



金沢大学がん進展制御研究所

年報2013年



金沢大学がん進展制御研究所年報2013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/>

金沢大学がん進展制御研究所
年報 2013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、がん転移を誘導する蛋白分解酵素の発見、がんの転移や浸潤に関与する生体応答機構の解明、がん幹細胞特性を制御する分子基盤の解明、分子標的薬の耐性機構の解明など、基礎研究と臨床研究を一体的に推進し、本研究所は大きな成果を挙げて来ました。

これらの成果を踏まえるとともに、がんによる死亡率の多くを占める「転移」や「薬剤耐性」の克服を目指し、がん進展機構の本態を解明することこそが、研究所の重要な使命と考えています。このミッションを遂行するため、「がん幹細胞」「がん微小環境」の制御機構を解明し、新たな標的分子を特定するため、平成 22 年度に「がん幹細胞研究」「がん微小環境研究」「がん分子標的探索」「がん分子標的医療開発」の 4 つの研究プログラムからなる研究組織へ改組しました。さらに、基礎部門の角間キャンパスへの移転を契機に、当研究所にて開発された研究資源や、設置された設備を共同利用資源として整備し、学内外のがん研究者との共同研究の推進を行ないました。そして、平成 23 年度より「がんの転移・薬剤耐性に関する先導的共同研究拠点」として全国共同利用・共同研究拠点として認定され、拠点活動を展開しています。この認定を契機に研究所の名称を「がん進展制御研究所」へ変更し、がん進展機構に焦点をあてた研究のミッションを一層明確にしました。

また、我々は次世代のがん研究者の育成・開拓も重要な研究所のミッションと位置づけています。平成 25 年度には、日本学術振興会の「頭脳循環を加速する若手研究者戦略的海外派遣プログラム」に採択され、若手研究者の世界最先端の研究室への派遣を実施しています。また、「テニュアトラック普及・定着事業」の採択によるテニュアトラック教員を新規採用し、金沢大学の支援による女性研究者 *skilled specialist* を新規採用するなど、若手研究者および女性研究者の育成・開拓を積極的に実施しています。

国際的連携では、平成 25 年度に、韓国ソウル大学がん研究所との研究所間協定を締結し、平成 23 年の中国復旦大学がん研究所との協定とともに、東アジア地域におけるがん研究ネットワークを強化しました。

このような取組みを通して、我々は受け継いだ研究所の研究水準を高く保ちながら、がん進展機構研究の国際的な中核的研究施設となることを目指して、教職員一丸となって鋭意努力しています。ここに、本年度の取組みを金沢大学がん進展制御研究所年報として報告致します。

金沢大学がん進展制御研究所長 大島正伸

金沢大学がん進展制御研究所年報 2013 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	22

がん微小環境研究プログラム

細胞機能統御研究分野	28
分子生体応答研究分野	32
免疫炎症制御研究分野	38
腫瘍動態制御研究分野	42

がん分子標的探索プログラム

分子病態研究分野	48
シグナル伝達研究分野	54
腫瘍制御研究分野	57
機能ゲノミクス研究分野	66

がん分子標的医療開発プログラム

腫瘍内科研究分野	72
----------	----

中央実験施設	86
--------	----

基礎統計・教育活動	91
-----------	----

各種シンポジウム開催状況	93
--------------	----

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

助 教 小林 昌彦

(H25.4月旧ゲノム分子病態研究分野より異動)

助 教 (特任) 上野 将也 (H25.9月 UCLA より赴任)

日本学術振興会特別研究員 大塩貴子 (H25.6月 旭川医大助教として転出)

大学院 (博士課程) Mohamed A.E. Ali 大学院 (博士課程) 山田 大祐

大学院 (博士課程) 笠田 篤郎 大学院 (博士課程) Ahmed M. Hegazy

大学院 (博士課程) 野村 奈穂 大学院 (博士課程:新潟大学) 布施 香子

技能補佐員 竹上 美也子

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標に研究を進めている。これらの知見に基づいて③新規がん治療法の開発を模索している。

<2013年の研究成果, 進行状況>

1) 栄養・エネルギーシグナルとがん

mTOR, FOXO, AMPK および Autophagy シグナルは、成長因子、アミノ酸、糖、酸素濃度などの栄養・エネルギーを感知し、蛋白翻訳や様々な細胞内代謝を制御している。我々は、これらの栄養・エネルギーシグナルを中心に、「幹細胞の老化・寿命制御」、「がん悪性形質制御」における分子メカニズムの解明に取り組んでいる。

本年は、mTOR 複合体 1 (mTORC1) のコンポーネントである Raptor, 並びに mTORC2 のコンポーネント Rictor の血球分化および白血病発症における機能解析を行った。Raptor 欠損による mTORC1 の失活は、骨髄中リンパ球前駆細胞には大きな影響を及ぼさないものの、胸腺中の T 細胞分化の初期段階 (DN1) で顕著な細胞周期の停止を誘導した。mTORC2 失活 (Rictor 欠損) では、やや遅い段階 (DN3/4 から CD4/8 陽性細胞) の分化異常が見られ、細胞分化に伴い mTOR 複合体の役割が変化することが明らかとなった。mTORC1 失活により、細胞周期制御因子 CyclinD2,3 蛋白の不安定性が観察され、これが上記表現型の原因であると考えられた。さらに、T-リンパ球性白血病の増殖には、mTORC1 依存的細胞周期制御が必須であったことから、本病態では、mTORC1 経路が治療上重要な標的となると考えられた (Hoshii, et al. PNAS, in press)。対照的に、急性骨髄性白血病中の未分化抗原を発現する集団 (白血病幹細胞) は、mTORC1 非依存的に生存することを見出した。興味深いことに、その

際には、多くの悪性化・未分化因子が活性化しており、白血病幹細胞の生存戦略・治療耐性機構と mTOR シグナルの間に深い関連があることが示唆された。

脳腫瘍（悪性グリオーマ）モデルでの解析では、mTORC1 の活性化は、単独では発がんを誘導することができないが、他のがんシグナルとの組み合わせによって、悪性形質を顕著に亢進させることを観察した（Yamada, et al. *J Biochem.* in press）。さらに、メタボロームおよび細胞外フラックスアナライザーによる解析により（高橋研との共同研究）、mTORC1 活性化は、解糖系依存から酸化的リン酸化依存へのスイッチを誘導し、脳腫瘍幹細胞の増幅を支えるエネルギー産生に寄与することを見出した。このような代謝スイッチがいかに細胞運命を決定するのか、今後、明らかにする。

2) 新規幹細胞集団の特定・可視化

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を有する核小体蛋白である。我々は、以前より、神経、肝臓、生殖組織を含む各種幹細胞や悪性腫瘍における幹細胞性と本分子の発現・機能の関連性を見出してきた。本年は、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（Uema, et al. *Am J Pathol.* 2013）。さらに、造血組織では、本分子のプロモーターを用いた可視化システムで、従来の方法とは異なる幹細胞集団の特定が可能となることを見出しつつある。今後、組織を横断した幹細胞制御様式の理解につながることを期待している。

3) がん治療耐性克服を目標とした創薬研究

白血病幹細胞の未分化性維持や分化ブロックに必須の役割を果たす FOXO3a の活性阻害剤の大規模スクリーニングを実施した（文科省次世代がん研究戦略推進プロジェクト）。東大創薬オープンイノベーションセンター（合成化合物）、産総研（天然物）、本研究所ライブラリー（既存薬など）の中から、白血病分化に伴う増殖抑制・細胞死誘導効果を有する複数の化合物・天然物を得た。現在、これらの化合物の活性の特異性や in vivo での有用性を検討している（理研との共同研究）。また、結晶構造解析を視野に入れた蛋白-化合物結合解析（文科省創薬等支援技術基盤プラットフォーム：大阪大学蛋白研・東京大学新領域からの支援）を開始し、将来的には FOXO 機能修飾機構の解明や Structure based drug design につなげたいと考えている。

<今後の計画>

上記の研究を継続しつつ、2014 年は以下の点を特に意識して研究を進め、将来の研究の転換・新展開の糸口を探る。

- ①幹細胞の微小環境や臓器間関連因子としての栄養・エネルギー代謝の意義。
- ②Stem Cell Aging に関するデータの蓄積（特に栄養の観点から）。
- ③がんの代謝変動とエピジェネティクスのリンク。
- ④化合物研究に関するノウハウの習得と経験の蓄積。
- ⑤ヒューマンマテリアル・ツールの開発。

【 研 究 業 績 】

< 発表論文 >

(研究室主体)

1. Hoshii T, Kasada A, Hatakeyama T, Ohtani M, Tadokoro Y, Naka K, Ikenoue T, Ikawa T, Kawamoto H, Fehling HJ, Araki K, Yamamura K, Matsuda S, Hirao A. Loss of mTORC1 induces developmental blockage in early T-lymphopoiesis and eradicates T-cell acute lymphoblastic leukemia cells. **PNAS** 2014, *in press*.
2. Yamada D, Hoshii T, Tanaka S, Hegazy AM, Kobayashi M, Tadokoro Y, Ohta K, Ueno M, Ali MAE, Hirao A. Loss of Tsc1 accelerates malignant gliomagenesis when combined with oncogenic signals. **J Biochem.** 2014, *in press*.
3. Uema N, Ooshio T, Harada K, Naito M, Naka K, Hoshii T, Tadokoro Y, Ohta K, Ali, A.E. M, Katano M, Soga T, Nakanuma Y, Okuda A, Hirao A. Abundant nucleostemin expression supports the undifferentiated properties of germ cell tumors. **Am J Pathol.** 183:592-603, 2013
4. Hirao A. TPO signal for stem cell genomic integrity. **Blood** 123:459-60, 2014 (commentary)
5. Hirao A, Hoshii T. Mechanistic/mammalian target protein of rapamycin signaling in hematopoietic stem cells and leukemia. **Cancer Sci.** 104:977-82, 2013 (review)

(共同研究)

6. Baba T, Naka K, Morishita S, Komatsu N, Hirao A, Mukaida N. MIP-1 α /CCL3-mediated maintenance of leukemia-initiating cells in the initiation process of chronic myeloid leukemia. **J Exp Med.** 210:2661-73, 2013.
7. Ichimura Y, Waguri S, Sou YS, Kageyama S, Hasegawa J, Ishimura R, Saito T, Yang Y, Kouno T, Fukutomi T, Hoshii T, Hirao A, Takagi K, Mizushima T, Motohashi H, Lee MS, Yoshimori T, Tanaka K, Yamamoto M, Komatsu M. Phosphorylation of p62 activates the Keap1-Nrf2 pathway during selective autophagy. **Mol Cell.** 51:618-31, 2013.
8. Indo Y, Takeshita S, Ishii KA, Hoshii T, Aburatani H, Hirao A, Ikeda K. Metabolic regulation of osteoclast differentiation and function. **J Bone Miner Res.** 2013 May 9 [Epub ahead of print]. doi: 10.1002/jbmr.1976.
9. Jin G, Hamaguchi Y, Matsushita T, Hasegawa M, Le Huu D, Ishiura N, Naka K, Hirao A, Takehara K, Fujimoto M. B-cell linker protein expression contributes to controlling allergic and autoimmune diseases by mediating IL-10 production in regulatory B cells. **J Allergy Clin Immunol.** 131:1674-82, 2013
10. Takeishi S, Matsumoto A, Onoyama I, Naka K, Hirao A, Nakayama KI. Ablation of Fbxw7 eliminates leukemia-initiating cells by preventing quiescence. **Cancer Cell** 23:347-61, 2013
11. 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*. 12:49-61, 2013.
12. Liu HX, Lopatina O, Higashida C, Fujimoto H, Akther S, Inzhutova A, Liang M, Zhong J, Tsuji T, Yoshihara T, Sumi K, Ishiyama M, Ma WJ, Ozaki M, Yagitani S, Yokoyama S, Mukaida N, Sakurai T, Hori O, Yoshioka K, Hirao A, Kato Y, Ishihara K, Kato I, Okamoto H, Cherepanov SM, Salmina AB, Hirai H, Asano M, Brown DA, Nagano I, Higashida H. Displays of paternal mouse pup retrieval following communicative interaction with maternal mates. *Nat Commun*. 4:1346, 2013.

