在・未来
～STAND UP TO CANCER～

①高校生のためのがん研究入門

石川 冬木（京都大学大学院生命科学研究科 教授）

②感染や炎症で引き起こされる「がん」

大島 正伸（金沢大学がん進展制御研究所 教授）

③肺がん治療の最前線

矢野 聖二（金沢大学がん進展制御研究所 教授）

④がんの“根っこ”の話－幹細胞の観点から－

平尾 敦（金沢大学がん進展制御研究所 教授）

⑤「がん哲学」とはなにか

樋野 興夫（順天堂大学医学部 教授）



4. 金沢大学がん進展制御研究所・富山大学和漢医薬学総合研究所交流セミナー

目 的：本研究所及び和漢医薬学総合研究所がそれぞれの共同利用・共同研究拠点としてのお互いの特色を生かし、セミナーを通じて研究交流を深めることで「がん研究と和漢薬研究の先導的共同研究」の発展を目指す。

日 時：第2回 平成24年7月19日（木）
9：30～12：20

第3回 平成25年2月14日（木）
13：20～18：00

2月15日（金） 9：30～12：00

場 所：

第2回 金沢大学自然科学系図書館 AVホール

第3回 金沢エクセルホテル東急

来場者数：第2回 約100人

第3回 約140人（2日間延べ）

第2回プログラム：

①がんの発症・悪性化におけるヒストンのメチル化制御

鈴木 健之（金沢大学がん進展制御研究所・教授）

②伝統薬物研究から導かれた、脊髄損傷を改善する新たな分子機序の発見

東田 千尋

（富山大学和漢医薬学総合研究所・准教授）

③RBがん抑制遺伝子のメタボリック機能

高橋 智聡（金沢大学がん進展制御研究所・教授）

④がん治療における漢方薬の役割

柴原 直利

（富山大学和漢医薬学総合研究所・教授）

⑤がん細胞の3-D浸潤とクロマチン制御

酒井 克也（金沢大学がん進展制御研究所・助教）

第3回プログラム：

①シンポジウムの序：生理活性タンパク質・医薬・ベンチャー

松本 邦夫（金沢大学がん進展制御研究所）

②オープンイノベーションによる画期的新薬の創生 アカデミア創薬への期待

坂田 恒昭（大阪大学・塩野義製薬）

③日本発の医薬品創出へ向けてーアカデミア・PMDAの取り組み

矢守 隆夫（医薬品医療機器総合機構）

④創薬オープンイノベーションネットワークの構築

岡部 隆義（東京大学）

⑤伝統薬物をベースとしたアカデミア創薬

東田 千尋（富山大学和漢医薬学総合研究所）

特別講演1

スタチンの発見と創薬の心

遠藤 章（バイオフาร์ม研究所 所長）

⑥フリーツールを活用した低コスト化合物バーチャルスクリーニング技術

青木 俊介（九州工業大学）

⑦構造生物学と創薬

木下 誉富（大阪府立大学）

特別講演2

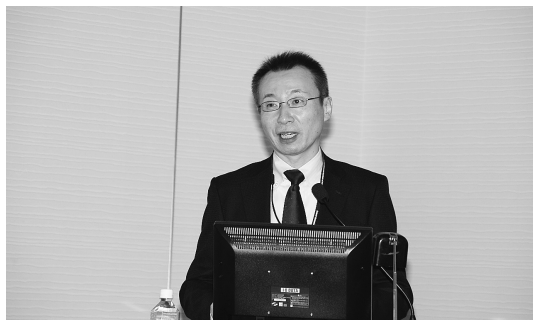
予測の科学：IT創薬と福島事故から考えること

児玉 龍彦（東京大学）

第2回



第3回





金沢大学がん進展制御研究所年報2012年

[発行] 金沢大学がん進展制御研究所

〒920-1192 石川県金沢市角間町 TEL : 076-264-6700(代) FAX : 076-234-4527

URL <http://www.kanazawa-u.ac.jp/~ganken/>