(日本語総説・著書)

1. 平尾 敦：造血細胞分化および白血病における mTOR シグナル 医学のあゆみ 248:152-6, 2014
2. 平尾 敦：栄養・エネルギーセンサーシグナルとがん 細胞工学 33:157-61, 2014
3. 平尾 敦：がん基礎生物学 - 革新的シーズ育成に向けて - (清木元治 総編集) がん幹細胞を標的とした根治療法の開発：総論 p9-11, 南山堂 2013
4. 平尾 敦：がん基礎生物学 - 革新的シーズ育成に向けて - 栄養センサーシグナルによる幹細胞制御とがん治療 p12-17, 南山堂 2013

<学会発表>

1. Hirao A: The mTOR signaling pathways in the leukemia. 2013 USA-Japan Science Conference for Leukemia, March 24-26, 2013, Hawaii (USA)
2. Hirao A: The nutrient sensing signaling pathways in the hematopoietic stem cells and leukemia. 2013 SUCRI-KUCRI Joint Symposium, July 10, 2013, Seoul (Korea)
3. Hirao A: The nutrient sensing signaling pathways in the hematopoietic stem cells and leukemia. The 23th Hot Spring Harbor International Symposium, Kyushu University, Nov.5, 2013, Fukuoka
4. Hirao A: The nutrient sensing signaling pathways in the hematopoietic stem cells and leukemia. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa. January 24-25, 2013, Kanazawa
5. 平尾敦：mTOR シグナルとがん, 第1回がんと代謝研究会, 平成25年10月30-11月1日, 鶴岡
6. 平尾敦 mTORシグナルとがん幹細胞 第17回日本がん分子標的治療学会, 平成25年6月12日, 京都
7. 平尾敦 栄養センサーシグナルと幹細胞制御 第13回日本抗加齢医学会総会, 平成25年6月28日, 横浜
8. 平尾敦 mTORシグナルとがん 日本臨床腫瘍学会学術集会第22回教育セミナー, 平成25年9月1日, 仙台
9. 平尾敦 栄養センサーシグナルと幹細胞制御 第86回日本生化学会大会, 平成25

年9月13日，横浜

10. Hoshii T, Kasada A, Hatakeyama T, Ohtani M, Tadokoro Y, Naka K, Ikenoue T, Ikawa T, Kawamoto H, Iwama A, Araki K, Yamamura K, Matsuda S, Hirao A: mTORC1 inactivation prevents and eradicates acute lymphoblastic T-cell leukemia., 2013 American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, Dec.7-11, 2013, New Orleans, LA (USA)
11. 星居孝之：活性型 K-Ras 変異による白血病発症における mTOR 複合体 1 の役割，第 17 回造血器腫瘍研究会，平成 25 年 2 月 1-2 日，宮崎
12. 星居孝之，笠田篤郎，平尾敦：mTORC1 is essential for propagation of earliest T lineage-committed cell in normal lymphopoiesis and leukemogenesis. 第 11 回幹細胞シンポジウム，平成 25 年 5 月 17-18 日，東京
13. 星居孝之：白血病クラス I 変異による細胞分化異常における mTORC1 活性の機能解析，新学術領域研究「細胞運命制御」，平成 25 年 5 月 21-23 日，徳島
14. 星居孝之：T 細胞発生と急性 T リンパ性白血病における mTORC1 の機能解析，平成 25 年度がん若手研究者ワークショップ，平成 25 年 9 月 4-7 日，長野
15. 星居孝之，笠田篤郎，大谷真志，池上恒雄，伊川友活，河本宏，荒木喜美，山村研一，松田達志，平尾敦：mTORC1 is essential for T lineage-committed cell in normal lymphopoiesis and leukemogenesis，第 75 回日本血液学会学術集会，平成 25 年 10 月 11-13 日，北海道
16. 山田大祐，星居孝之，平尾敦：Roles of mTORC1 signaling in the regulation of glioma malignancy，第72回日本癌学会学術総会，平成25年10月3-5日，横浜
17. 笠田篤郎，星居孝之，平尾敦：Critical role of Rheb in immediate response of myeloid progenitor cells to proliferative stimuli. 平成25 年10 月11-13日，第75 回日本血液学会学術集会，北海道
18. Kobayashi M, Hayashi N, Yamamoto K: A direct role for NBS1 in ATR activation pathway induced by DNA replication stall. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa. January 24-25, 2013, Kanazawa

<外部資金>

1. 平尾敦：基盤研究（A）H24～H26 年度「がんの幹細胞特性を支える栄養シグナル制御機構の解明」11,700 千円
2. 平尾敦：新学術領域研究 がん幹細胞(公募) H25～H26 年度「ストレス応答を介したがん幹細胞ニッチシグナルの解明」6,000 千円
3. 平尾敦：次世代がん研究戦略推進プロジェクト H23～H27 年度「がん幹細胞を標的とした根治療法の開発」35,000 千円
4. 平尾敦：挑戦的萌芽研究 H25～H26 年度「細胞競合を介した幹細胞クローン増幅機構の解明」900 千円

5. 平尾敦：戦略的創造研究推進事業（CREST） H25～H27 年度(分担)「人工多能性幹細胞（iPS 細胞）作製・制御等の医療基盤技術:幹細胞の自己複製ネットワークの解析」13,500 千円
6. 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」 3,200 千円 (平成 24 年度～平成 25 年度)
7. 星居孝之：新学術領域「細胞運命制御」「白血病クラス I 変異による細胞分化異常における mTORC1 活性の機能解析」 1,500 千円
8. 沖田康孝, 星居孝之：平成 25 年度がん若手共同研究支援 「がん幹細胞の静止期維持における mTOR 依存的な代謝シフトの解明」 1,100 千円
9. 星居孝之：平成 25 年度日本白血病研究基金 臨床医学特別賞 「mTOR 複合体制御による白血病発症・治療抵抗性獲得機構の解明」 1,000 千円
10. 星居孝之：第 42 回かなえ医薬振興財団 海外留学助成金 「シグナル伝達とエピジェネティクス制御のクロストークによる白血病幹細胞制御機構の解明」1,000 千円
11. 田所 優子：基盤研究(C)(一般)「カロリー制限による造血幹細胞動態制御の分子基盤の解析」1,300千円
12. 田所 優子：挑戦的萌芽研究「細胞競合を介した幹細胞クローン増幅機構の解明」(分担) 900千円
13. 小林昌彦：基盤研究（C）「DNA損傷を介さないATM依存的な細胞ストレス応答と発がん抑制機構の解析」 2,100千円

<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. 病理組織解析：形態機能病理学 原田憲一，中沼安二
3. 薬物動態解析：薬物動態学 玉井郁巳
4. 代謝フラックス解析：河野晋，高橋智聡

学外

5. 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 大谷真志，松田達志
 - 京都大学再生医学研究所 河本宏
 - 理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合研究センター 伊川友活
6. 脳腫瘍幹細胞解析：米国オハイオ州立大学 中野伊知郎
7. mTORC2解析：東京大学医科学研究所 池上恒雄
8. 白血病解析：University of Glasgow, Tessa Holyoake
9. 遺伝子欠失マウス作製：大阪大学 微生物病研究所 伊川正人
10. 網羅的代謝産物解析：慶應義塾大学先端生命科学研究所 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
13. 薬効解析：理化学研究所疾患モデル評価研究開発チーム 井上麻紀
14. タンパク解析：大阪大学 蛋白質研究所 高木淳一
 - 東京大学大学院新領域創成科学研究科 上田卓也

腫瘍遺伝学研究分野

<研究スタッフ>

教 授	大島 正伸		
助 教	大島 浩子	特任助教	中山 瑞穂 (CREST)
特任助手	直井 国子 (中央実験施設)	博士研究員	Taesu Han (CREST)
大学院生 (博士課程)	鞠 小麗		
大学院生 (博士課程)	前田 祐介 (特別研究学生)		
大学院生 (博士前期)	堀内 契吾		
研修医	杉森 慎	技能補佐員	渡邊 真奈美
医学類 (4年)	北嶋 彩夏	技術補佐員	津田 理子

【研究概要】

胃がんや大腸がんの発生や悪性化進展に、慢性炎症反応が関与している可能性が示されている。当研究室では、胃がん自然発生マウスモデル (*Gan* マウス) および腸管腫瘍自然発生モデル (*Apc*^{Δ716} マウス) を用いた研究により、「慢性炎症による発がん促進機構」、および「慢性炎症による悪性化誘導機構」に着目した研究を進めている。これらの研究により、炎症の遷延化がなぜ発がんや悪性化を促進す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実現させることを目標としている。これらの研究目標のもとに、2013 年は以下の研究を実施した。

<2013 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

炎症性サイトカイン IL-1 β や TNF- α の遺伝子多型が胃がん発生リスクと相関する事が報告されており (El-Omar et al, *Gastroenterology*, 2003), これらのサイトカインシグナルが胃発がんに関与すると考えられる。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, *Tnf*^{-/-} *Gan* マウスでは胃がんの発生は顕著に抑制されて, 腫瘍サイズが *Tn*^{+/+} マウスの 20% 以下になった。マイクロアレイ解析と siRNA スクリーニングにより, 胃がん細胞の腫瘍原性維持に必要な遺伝子 *Noxo1* および *Gna14* を特定した。これらの遺伝子産物は, がん幹細胞性を反映する *in vitro* におけるスフェア形成能獲得にも関与していた。*Noxo1* は ROS 産生に関与する分子なので, 腫瘍組織では TNF- α 依存的に *Noxo1* 発現が誘導され, ROS 産生が腫瘍細胞の未分化性維持に関与していると考えられた (Oshima H et al, *Oncogene*, in press)。

（２）胃がん細胞における RUNX3 依存的 Wnt シグナル制御

がん抑制遺伝子 RUNX3 は TCF/ β -catenin 複合体との結合により, Wnt 標的遺伝子プロモーターへの結合を阻害して Wnt シグナルを抑制する。シンガポール大学がん研究所の伊藤嘉明教授との共同研究により, 胃がん細胞における RUNX3 依存的な Wnt 制御機構について詳細な解析を行った結果, 予想外に RUNX3 発現により Wnt シグナルが顕著に活性化する細胞株を見つけた。これらの細胞でも RUNX3 は TCF/ β -catenin と結合し, 複合体が Wnt 標的遺伝子プロモーターに安定的に結合していることを明らかにした。したがって, RUNX3/TCF/ β -catenin 複合体は細胞の種類によって Wnt シグナルを正または負に制御することが明らかとなった (Ju et al, *in press*)。

（３）炎症依存的な microRNA 発現変化による発がん誘導機構

これまでの研究により, 炎症反応が発がんに関連する microRNA (miRNA) 発現の変化を誘導することを明らかにしている。この解析結果をもとに, *Gan* マウス腫瘍上皮細胞特異的な miRNA 発現を選択し, ヒト胃がん組織の miRNA 発現プロファイルとの比較解析を行った結果, 炎症反応依存的にがん細胞で特異的に発現誘導する miRNA を特定した。この中から, *Apc*⁴⁷¹⁶ マウス腸管腫瘍でも特異的に発現誘導する miRNA を探索し, 消化管発がんに関与する miRNA の解析を進めている。

（４）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が発生し, さらに *Tgfbr2* 変異による TGF- β シグナル遮断により浸潤能を獲得して悪性化腫瘍が発生すると考えられている。そこで *Apc*⁴⁷¹⁶ マウス, *Tgfbr2*^{flx/flx} マウスを用いた解析を進めた結果, 炎症反応が TGF- β シグナルを遮断した癌細胞の粘膜下浸潤の誘導に関与することを明らかにした。また, 佐藤博教授との共同研究により, 炎症反応により MT1-MMP 発現が誘導され, MMP2 が活性化している事を明らかにし, TGF- β 抑制による上皮細胞浸潤誘導に関与すると考えられた (投稿準備中)。

<今後の計画>

マウスモデルの新規開発を進めながら, これまでの研究を継続・推進する。TNF- α 依存的な Noxo1 遺伝子, 炎症依存的発現誘導する miRNA のノックアウトマウスを用いた遺伝学的解析により, 炎症依存的発がん機構を明らかにする。また, 大腸がんに関わるドライバー遺伝子変異を段階的に導入した遺伝子改変マウスを構築し, がんの悪性化と宿主反応・微小環境の相関に関する研究を推進する。さらに, がん細胞の未分化性と炎症反応に共通する Stat3 経路に着目した, マウスモデルを用いた研究を新たに開始する。

【研究業績】

< 発表論文 >

(腫瘍遺伝学研究分野主体)

1. Oshima H, Ishikawa T, Yoshida GJ, Naoi K, Maeda Y, Naka K, Ju X, Yamada Y, Minamoto T, Mukaida N, Saya H, and Oshima M. TNF- α /TNFR1 signaling promotes gastric tumorigenesis through induction of Nox1 and Gna14 in tumor cells. *Oncogene* 2013 [Epub ahead of print].
2. Ju X, Ishikawa T, Naka K, Ito K, Ito Y, and Oshima M. Context-dependent activation of Wnt signaling by tumor suppressor RUNX3 in gastric cancer cells. *Cancer Sci* 105: 418-424.
3. Oshima H, and Oshima M. The role of prostaglandin E₂-associated inflammatory responses in gastric cancer development. *Semin Immunopathol* 35: 139-150, 2013 (Review)

(共同研究)

1. Wada T, Ishimoto T, Seishima R, Tsuchihashi K, Yoshikawa M, Oshima H, Oshima M, Masuko T, Wright NA, Furuhashi S, Hirashima K, Baba H, Kitagawa Y, Saya H, Nagano O. Functional role of CD44v-xDT system in the development of spasmolytic polypeptide expressing metaplasia. *Cancer Sci* 2013 [Epub ahead of print].
2. Mohri T, Ueno M, Nagahama Y, Gong ZY, Asano M, Oshima H, Oshima M, Fujio Y, Takakura N. Requirement of SLD5 for early embryogenesis. *PLos One* 8: e78961, 2013.

(日本語総説・著書)

1. 大島正伸. 「炎症反応によるがんの発生と悪性化促進」*実験医学* (羊土社) 31: 1910-1915, 2013.
2. 大島正伸. 「炎症とマクロファージによるがんの発生・進展機構」*医学のあゆみ* (医歯薬出版) 244: 733-738, 2013.
3. 大島正伸. 「慢性炎症と発癌」*BioClinica* (北隆館) 28: 1139-1143, 2013.
4. 大島正伸. 「特集: 炎症と発がんメカニズム (編集)」*細胞* (ニューサイエンス社) 45: 460-461, 2013.

< 学会発表 >

(国際学会・国際シンポジウム) (*発表者)

1. Oshima M. Inflammatory responses and novel mechanisms for gastric cancer development. *Seoul National Univ CRI Cancer Symposium 2013*. (韓国・済州島: 2013年5月4日)
2. Oshima M. Inflammation-associated malignant progression in model of gastrointestinal

tumors. 6th Annual Scientific Meeting of Singapore Gastric Cancer Consortium (SGCC). (シンガポール:2013 年 7 月 25 日)

3. Oshima M. COX-2/prostaglandin E₂ signaling and inflammation in gastrointestinal cancer development. *Nutrition and Physical Activity in Aging, Obesity and Cancer (NAPA2013)*. (タイ・パタヤ: 2013 年 8 月 15 日)
4. Oshima M. Inflammatory responses in gastrointestinal cancer development and malignant progression. *AACR International Conference on Frontiers in Cancer Prevention Research*. (米国・ワシントン DC:2013 年 10 月 27 日)
5. Han TS*, Oshima H, Yang HK, Oshima M. Identification and functional study of tumor epithelial cell-specific microRNAs in gastrointestinal tumor. 18th Korea-Japan Cancer Research Workshop. (岐阜:2013 年 11 月 30 日)
6. Oshima M. Targeting chronic inflammation in gastrointestinal tumorigenesis. *Annual Meeting of Korean Cancer Prevention Society*. (韓国・ソウル:2013 年 12 月 13 日)
7. Oshima M*, Oshima H. The role of COX-2/PGE₂-induced inflammation in gastric cancer development. 4th JCA- AACR Special Joint Conference: The Latest Advances in Gastric Cancer Research. (千葉:2013 年 12 月 17 日)
8. Oshima H*, Naka K, Oshima M. TNF- α signaling in bone marrow-derived cells promotes gastric tumorigenesis through Nox1 expression. 4th JCA-AACR Special Joint Conference: The Latest Advances in Gastric Cancer Research. (千葉:2013 年 12 月 17 日)
9. Han TS*, Oshima H, Yang HK, Oshima M. Identification and functional study of tumor epithelial cell-specific microRNAs in gastrointestinal tumor. 4th JCA-AACR Special Joint Conference: The Latest Advances in Gastric Cancer Research. (千葉:2013 年 12 月 17 日)
10. Oshima M. Chronic inflammatory responses in gastric tumor development and progression. 4th International Symposium on Carcinogenic Spiral. (札幌: 2014 年 2 月 11 日)

(国内学会・全国集会)

1. Oshima M. The role of inflammation in gastrointestinal tumor development and malignant progression. 第 72 回日本癌学会学術総会 (Symposia: Animal model in cancer research) 2013 年 10 月 5 日
2. Oshima H*, Nakayama M, Taketo M, Oshima M. The role of inflammation in development of invasive intestinal adenocarcinoma. 第 72 回日本癌学会学術総会 2013 年 10 月 4 日
3. Ju X*, Ishikawa T, Oshima H, Ito K, Ito Y, Oshima M. Wnt activation by RUNX3 in Kato-III gastric cancer cells. 第 72 回日本癌学会学術総会 2013 年 10 月 4 日
4. 大島浩子*, 中山瑞穂, 大島正伸. TGF- β シグナル抑制と慢性炎症反応による大腸がん浸潤機構. 平成 25 年度文部科学省新学術領域「がん支援」公開シンポジウム 2014 年 1 月 31 日

<その他>

1. 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（2013年11月29日-12月1日：岐阜市，日本側20名，韓国側24名参加）。
2. ソウル大学医学部がん研究所と金沢大学がん進展制御研究所とのジョイントシンポジウム「2013SNUCRI & KUCRI Symposium」を開催（2013年7月10日：韓国・ソウル大学講堂）

<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」 43,000 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」 19,600 千円
3. 基盤研究（B）[研究代表者：大島 正伸]
「炎症性微小環境の誘導機序および腫瘍免疫制御機序の研究」 5,000 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」 1,200 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」 1,500 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）」 3,300 千円
7. 金沢大学戦略的研究推進プログラム（次世代重点型）[研究代表者：大島 正伸]
「がん再発機構の生物学的理解を目指した統合的研究拠点の形成」 2,000 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
「消化器がん悪性化における FOXO3a の研究」
2. 東京大学医学研究科： 谷口 維紹
「炎症発がんにおける IRF-5 自然免疫シグナルの研究」
3. 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した共同研究

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. 金沢大学医薬保健研究域薬学系：中西猛夫／玉井郁巳
「消化器がん発生におけるプロスタグランジントランスポーターの役割」
3. 国立がん研究センター研究所・研究員：大木 理恵子
「がん抑制遺伝子 p53 機能喪失をともなった新規悪性胃がん病態モデルの解析」
4. 金沢医科大学病理学・教授：清川悦子
「経口バイオセンサーマウスと Gan マウスを用いた胃の可視化」
5. 秋田大学大学院医学研究科・教授：田中正光
「炎症性腫瘍における SKAP2 の機能解析」
6. 大阪大学微生物病研究所・教授：高倉伸幸
「胃がん発症モデルマウスを用いたがん幹細胞維持機構の解明」
7. 浜松医科大学腫瘍病理学・教授：梶村春彦
「胃癌における DNA 付加体の網羅的探索」
8. 慶応義塾大学医学部腫瘍センター・後藤 修
「胃がん手術の侵襲による宿主反応と発がん促進機構」
9. シンガポール大学がん研究所・教授：伊藤嘉明
「胃がん細胞における RUNX3 による Wnt 制御機構」

腫瘍分子生物学研究分野

教授 高橋 智聡

助教 Shamma Awad

助教 林 直之

特任助教 北嶋 俊輔

博士研究員 佐々木 信成

博士研究員 河野 晋

協力研究員 Mohammed Salah Abdallah Mohammed

大学院生（博士課程） 村中 勇人

大学院生（博士課程） 吉田 晶代

大学院生（修士課程） 西本 裕希

技能補佐員 鈴木 美砂

技能補佐員 永谷 直子

【 研 究 概 要 】

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

RB 不活性化とがん悪性進展

コモンタイプのがんにおける RB 不活性化は、イニシエーション時ではなくプログレッション時に起こる。C 細胞悪性進展モデルを用い、様々な遺伝学的背景において Rb を追加的に不活性化したところ、p53 欠損背景においてのみ特異的に未分化な表現型を呈することがわかった。乳がん・前立腺がん・横紋筋肉腫等においては、RB のステータスが未分化性や薬剤耐性出現に直結する。これらの知見を踏まえ、p53 欠損背景における RB 機能を解析するための軟部肉腫モデルを樹立（北嶋ら）、RNA-seq、マイクロアレイ等の遺伝子発現解析、メタボローム・¹³C・¹⁴C フラックス解析を含む種々の代謝解析、細胞・分子生物学的解析、既存薬スクリーニング等を行った。

RB による代謝制御機構

脂肪酸生合成：RB の SREBP1 依存的機能を探索するために、SREBP1 のプロセッシング・核移行機構解明、RB 不活性化による脂肪酸・脂質メディエーター群の変化の LC-MS/MS 解析（小野薬品工業共同研究）、Rb-Srebp1 DKO を含む種々の遺伝子改変マウスの解析を行っている。（村中）

コレステロール生合成：RB によるコレステロール生合成経路の広汎な制御が、RB 不活性化によって誘導される未分化性にどのように関わるのかを探索している。またコレステロール代謝物のなかでがんの未分化性維持に関わる分子を絞り込んでいる。スタチンへの適応追加を睨んでいる。（佐々木）

中心炭素代謝：様々なコンテキストとくに未分化性誘導における RB 不活性化が代謝制御全般に与えるインパクトを測定し、その生物学的意義を考察している。

代謝経路において見出した RB の新規標的遺伝子群の中でも、とくに PGAM1,2 と IDH1 の機能に着目し、がん細胞の未分化性を維持する代謝機構の解明に挑む。また解糖系代謝物アナログによるがん未分化性制御の方策を探索している（第一三共共同研究）。（河野・鈴木）

RB による微小環境制御機構

軟部肉腫モデルを用い、RB 不活性化によって誘導されるサイトカイン・ケモカイン分泌亢進と STAT3 の持続的活性化が腫瘍の未分化性維持に重要であることを見出した。この臨床的意義を種々の遺伝子改変マウスを用いて考察するとともに、RB 不活性化のシグナチャーとその未分化性を特徴付けるシグナチャーの似通っている乳がん探索系を拡張し、この臨床的意義を考察している。（北嶋・永谷）

in silico 解析による RB 機能の探索

研究室内で得られた RNA-seq データと既報のシグナチャーとの相関解析 (GSEA 等) や、RNA-seq データから作成した RB 不活性化シグナチャーを用いた GO 解析・KEGG 解析あるいは臨床検体を用いた公開データを利用した予後解析などを行い、RB 不活性化シグナチャーの臨床的意義を考察している。*in silico* 解析において Gene symbol の種差を克服する方法を用い、マウス細胞から得られたシグナチャーをヒトのそれと容易に比較することのできる系を確立した。また、RB の新規標的として miR-140 等を見出し、この臨床的意義を探索している。（吉田）

代謝・エピジェネティック・転写制御のノード分子としての RB

RB 不活性化によって、DNMT1-HDAC 複合体が乖離し、活性化 ATM が DNMT1 に結合、Tip60 によるアセチル化とその後の UHRF(E3 ligase) によるユビキチン化を促進、DNMT1 が分解され、DNA メチル化異常が起こることを今年度発表した(Shamma)。DNA 損傷応答と細胞老化をつなぐ有力な説明を提示した。その後、AMPK による RB リン酸化が、RB-DNMT1-HDAC 複合体形成のトリガーとなる可能性を見出し、更に、細胞の栄養環境(ATP/AMP)が、RB 機能制御を介して、エピジェネティック制御へと繋がる可能性を探索している（林）。代謝とエピジェネティック制御の新しい接点を探索する。

インビトロがん幹細胞・悪性進展モデルの拡張

$p53^{-/-}; Rb^{flox/flox}$, $p53^{-/-}; PTEN^{flox/flox}$ あるいは $p53^{-/-}; Rb^{flox/flox}; PTEN^{flox/flox}$ 乳腺（西本）および前立腺（Mohammed）上皮初期培養細胞を *in vitro* 系において cre recombinase 感染させることにより、幹細胞様の挙動が異なる腫瘍性増殖細胞ペア数群を得た。このようなペア細胞群のマイクロアレイ解析を行い、幹細胞性獲得のコンテキストにおける RB および PTEN 不活性化のシグナチャーを決定している。従来の軟部肉腫モデルを拡張し、コモンタイプのがん腫の未分化性を制御するための標的となる鍵分子の発見を目指す。

【 研 究 業 績 】

< 発表論文 >

(研究室主体)

1. Shamma A, Suzuki M, Hayashi, N, Kobayashi M, Sasaki N, Nishiuchi T, Doki Y, Okamoto T, Kohno S, Muranaka H, Kitajima S, Yamamoto K and Takahashi C. ATM mediates pRB function to control DNMT1 protein stability and DNA methylation. *Mol Cell Biol*, 33: 3113-3124, 2013.

(共同研究)

1. Siddesha J M, Valente A J, Sakamuri S S, Yoshida T, Gardner J D, Somanna N, Takahashi C, Noda M and Chandrasekar B. Angiotensin II stimulates cardiac fibroblast migration via the differential regulation of matrixins and RECK. *J Mol Cell Cardiol*, 65: 9-18, 2013.
2. Hayashi N, Kobayashi M, Shamma A, Morimura Y Takahashi C and Yamamoto K. Regulatory interaction between NBS1 and DNMT1 responding to DNA damage. *J Biochem*, 154: 429-435, 2013.

(著書・総説)

1. 高橋 智聡. 実験医学 News and Hot Paper Digest「セリンはピルビン酸キナーゼ M2 の天然リガンドである」 Vol.31 No.3 p412-413,2013 小笹徹編 羊土社刊

< 学会発表 >

1. 北嶋俊輔, 高橋智聡. Undifferentiated state induced by Rb inactivation associated with metabolic reprogramming and inflammation. 「第3回新学術領域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)
2. 村中勇人, 北嶋俊輔, 佐々木信成, 河野晋, Shamma A, 高橋 智聡. The impact of RB status on lipidogenic phenotype in cancer cells. 「第3回新学術領域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)
3. 佐々木信成, 高橋 智聡. The metabolic function of RB in controlling mevalonate (MVA) pathway and cancer stem cells. 「第3回新学術領域発がんスパイラル

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）

4. 河野晋, 北嶋俊輔, 佐々木信成, 村中勇人, 高橋 智聡. The metabolic function of RB tumor suppressor gene. 「第 3 回新学術領域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）
5. 北嶋俊輔, 高橋 智聡. Undifferentiated state induced by Rb inactivation associated with metabolic reprogramming and inflammation. 平成 24 年度「がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動」公開シンポジウム 2013 年 1 月（東京）
6. 高橋 智聡, 河野晋, 佐々木信成, 村中勇人, 北嶋俊輔. 個体の非ふるえ熱産生経路とがん幹細胞のあいだに関係はあるか？平成 24 年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ 2013 年 2 月（滋賀）
7. 北嶋俊輔, 高橋智聡. Undifferentiated state induced by Rb inactivation associated with metabolic reprogramming and inflammation. 平成 24 年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ 2013 年 2 月（滋賀）
8. Kohno S, Kitajima S, Muranaka H, Sasaki N and Takahashi C. The metabolic function of Rb tumor suppressor gene in cancer stem cells. Tumor Metabolism. Keystone Symposia 2013 年 2 月（Keystone, Colorado, USA）
9. Kohno S, Kitajima S, Sasaki N, Muranaka H and Takahashi C. The metabolic function of RB tumor suppressor gene. AACR Annual Meeting 2013 2013 年 4 月（Washington, DC）
10. 高橋智聡. RB がん抑制遺伝子の代謝制御機能. 第 54 回日本生化学会中国・四国支部例会 『最先端酵素学シンポジウム』 2013 年 5 月（徳島）
11. 高橋智聡. RB がん抑制遺伝子の代謝制御機能. がんと代謝 メタボロミクスセミナー [共催：ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ株式会社] 2013 年 5 月（金沢）
12. Takahashi C. RB functions in rewiring cancer cell metabolism. 2013 SNUCRI & KUCRI SYMPOSIUM 2013 年 7 月（ソウル, 韓国）
13. Kitajima S, Tanaka T, Gotoh N and Takahashi C. Undifferentiated state induced by Rb inactivation associated with enhanced inflammatory signaling. 平成 25 年度が

ん若手研究者ワークショップ 2013 年 9 月（蓼科）

14. 佐々木信成, 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. 平成 25 年度がん若手研究者ワークショップ 2013 年 9 月（蓼科）
15. 岡橋 伸幸, 松田 史生, 河野 晋, 高橋 智聡, 清水 浩. p53 ノックアウトマウス軟部腫瘍由来細胞株におけるグルタミンの還元的代謝. 第 8 回メタボロームシンポジウム 平成 25 年 10 月(福岡)
16. Sakai K, Suzuki T, Yano S, Takahashi C, Nishiuchi T and Matsumoto K. Dysfunction of polycomb group chromobox protein in tumor malignancy. 第 72 回日本癌学会学術総会 2013 年 10 月（横浜）
17. 北嶋俊輔, 鈴木佐和子, 田中知明, 高橋智聡. Rb によるサイトカインを介したがん悪性化制御機構の解明. 第 72 回日本癌学会学術総会 2013 年 10 月(横浜)
18. 河野 晋, 北嶋俊輔, 佐々木信成, 村中勇人, 高橋智聡. がん抑制遺伝子 RB の代謝調節機能. 第 72 回日本癌学会学術総会 2013 年 10 月（横浜）
19. Shamma A, Hayashi N, Sasaki N and Takahashi C. The pRB-ATM-DNMT1 nexus is a novel pathway to the epigenetic control of cancer progression. 第 72 回日本癌学会学術総会 2013 年 10 月（横浜）
20. Takahashi C. RB functions in rewiring cancer cell metabolism. Third International Rb Meeting 2013 年 10 月（Monterey, CA. USA）
21. Kitajima S, and Takahashi C. Undifferentiated state induced by Rb inactivation associated with enhanced inflammatory signaling. Third International Rb Meeting 2013 年 10 月（Monterey, CA. USA）
22. Kohno S, Kitajima S, Sasaki N, Muranaka H and Takahashi C. The role of RB tumor suppressor gene in central carbon metabolism. Third International Rb Meeting 2013 年 10 月（Monterey, CA. USA）
23. Gutierrez J, Takahashi C and Brandan E. Decreased expression of RECK, a novel

matrix metalloproteinase inhibitor, improves the efficiency of muscle stem cell therapy. XXVII Annual Meeting of the Sociedad de Biología Celular de Chile 2013 年 10 月 (Puerto Varas, Chile)

24. Contreras O Takahashi C, Brandan E and Gutierrez J. The expression of RECK, a novel modulator of extracellular matrix integrity, is regulated by TGF- β : possible clues for proper tissue remodeling. XXVII Annual Meeting of the Sociedad de Biología Celular de Chile 2013 年 10 月 (Puerto Varas, Chile)
25. 高橋智聡. RB がん抑制遺伝子の代謝制御機能. 第 1 回 がん代謝研究会 2013 年 11 月 (鶴岡)
26. 河野 晋, 北嶋俊輔, 佐々木信成, 村中勇人, 鈴木佐和子, 田中知明, 岡橋信幸, 松田史生, 清水浩, 高橋智聡. RB の中心炭素代謝調節機能. 第 1 回 がん代謝研究会 2013 年 11 月 (鶴岡)
27. 岡橋 伸幸, 松田 史生, 河野 晋, 高橋 智聡, 清水 浩. p53 ノックアウトマウス軟部腫瘍由来細胞株におけるグルタミンの還元的代謝. 第 1 回 がん代謝研究会 2013 年 11 月 (鶴岡)
28. 高橋智聡. RB がん抑制遺伝子による「生老病死」の制御. 第 36 回日本分子生物学会年会 2013 年 12 月 (神戸)
29. Kitajima S, Yoshida A, Suzuki S, Tanaka T, Gotoh N and Takahashi C. Undifferentiated state induced by Rb inactivation associated with enhanced inflammatory signaling. 第 36 回日本分子生物学会年会 2013 年 12 月 (神戸)
30. 林直之, アワド・シャムマ, 小林昌彦, 高橋智聡, 山本健一. DNA ダメージに応じたヘテロクロマチン形成制御における NBS1 と DNMT1 の相互作用. 第 36 回日本分子生物学会年会 2013 年 12 月 (神戸)

<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) 30,000 千円
2. 高橋智聡 :
平成 25 年度 北海道大学遺伝子病制御研究所共同利用・共同拠点「細菌やウイルスの持続性感染により発生する感染癌の先端的研究拠点」 430 千円
3. 高橋智聡 :
平成 25 年度 東京大学医科学研究所共同研究 480 千円

4. 高橋智聡：
武田科学助成金
「ビジョナリーリサーチ継続助成（2010・2011 年度ホップ） 5,000 千円
5. 北嶋俊輔：
科学研究費補助金 若手 B 1,800 千円
6. 佐々木信成：
科学研究費補助金 若手 B 1,800 千円

<共同研究>

1. 大阪大学 清水浩博士，松田史生博士，岡橋伸幸氏「 ^{13}C フラックス解析によるがん幹細胞特異的代謝様態の解明」
2. 東京大学 末次志郎博士 「IRSp53 と RB-p53 システムの遺伝学的関係」
3. 京都大学 三木貴雄博士「時間生物学における RB-p53 システム」
4. 京都大学 河田照雄博士，高橋信之博士，後藤剛博士「細胞外フラックス測定機器を用いたがん幹細胞特異的代謝様式の解明」
5. 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」
6. 東京大学 岡部弘基博士，内山聖一博士「がん幹細胞モデルにおける細胞内温度分布の可視化」
7. 東京大学・金沢大学 東條有伸博士，後藤典子博士「細胞自律的炎症とメタボリック・リプログラミングによるがん幹細胞維持機構」
8. 北海道大学 藤田恭之博士「がん幹細胞と非がん幹細胞および間質細胞間の代謝的相互作用」
9. 小野薬品工業株式会社筑波研究所 多田秀明博士，林昭夫博士「Rb がん抑制遺伝子による脂質代謝制御機構とその臨床的意義の解明」
10. 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」
11. 筑波大学人間総合科学研究科 島野仁博士，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」

12. Pontificia Universidad Católica de Chile Jaime Gutiérrez 博士「Function of RECK in muscle dystrophy」
13. 第一三共株式会社研究開発本部癌研究所 堤信二博士，廣田泰秀博士 「乳がんがん幹細胞の代謝工学的解析と機構探索に基づく創薬基盤の創出」

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】

本研究プロジェクトでは、慢性骨髄性白血病（CML）の再発防止法の開発を目的とした研究を進めている。CML 患者の予後は、分子標的医薬のさきがけであるチロシンキナーゼ阻害薬（TKI）の開発によって劇的に改善した。しかし、CML 細胞の供給源となる”CML 幹細胞”が存在し、TKI 治療後、根絶を免れた CML 幹細胞が再び CML 細胞を生み出して再発を引き起こす。従って、CML の再発を克服するためには、この CML 幹細胞を根絶する必要がある。

当該プロジェクトでは、1) CML 幹細胞特異的な維持機構の解明による理論的根拠の確立、並びに 2) 当該メカニズムをターゲットとする CML 幹細胞の治療薬の開発を進めている。併せて、3) このような CML 幹細胞の成果を基盤として、上皮性がん幹細胞の維持機構の解明へと発展させることを目指した研究を行っている。

<2013 年の研究成果、進捗状況と今後の計画>

1) TGF- β -FOXO シグナルによる CML 幹細胞の維持機構

【目的】TGF- β -FOXO シグナルによる CML 幹細胞の自己複製能、抗がん剤抵抗性、及び未分化性の維持機構を明らかにする。【本年成果】昨年度までに、*in vitro* において、CML 幹細胞の静止期維持に関わる TGF- β シグナル分子を見出した。本年度は、*in vivo* における当該分子の役割について検討した。その結果、CML 幹細胞に当該分子のリン酸化サイトをアラニン置換した非リン酸化型変異体を導入すると、*in vivo* での自己複製能が低下することを見出した。すなわち、当該 TGF- β シグナル分子は生体内での CML 幹細胞の維持に重要な役割を担うことを解明した。【今後の方向性】生体内での CML 幹細胞の抗がん剤抵抗性における TGF- β -FOXO シグナル制御分子の機能解析を行う。

2) 薬剤耐性 CML 幹細胞に対する治療薬の開発

【目的】TGF- β -FOXO シグナルをターゲットとする CML 幹細胞の治療薬を開発する。【本年成果】昨年度、*in vitro* において、上記 TGF- β -FOXO シグナル分子が CML 幹細胞の治療標的となることを見出した（特願 2012-131328）。本年度は、この分子に対す

る新しい経口投与可能な阻害薬を用い、*in vivo* での CML 幹細胞に対する治療効果を検討した。まず、マウス生体内における、当該 TGF- β シグナル阻害薬の薬物動態 (PK)、及び薬力学 (PD) 解析を行い、投与法を確定した。次いで、CML 幹細胞を移植して CML を発症したマウスに対して、イマチニブと当該 TGF- β 阻害薬の併用治療の効果を解析した。その結果、イマチニブ単独投与では移植から 90 日以内に白血病の再発を確認したが、イマチニブと TGF- β 阻害剤との併用投与では、マウスの生存期間を延長できることが明らかとなった (投稿準備中)。【今後の方向性】 TKI 耐性 T315I 変異型 BCR-ABL を導入した CML 幹細胞を用いて CML マウスモデルを構築し、TKI 耐性 CML 幹細胞の治療法の開発を行う。

3) 上皮性がん幹細胞治療への応用

【目的】 CML 幹細胞の研究により明らかとなった TGF- β -FOXO シグナルによる制御メカニズムを基盤として上皮性がん幹細胞の維持機構の解明に発展させる。【本年成果】 昨年度までに、上皮性腫瘍のマウスモデルとして乳がんマウスモデル MMTV-PyVT を用い、乳がん幹細胞の純化を行った。この乳がん幹細胞に FOXO の機能を阻害するドミナントネガティブ変異体(dnFOXO)を導入した結果、生体内での乳がん幹細胞の自己複製能が低下することを見出した。本年度は、この dnFOXO 導入乳がん幹細胞における自然転移能を解析した。しかし、乳腺脂肪組織に乳がん幹細胞を移植したマウスにおいて、明らかな肺転移巣は見られなかった。【今後の方向性】 乳がん幹細胞を尾静脈移植し、肺転移能の解析を行う。また、上述の CML 幹細胞の維持に関わる TGF- β -FOXO シグナル分子をマウス乳がん幹細胞へと導入し、生体内での乳がん幹細胞の自己複製能、並びに肺転移能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**. 23(3), 347-361.
2. Oshima H., Ishikawa T., Yoshida G., Naoi K., Maeda Y., Naka K., Ju X., Yamada Y., Minamoto T., Mukaida N., Saya H., and Oshima M., (2013) TNF- α /TNFR1 signaling

promotes gastric tumorigenesis through induction of Nox1 and Gna14 in tumor cells.
Oncogene. in press.

3. Uema N., Ooshio T., Harada K., Naito M., Naka K., Hoshii T., Tadokoro Y., Ohta K., Ali M.A.E., Katano M., Soga T., Nakanuma Y., Okuda A., and Hirao A. (2013) Abundant nucleostemin expression supports the undifferentiated properties of germ cell tumors. **Am J. Pathol.** 183(2): 592-603.
4. Baba T., Naka K., Morishita S., Komatsu N., Hirao A., Mukaida N., MIP-1 α /CCL3-mediated maintenance of leukemia initiating cells in the initiation process of chronic myeloid leukemia. **J Exp. Med.** 210 (12): 2661-2673.
5. Jin G., Hamaguchi Y., Matsushita T., Hasegawa M., Huu D., Ishiura N., Naka K., Hirao A., Takehara K., and Fujimoto M. (2013) BLNK expression contributes to controlling allergic and autoimmune diseases by mediating IL-10 production in regulatory B cells. **J Allergy Clin Immunol.** 131(6):1674-1682.

総説

1. Naka K., Hirao A, TGF- β signaling in Leukemogenesis. **TGF- β in human disease**, Moustakas A, Miyazawa K eds., Springer: 189-207, 2013.
2. 仲 一仁, CML stem cells, **臨床血液**, 54(10), 158-167, 2013.

<学会発表>

1. Kazuhito Naka, A Role of TGF- β -FOXO Signaling in CML Stem Cells, International Symposium on Carcinogenic Spiral and Tumor Biology in Kanazawa, January 24-25th 2013, Kanazawa Japan.
2. Kazuhito Naka, and Atsushi Hirao, Role of TGF- β -FOXO Signaling in CML Stem Cells, Fifteen International Conference on Chronic Myeloid Leukemia Biology and Therapy, September 26-29th 2013, Estoril, Portugal.
3. 仲 一仁, TGF- β シグナルを標的としたCML幹細胞複合治療戦略 (シンポジウム). 第11回日本臨床腫瘍学会学術集会, 平成25年8月29-31日, 仙台市
4. 仲 一仁, TGF- β -FOXOシグナルによるCML幹細胞の維持機構 (シンポジウム). 第86回日本生化学会大会, 平成25年9月11-13日, 横浜市
5. 仲 一仁, CML stem cells (教育講演). 第75回日本血液学会学術集会, 平成25年10月11-13日, 札幌市

一般対象

1. 仲 一仁, 市民公開講座「幹細胞とがん」, 平成25年5月18日, 金沢市

<知的財産>

なし

<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」
直接経費: 20,200 千円, 間接経費: 6,060 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」
直接経費: 63,750,000Korean Won

<共同研究>

学内

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

学外

1. CML 幹細胞の維持機構: 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. CML 幹細胞の維持機構: 神戸大学 南陽介
4. CML 幹細胞の維持機構: 慶応義塾大学 河上裕
5. 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
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. Foxo3a シグナルの役割: がん研究会がん研究所 原 英二
8. TGF- β シグナルの役割: CHA Cancer Institute, CHA University (大韓民国)
Eun-Jin Bae, Mi-kyung Kwak, 大島章, Seong-Jin Kim
9. TGF- β シグナルの役割: Ewha Womans University (大韓民国)
Yhun Yhong Sheen, Dae-Kee Kim
10. TGF- β シグナルの役割: Inje University (大韓民国)
Yoon-Kang Gu, Eun-Sook Jeong, Dong-Hyun Kim

がん微小環境研究プログラム

細胞機能統御研究分野

<研究スタッフ>

教 授 佐藤 博
准教授 滝野 隆久
技能補佐員 山岸 小百合
大学院生（博士課程） 李 子晨
大学院生（博士課程） 田中 望
大学院生（博士課程） 佐藤 友美
大学院生（博士課程） 吉本 泰祐(口腔外科)

【 研 究 概 要 】

当研究室でクローニングされた膜型マトリックスメタロプロテアーゼ-1 (MT1-MMP) は, がん微小環境の構築・再構築に中心的な役割を果たすのみならず, 近年は細胞内・外の多様な分子と相互作用する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することが明らかとなり益々注目されている。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報告してきた。細胞外マトリックス(extracellular matrix, ECM) 成分の中でコラーゲンと共に重要な分子がファイブロネクチンである。ファイブロネクチンは創傷治癒や胚発生のような過程に重要であることはよく知られている。細胞性ファイブロネクチンは ECM として集積して不溶性の網目を形成し組織・器官を形成している。我々はこれまでに MT1-MMP がファイブロネクチン重合を制御することにより細胞運動・増殖をコントロールすることを報告した。MT1-MMP および関連分子を標的とした制御法の開発を目指している。

<2013 年の研究成果, 進捗状況と今後の計画>

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ibro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。

膜型セリンプロテアーゼ阻害因子 HAI-1 による MET の誘導：

これまでに MT1-MMP の新規基質として膜型セリンプロテアーゼ阻害因子 HGF Activator Inhibitor-1 (HAI-1) を同定した。上皮系がん細胞では MT1-MMP が HAI-1 を切断することにより、膜型セリンプロテアーゼであるマトリプターゼが活性化され、MT1-MMP とマトリプターゼの協調作用が浸潤性増殖には必須であることを報告した。上皮系がん細胞ではマトリプターゼをノックダウンすることにより MET (mesenchymal-epithelial transition) が起こることが報告されている。一方、マトリプターゼを発現しない間葉系細胞 HT1080 細胞に MT1-MMP に切断されない変異型 HAI-1 を発現させることにより MET 様の形態変化を起こすことを見出した。間葉系細胞で発現しその形態維持に関わるセリンプロテアーゼの同定、および MET 誘導のメカニズムを検討中である。

MT1-MMP による KIM-1 切断の意義：

免疫グロブリンファミリーの Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1)はホスファチジルセリン受容体としてアポトシス細胞の貪食に関わっていることが知られている。我々は MT1-MMP の新規基質とし KIM-1 を同定すると共に、KIM-1 の新規機能としてコラーゲンなどへの細胞接着を負に制御することを報告した（日本生化学会 JB 論文賞 2013 受賞）。がん細胞に発現する KIM-1 の機能、MT1-MMP による切断の生理的意義をさらに検討中である。

【 研 究 業 績 】

< 発表論文 >

原著論文

(研究室主体)

1. Takino T, Guo L, Domoto T, Sato H.
MT1-MMP prevents growth inhibition by three dimensional fibronectin matrix.
Biochem Biophys Res Commun. 436, 503-508, 2013.

(共同研究)

1. Yoshikawa A, Nakada M, Watanabe T, Hayashi Y, Sabit H, Kato Y, Suzuki S, Ooi A, Sato H, Hamada JI. Progressive adult primary glioblastoma in the medulla oblongata with an unmethylated MGMT promoter and without an IDH mutation: A case report Brain Tumor Pathol. 30, 175-179, 2013.
2. Kitano A, Shimasaki T, Chikano Y, Nakada M, Hirose M, Higashi T, Ishigaki Y, Endo Y, Takino T, Sato H, Sai Y, Miyamoto K, 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, 8, 2013.
3. Nakada M, Nambu E, Furuyama N, Yoshida Y, Takino T, Hayashi Y, Sato H, Sai Y, Tsuji T, Miyamoto KI, Hirao A, Hamada JI. Integrin $\alpha 3$ is overexpressed in glioma stem-like cells and promotes invasion. Br J Cancer. 108, 2516-2024, 2013.
4. Abe H, Mochizuki S, Ohara K, Ueno M, Ochiai H, Kitagawa Y, Hino O, Sato H, Okada Y. Src plays a key role in ADAM28 expression in v-src-transformed epithelial cells and human carcinoma cells. Am J Pathol. 185, 1667-1678, 2013.
5. Sabit H, Nakada M, Furuta T, Watanabe T, Hayashi Y, Sato H, Kato Y, Hamada JI. Characterizing invading glioma cells based on IDH1-R132H and Ki-67 immunofluorescence. Brain Tumor Pathol (in press)

< 学会発表 >

1. 滝野 隆久, 堂本 貴寛, 佐藤 博
「MT1-MMP による細胞接着ネットワークの制御」

第 21 回日本がん転移学会総会（平成 25 年 7 月 11 日 松本）

2. 望月早苗，阿部任，尾原健太郎，落合大樹，北川雄光，樋野興夫，佐藤博，岡田保典 「Src は ADAM28 の発現に重要な役割を果たす」第 72 回日本癌学会学術総会（平成 25 年 10 月 4 日 横浜）
3. 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 72 回日本癌学会学術総会（平成 25 年 10 月 3 日 横浜）
4. 宇都 義浩，遠藤良夫，佐藤博
「Akt/Protein Kinase B を標的とした抗転移性低酸素サイトトキシン TX-2137 の開発」第 72 回日本癌学会学術総会（平成 25 年 10 月 5 日 横浜）

<外部資金>

1. 基盤研究（C）（代表）佐藤 博
「膜型マトリックスメタロプロテアーゼによるセリンプロテアーゼ活性化機構の解析」 1,300 千円
2. 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
3. 日本生化学会 JB 論文賞 郭 魯決，滝野隆久，遠藤良夫，堂本貴寛，佐藤博
「Shedding of kidney injury molecule-1 by membrane-type 1 matrix metalloproteinase.」
100 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 を環的としたヒト型活性阻害抗体の開発」
2. 東 昌市（横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科）
「標的 MMPs の活性を特異的に制御する機能分子の開発」
3. 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 MMP-9 阻害性抗転移剤の開発」
4. 天満 敬 （京都大学大学院薬学研究科）
「生体がん組織における MT トロポ P のインピボ機能解析のための核医学分子プローブ開発」

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

外国人教員：李影奕（平成 25 年 9 月～11 月）

技能補佐員：南邦子

大学院生 宋瑤

大学院生 崔平方

大学院生 内藤達志（福井大・医・大学院生）

大学院生 古川芳（自然科学研究科・修士課程）

大学院生 田辺和（自然科学研究科・修士課程）

【研究概要】

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

<直近 1 年間の進捗>

1) 放射線非照射のヌードマウスの骨髄内に Bcr-Abl 遺伝子導入した骨髄前駆細胞を投与することによって，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 CCL3 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。さらに，CML の治療薬であるチロシンキナーゼ阻害剤にたいする治療抵抗性にも，CCL3 が関与していることを示唆する結果が得られた。

2) 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 CCR5 を発現している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ヘパリン結合性上皮増殖因子（HB-EGF）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。さらに，同様の機構がマウス大腸がん細胞株 colon 26 の皮下接種モデルならびに盲腸への接種モデルにおいても作用している可能性を示唆する結果が得られた。

3) 試験管内で gemcitabine を膵臓がん細胞株に添加すると，NF- κ B の活性化を通してケモカイン CXCL8／IL-8 産生が誘導されることを見出した。同時に細胞老化が生

じるが、産生される CXCL8/IL-8 が細胞老化には直接的には関与しないことを示唆する結果が得られた。

4) マウス乳がん細胞株 4T1 細胞株を乳腺脂肪組織に接種することで、骨ならびに肺に転移する亜株を樹立した。

5) シクロホスファミド投与によって、腫瘍特異的な免疫反応が誘導されることを見出した。

<今後の展望>

1) 慢性骨髄性白血病の骨髄内で産生される CCL3 による、正常骨髄細胞が骨髄外への移動過程を、分子・細胞レベルにおいて詳細に解析する。

2) CCL3/CCR5 系の病態生理学的役割を、大腸がん進展過程に焦点を当てて、解析を加える。

3) gemcitabine に産生が誘導される CXCL8/IL-8 の病態生理学的役割を、マウス個体レベルで検討を加える。

4) 4T1 細胞株から樹立した骨転移好発株を用いて、骨転移の分子ならびに細胞機構を解明する。

5) シクロホスファミド投与によって誘導される腫瘍特異的な免疫反応の成立過程を、細胞・分子レベルで解析を加える。

【 研 究 業 績 】

原著論文

分野主体の研究論文

1. Baba T, Naka K, Morishita S, Komatsu N, Hirao A, and Mukaida N. MIP-1 α /CCL3-mediated maintenance of leukemia initiating cells in the initiation process of chronic myeloid leukemia. *J Exp Med* 2013 210 (12): 2661-2673; doi:10.1084/jem20130112..
2. Hamano R, Baba T, Sasaki S, Tomaru U, Ishizu A, Kawano M, Yamagishi M, and Mukaida N. Ag and IL-2 IC efficiently expand Ag-specific Treg cells that migrate in response to chemokines and reduce localized immune responses. *Eur J Immunol* 2014 44 (4): 1005–1015; doi: 10.1002/eji.201343434

他の研究室との共同研究

1. Arai M, Ikawa Y, Chujo S, Haguchi 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* 2013; 69: 25-258. Doi. 10.1016/j.jdermsci.2012.10.010

2. Liu H-X, Lopatina O, Higashida, 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* 2013; 4:1346, DOI: 10.1038/ncomms2336.
3. Egawa M, Mukai K, Yoshikawa S, Iki M, Mukaida N, Kawano Y, Minegishi Y, and Karasuyama H. Inflammatory monocytes recruited to allergic skin acquire anti-inflammatory M2 phenotype via basophil-derived IL-4. *Immunity* 2013 Mar 21; 38(3):570-580. doi: 10.1016/j.immuni.2012.11.014.
4. Hara A, Sakai N, Furuichi K, Sakai Y, Takeya M, Bucala R, Mukaida N, Takuwa Y, Matsushima K, Kaneko S, and Wada T. CCL2/CCR2 augments the production of transforming growth factor-beta1, type 1 collagen and CCL2 by human CD45-/collagen 1-positive cells under high glucose concentrations. *Clin Exp Nephrol* 2013 (in press) PMID:23564379.
5. Murakami Y, Watari K, Shibata T, Uba M, Ureshino H, Kawahara A, Abe H, Izumi H, Mukaida N, Kuwano M, and Ono M. N-myc downstream-regulated gene 1 promotes tumor inflammatory angiogenesis through JNK activation and autocrine loop of interleukin-1 α by human gastric cancer cells. *J Biol Chem* 2013 Aug 30; 288(35):25025-25037. doi: 10.1074/jbc.M113.472068.
6. Oshima H, Ishikawa T, Yoshida GJ, Naoi K, Maeda Y, Naka K, Ju X, Yamada Y, Minamoto T, Mukaida N, Saya H, and Oshima M. TNF- α /TNFR1 signaling promotes gastric tumorigenesis through induction of Nox1 and Gna14 in tumor cells. *Oncogene* 2013; doi: 10.1038/onc.2013.356.
7. Zheng F, Liu B, Wang Z, Yu X-J, Ni Q-X, Yang W-T, Mukaida N, and Li Y-Y. A novel regulatory mechanism of Pim-3 kinase stability and its involvement in pancreatic cancer progression. *Mol Cancer Res* (in press).

総説論文ならびに著書(英文論文に限る)

1. Mukaida N, Sasaki S, and Baba T. Tumor immunotherapy by utilizing a double-edged sword, chemokines. In *Cancer Targeted Drug Delivery; an Elusive Dream*. ISBN 978-1-4614-7875-1, doi 10.1007/978-1-4614-7876-8_4. (Bae YH, Mrsny RJ, and Park K eds.) Springer Science + Business Media New York, pp. 97-118, 2013.

学会発表(筆頭発表者が分野所属の者に限る)

1. Mukaida N. Chemokine-mediated fibrotic changes in tumor development and progression (Invited Speaker). International Conference of Personalized Medicine and

Targeted Therapies in Cancer. Sharjah Institute for Medical Research, University of Sharjah, United Arab Emirates, January 31 to February 2, 2013.

2. Mukaida N and Baba T. MIP-1 α /CCL3-mediated maintenance of leukemia initiating cells in the initiation process of chronic myeloid leukemia. 15th International Congress of Immunology, August 22-27, 2013, Milan, Italy.
3. Baba T. Establishment of CML mouse model to examine the interactive role of normal hematopoietic system on the pathophysiology. 3rd International Symposium on Carcinogenic Spiral and International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa, Jan 24-25, 2013, Kanazawa, Japan.
4. Sasaki S, Baba T, and Mukaida N. CCL3-CCR5 axis regulates progression of fibrosis occurring as a result of chronic colitis in mice. 3rd International Symposium on Carcinogenic Spiral and International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa, Jan 24-25, 2013, Kanazawa, Japan.
5. Mukaida N and Sasaki S. Chemokine-mediated fibrotic changes in tumor development and progression. 8th International Symposium of the Institute Network. June 27-28, 2013, Kyoto, Japan.
6. Sasaki S, Baba T, and Mukaida N. CCL3-CCR5 axis regulates progression of fibrosis/carcinogenesis occurring as a result of chronic colitis in mice. 8th International Symposium of the Institute Network. June 27-28, 2013, Kyoto, Japan.
7. Mukaida N. Expanding roles of the CCL3 axis in carcinogenesis and leukemogenesis process---beyond leukocyte chemotaxis. 2013 Cancer Research Institute Kanazawa University & Fudan University Shanghai Cancer Center Symposium. October 11, 2013, Kanazawa, Japan.
8. 宋瑤, 向田直史. ゲムシタビンによるヒト脾臓がん細胞株でのケモカイン, CXCL8/IL-8発現誘導。 第17回日本がん分子標的治療学会・学術集会。 2013年6月12日～14日。京都。
9. 向田直史. 慢性骨髄性白血病細胞の骨髄生着過程におけるケモカインCCL3の役割の解析。 第22回日本がん転移学会・学術集会・総会。 2013年7月11日～12日。松本。
10. 馬場智久, 向田直史. 慢性骨髄性白血病発症過程における炎症性ケモカインCCL3による白血病幹細胞の維持。 第72回日本癌学会学術集会。2013年10月3日～5日, 横浜。
11. 佐々木宗一郎, 馬場智久, 向田直史. 慢性炎症大腸炎モデルではCCL3/CCR5を介して線維化, 癌化が進行する。 第72回日本癌学会学術集会。2013年10月3日～5日, 横浜。
12. 古川芳, 馬場智久, 中野浩史, 岡部隆義, 向田直史. ゲムシタビンに対する耐性におけるセリン／スレオニン・キナーゼPim-3の関与。第72回日本癌学会学術集会。2013年10月3日～5日, 横浜。

13. Baba T and Mukaida N. Inflammatory chemokines, MIP-1 α /CCL3-mediated maintenance of leukemia-initiating cells in the initiation process of chronic myeloid leukemia. 第42回日本免疫学会学術集会。2013年12月11日~13日, 千葉。
14. Sasaki S, Baba T, and Mukaida N. Crucial involvement of CCL3-CCR5 axis-mediated fibroblast accumulation in colitis-associated carcinogenesis in mice. 第42回日本免疫学会学術集会。2012年12月11日~13日, 千葉。

知的財産

発明者: 馬場智久, 向田直史。 慢性骨髄性白血病モデル動物。 特願2013-011556, 平成25年1月24日出願。

<外部資金>

向田直史

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

慢性炎症に伴う臓器線維化の分子・細胞基盤

直接経費: 2,600 千円, 間接経費: 780 千円

2. 研究成果展開事業・研究成果最適展開支援プログラム (A-STEP) フィージビリティスタディ・ステージ探索タイプ

新規慢性骨髄性白血病モデルを用いた, 抗ケモカイン療法の開発

直接経費: 1,308 千円, 間接経費: 392 千円

馬場智久

1. 科学研究費・基盤研究 (C)

慢性骨髄性白血病発症における正常骨髄細胞との相互作用機構の解明

直接経費: 1,300 千円, 間接経費: 390 千円

佐々木宗一郎

1. 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: 1,800 千円, 間接経費: 540 千円

<共同研究>

学内

1. 医薬保健研究域・薬学系 谷口剛助教

Pim-3 キナーゼ阻害活性を指標とした, 新規の抗がん剤の開発

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 飯田宗穂准教授
発がん過程と腸内細菌叢の相互作用の解析
5. 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・創薬オープンイノベーションセンター 岡部隆義教授
Pim-3 活性阻害作用を指標とした低分子化合物のスクリーニング
2. 東京大学・医学研究科 松島綱治教授
慢性炎症・がん化過程におけるケモカインの病態生理学的役割の解析
3. 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
慢性炎症ならびに発がん過程におけるケモカインの病態生理学的役割の解析
5. 和歌山県立医科大学・医学部 井籠一彦教授
卵巣がん進展過程におけるケモカインの病態生理学的役割の解析
6. 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
7. 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
8. 中国・復旦大学・医学部 李影奕准教授
Pim-3 の病態生化学的解析

その他

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

Organizing Committee, International Conference of Personalized Medicine and Targeted Therapies in Cancer. Sharjah Institute for Medical Research, University of Sharjah, United Arab Emirates, January 31 to February 2, 2013.

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

助 教 木下 健

博士研究員 張 培培

大学院生 (博士課程) 串山 裕子

研究生 趙 天祥

技術補佐員 齋藤 翔子

【研究概要】

細胞死と炎症は共にがん微小環境に大きな影響を及ぼすことから、我々は細胞死と炎症のシグナル伝達の接点で働く蛋白分子群に着目した研究を行っている。近年は、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 に属する細胞内蛋白質に着目した研究を行っている。具体的には、1) PYNOD (NLRP10)の獲得免疫応答における役割, 2) がん細胞における NLRP3 の役割, 3) パイロトーシス (NLR 蛋白などが関与するカスパーゼ 1 依存性プログラム細胞死) の分子機構の研究などを行っている。詳細は以下の通りである。

<2013 年の研究成果, 進捗状況及び今後の計画>

1) 獲得免疫系における PYNOD の機能解析:

PYNOD は我々が発見した NLR ファミリーに属する蛋白質である。我々は細胞レベルでの解析や PYNOD トランスジェニックマウスの解析から、PYNOD はカスパーゼ 1 の機能を阻害することで、IL-1 β などの産生を抑制する作用を持つことを示してきた。ところが、PYNOD 欠損マウスを樹立したところ、明確な自然免疫応答の異常は認められず、むしろ獲得免疫応答の一種である遅延型過敏症応答が著明に抑制されていることが判明した。Eisenbarth らは、PYNOD 欠損マウスでは、抗原を取り込んだ末梢組織の樹状細胞が所属リンパ節へ移動するプロセスが障害されていると報告した。しかし、我々の解析ではそのような異常は確認できなかった。そこで、PYNOD 欠損マウスの T 細胞の抗原応答性や樹状細胞の抗原提供能について *in vitro* 実験系で検討したが、有意な機能低下は認められなかった。今後は、PYNOD 欠損マウスの T 細胞や樹状細胞の生体内での動きをさらに詳細に解析していく予定である。また、PYNOD 欠損マウスの腫瘍免疫応答についても検討する。

一方、大島教授らが開発した C2mE および Gan マウスの胃病変部で PYNOD

の発現が増強していたことから、胃病変形成における PYNOD の関与を検討する目的で、PYNOD 欠損 C2mE および Gan マウスを作成した。PYNOD 欠損 C2mE マウスの胃病変に関して明瞭な差は認められなかった。さらに PYNOD 欠損 Gan マウスについて、現在経過観察中である。

2) がん細胞における NLRP3 の役割の解析：

NLRP3 はインフラマソーム（カスパーゼ 1 活性化複合体）を形成する NLR 蛋白の一つとして注目されているが、我々は NLRP3 が NF- κ B 活性化にも寄与することを示してきた。また、各種がん細胞株において NLRP3 をノックダウンすると IL-1 β , TGF- β , MT1-MMP の mRNA 発現が抑制されることを見出した。そこで、GEO (Gene Expression Omnibus) で種々のヒトがん組織における NLRP3 mRNA の発現を検索したところ、グリオーマにおいて亢進していることが判明した。また、グリオーマ細胞株 U87MG において NLRP3 発現をノックダウンすると TGF- β , MT1-MMP の発現低下、MT1-MMP の基質 (MMP2) 切断活性の減弱、*in vitro* マトリゲル浸潤アッセイにおける浸潤能低下などが認められた。今後は、NLRP3 ノックダウン細胞のがん特性の *in vivo* モデルでの解析、NLRP3 による TGF- β , MT1-MMP 発現誘導の分子機構の解析、グリオーマ治療抵抗性における NLRP3 の関与の可能性の検証などを行う予定である。

また、今後の有望な遺伝子ターゲティング、ゲノム編集技術になると考えられる人工ヌクレアーゼ TALEN の作製技術を導入した。これまでにヒト NLRP3 および caspase-1 遺伝子を標的とする TALEN を設計し、caspase-1 ゲノム遺伝子切断活性を有する TALEN を構築できた。引き続き、caspase-1 ノックアウト細胞の作製および NLRP3 に対する TALEN 構築・ノックアウト細胞作製を試みる。

3) パイロトーシスの分子機構の解析：

パイロトーシスはカスパーゼ 1 依存性のネクローシス様プログラム細胞死で、細菌などに感染したマクロファージで見られる細胞死として発見された。我々は、カスパーゼ 1 を発現する多くのがん細胞株でもパイロトーシスが誘導されることを見出した。また、パイロトーシスはカスパーゼ 1 に対する shRNA で抑制されるが、カスパーゼ 1 阻害剤では抑制されないことを見出し、カスパーゼ 1 の酵素活性に依存しないパイロトーシス誘導機構が存在することを見出した。そこで、パイロトーシスの分子機構をさらに明らかにするために、現在 shRNA ライブラリーを用いたパイロトーシス関連遺伝子の同定を目指した研究を進めている。

【 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, 25:363-372

<学会発表>

1. 須田貴司: パイロトーシス細胞の貪食とそのメカニズム 第22回日本 Cell
Death 学会学術集会 シンポジウム (京都) 2013 年 7 月
2. 須田貴司: パイロトーシスとその被貪食機構 第86回日本生化学会大会
シンポジウム, (横浜) 2013 年 9 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 P Y
NOD の生理的・病理的役割の解明. 5,330 千円
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. 2,210 千円
3. 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. 1,040 千円

<共同研究>

学外

1. 広島大学生物圏科学研究科 加藤 範久 教授
NLRP3 インフラマソーム活性化におけるビタミン B6 の効果の検討
2. 東京薬科大学生命科学部 田中 正人 教授, 西舩 元 助教
腫瘍随伴マクロファージによるがん死細胞貪食とがん免疫抑制機構の解明
3. 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
4. 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

5. 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

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
研究員	足立 恵理		
大学院生	横山 茉梨	大学院生	平井 智子
技術補佐員	丹保 智佳子	技能補佐員	端谷 泉

【研究概要】

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

良性腫瘍と悪性腫瘍の明確な違いが浸潤性である。悪性腫瘍は活発に組織内を浸潤し、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、自律的浸潤性を示す細胞と、非浸潤性細胞に分けられることを観察し、数年前から両者の性質の違いを制御するメカニズムの研究をあらたにスタートした。その結果、ポリコーム抑制系複合体を介したエピゲノム制御異常が浸潤性やがんの悪性形質に関わる遺伝子群の発現に関与することを見出した。

<2013 年の研究成果, 進行状況>

1. CBX/ポリコーム抑制系制御異常を介したがん悪性進展制御の研究

各種ヒトがん細胞は、浸潤性を示さないものとダイナミックな自立的 3-D 浸潤性を示すがん細胞に分けられる。非浸潤性/浸潤性ヒト悪性中皮腫細胞を用いて、非浸潤性と浸潤性を区別するメカニズムとして、1) 浸潤に必須の細胞外マトリックス分解酵素の遺伝子発現がヒストン/DNA のメチル化とポリコーム抑制系複合体 (polycomb Repressive Complex) によって制御されること、2) ポリコーム群タンパク質の翻訳後修飾異常が PRC を介した遺伝子セットの発現抑制の解除に関与すること、3) ポリコーム抑制系は浸潤性に加え、サイトカイン、血管新生、炎症性など、悪性進展に関与する遺伝子群の連動的な発現に関与することなどを明らかにした。悪性形質制御に遺伝子発現のリプログラミング機構が関与する可能性、翻訳後修飾が新しい治療標的となりうる可能性が考えられる。

2. 構造生物学を基盤とする低分子 HGF-Met 系阻害剤創製研究

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，リード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。本年度，活性向上に向けて，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するとともに，約 180,000 の化合物ライブラリーの HTS を実施した。数百個の活性化合物を，2 次スクリーニング，濃度依存性，カウンターアッセイなどによって数十個に絞込んだ。標的タンパク質とヒット化合物の相互作用解析，ヒット化合物類縁体の化学合成とアッセイ，結晶化改善のための糖鎖欠損組換えタンパク質の発現・調製を進めている。

3. 人工低分子 HGF の創製

菅裕明教授（東京大学）と共同で，Met 受容体に高親和性に結合する環状ペプチドを基盤に，HGF と同様の生物活性を示し，HGF に置き換わる可能性のある，人工小分子 HGF の創製に成功した。この技術は人工小分子細胞増殖因子創製を実現するものである。HGF は組織再生や傷害に対する組織の保護作用をもつことから，創薬ベンチャーと大学の連携によって，ALS（筋萎縮性側索硬化症）や脊髄損傷を対象に組換え HGF タンパク質の臨床試験が進められている。HGF タンパク質に置き換わる人工細胞増殖因子の創製は，医薬候補としての可能性をもっている。

4. 悪性黒色腫における Met 発現の階層性と腫瘍形質制御の研究

近年，腫瘍形成能をもつがん幹細胞とそこから派生する腫瘍形成能をもたない腫瘍細胞からなる階層性を介した不均質性の制御がいくつかの固形腫瘍においても示されており，階層性と幹細胞性/不均一性の理解は重要な課題である。B16/B16-F10 メラノーマ細胞を用いて，細胞表面 Met 発現を解析した結果，Met^{low} と Met^{high} の population に分けられ，Met^{low} から Met^{high} population が生じる階層性，両者での造腫瘍性，スフェア形成能などに違いがあることが明らかになった。

<今後の計画>

1. CBX/ポリコーム抑制系制御異常を介したがん悪性進展制御: CBX/ポリコーム群タンパク質の翻訳後修飾異常の詳しいメカニズムと druggable target を明らかにすること，同様のメカニズムが悪性中皮腫以外の複数の腫瘍に関与すること，臨床材料での CBX/ポリコーム群タンパク質の異常制御を明らかにすることなどを進める。
2. 悪性黒色腫における Met 発現の階層性と腫瘍形質制御の研究: 腫瘍形成能制御や幹細胞性制御における Met 発現の意義，ヒト悪性黒色腫における Met 発現の階層性制御などについて解析を進め，階層性の有無/制御と腫瘍形質制御に HGF-Met が関与するかどうかを明らかにする。
3. 小分子人工 HGF の創製と構造解析: 人工小分子 HGF と Met 受容体複合体の構造解析を進め，HGF-Met 系制御の構造基盤を明らかにするとともに，HGF に置き換わる医薬候補分子としての研究を進める。
4. 低分子 HGF-Met 系阻害剤創製: 新規骨格リード化合物の絞込みと類縁体合成，化合物-HGF 複合体の結晶構造解析と化合物デザインなどにより，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. Nakayama M, Sakai K, Yamashita A, Nakamura T, Suzuki Y, Matsumoto K. Met/HGF receptor activation is regulated by juxtamembrane Ser985 phosphorylation in hepatocytes. *Cytokine*, 62: 446-452, 2013.
2. Michikoshi H, Nakamura T, Sakai K, Suzuki Y, Adachi E, Matsugo S, Matsumoto K. α -Lipoic acid-induced inhibition of proliferation and Met phosphorylation in human non-small cell lung cancer cells. *Cancer Lett*, 335: 472-478, 2013.
3. Xu Q, Sakai K, Nakayama M, Suzuki Y, Tambo C, Sakai Y, Matsumoto K. Suppression of fibrogenic gene expression and liver fibrosis using a synthetic prostacyclin agonist. *Biomed Res*, 2013, in press.

(共同研究)

1. 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.
2. 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*, 699: 81-87, 2013.
3. 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*, 133: 505-513, 2013.
4. 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 Oncol*, 42: 535-542, 2013.
5. Ishikawa D, Takeuchi S, Nakagawa T, Sano T, Nakade J, Nanjo S, Yamada T, Ebi H, Zhao L, Yasumoto K, Nakamura T, Matsumoto K, Kagamu H, Yoshizawa H, Yano S. mTOR inhibitors control the growth of EGFR mutant lung cancer even after acquiring resistance by HGF. *PLoS One*. 8: e62104, 2013.
6. Kubota T, Matsumura A, Taiyoh H, Izumiya Y, Fujiwara H, Okamoto K, Ichikawa D, Shiozaki A, Komatsu S, Nakanishi M, Kuriu Y, Murayama Y, Ikoma H, Ochiai T, Nakamura T, Matsumoto K, Nakamura T, Otsuji E. Interruption of the HGF paracrine loop by NK4, an HGF antagonist, reduces VEGF expression of CT26 cells. *Oncol Rep*. 30: 567-572, 2013.
7. Nakamura A, Nagaya N, Obata H, Sakai K, Sakai Y, Yoshikawa M, Hamada K, Matsumoto K, Kimura H. Oral administration of a novel long-acting prostacyclin agonist with thromboxane synthase inhibitory activity for pulmonary arterial hypertension. *Circulation J*, 77: 2127-2133, 2013.

8. Tsunemi S, Iwasaki T, Kitano S, Matsumoto K, Takagi-Kimura M, Kubo S, Tamaoki T, Sano H. Molecular targeting of hepatocyte growth factor by an antagonist, NK4, in the treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*, 15: R75, 2013.
9. Hayakawa H, Ichihara E, Ninomiya T, Takata S, Ohashi K, Masayuki Yasugi, Sakai K, Matsumoto K, Takigawa N, Tanimoto M, Kiura K. Lower gefitinib dose led to earlier resistance acquisition before emergence of T790M mutation in EGFR mutated lung cancer model. *Cancer Sci*, 104: 1440-1446, 2013.
10. Zhao L, Yasumoto K, Kawashima A, Nakagawa T, Takeuchi S, Yamada T, Matsumoto K, Yonekura K, Yoshie O, Yano S. Paracrine activation of MET promotes peritoneal carcinomatosis in scirrhous gastric cancer. *Cancer Sci*, 104: 1640-1646, 2013.
11. Nanjo S, Yamada T, Nishihara H, Takeuchi S, Sano T, Nakagawa T, Ishikawa D, Zhao L, Ebi H, Yasumoto K, Matsumoto K, Yano S. The efficacy and feasibility of Met kinase inhibitor crizotinib combined with new generation EGFR inhibitor on the resistance to EGFR inhibitor by multiple mechanisms. *PLOS ONE*, in press.
12. Uchida T, Hazekawa M, Yoshida M, Matsumoto K, Sakai Y. A novel long-acting prostacyclin agonist (ONO-1301) with an angiogenic effect: promoting synthesis of hepatocyte growth factor and increasing cyclic AMP concentration via IP receptor signaling. *J Pharmacol Sci*, 123: 392-401, 2013.

<学会発表>

1. 櫛川舞, 松本邦夫, 酒井芳紀, 原口珠実, 吉田都, 内田享弘: c-Met のダウンレギュレーションを伴わない新規 PGI₂ アゴニスト反復投与の血管新生作用. 日本薬学会第 133 年会, 2013 年 3 月 28 日(横浜)
2. 伊藤健一郎, 鈴木芳典, 松本邦夫, 菅裕明: 肝細胞増殖因子受容体 c-Met を活性化させるチオエーテル大環状ペプチドの開発. 日本ケミカルバイオロジー学会第 8 回年会. 2013 年 6 月 20 日(東京)
3. 中村隆弘, 酒井克也, 足立恵理, 松本邦夫: Kremen による肺がん細胞における Wnt/ β -catenin シグナルの調節. 第 72 回日本癌学会総会, 2013 年 10 月 3 日(横浜)
4. 酒井克也, 鈴木健之, 矢野聖二, 高橋智聡, 松本邦夫: がん悪性化におけるポリコーム群クロモボックスタンパク質の機能. 第 72 回日本癌学会総会, 2013 年 10 月 4 日(横浜)
5. 小柳潤, 東昌市, 菊地慶司, 酒井克也, 松本邦夫, 宮崎香: TGF- β 阻害剤は in vitro において線維芽細胞の HGF 産生の亢進を介してがん細胞の浸潤を促進する. 第 72 回日本癌学会総会, 2013 年 10 月 5 日(横浜)
6. 松郷誠一, 道越洸充, 中村隆弘, 酒井克也, 松本邦夫: リポ酸によるヒト肺がん細胞増殖抑制機構の解析. 第 8 回 α -リポ酸研究会, 2013 年 10 月 25 日(富山)
7. 酒井克也, 鈴木健之, 矢野聖二, 高橋智聡, 松本邦夫: 悪性腫瘍の浸潤に関わるポリコームタンパク質の翻訳後修飾. 第 36 回日本分子生物学会年会, 2013 年 12 月 4 日(神戸)

＜外部資金＞

1. 松本邦夫：科学研究費補助金 基盤研究（B）「3-D 浸潤性獲得と上皮形態形成制御を基盤とする腫瘍悪性化機構の研究」 6,500 千円
2. 松本邦夫：次世代がん研究推進プロジェクト「結晶構造を基盤とするリード化合物の最適化による低分子 HGF-Met 阻害剤の創製研究」 3,950 千円
3. 松本邦夫：金沢大学戦略的研究推進プログラム（拠点形成型）「アカデミアがん創薬拠点形成のための人材と知の集約・循環プログラム」 3,000 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. 東京大学大学院理学系研究科 菅裕明教授：HGF-Met 系を制御する特殊環状ペプチドの創製と作用機作の研究
4. 神戸大学大学院医学系研究科 西田満准教授・南康博教授：肺がん EGFR 阻害剤に対する耐性獲得における Ror-Met 系の意義とメカニズムの研究
5. 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 木浦勝行教授：HGF-Met 系活性化を介した肺がん分子標的薬耐性獲得の研究
6. 千葉県がんセンター細胞治療開発研究部 田川雅敏教授：NK4 遺伝子治療による悪性中皮腫治療の研究
7. 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
8. 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
9. 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
10. 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
11. 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
12. 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

がん分子標的探索プログラム

分子病態研究分野

<研究スタッフ>

教授 後藤 典子

助教 中田 飛鳥

技能補佐員 武 紀代子

【研究概要】

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

<2013 年の研究成果、進捗状況>

1) 肺がんの HER がん化パスウェイの解析

HER がん化パスウェイに含まれる 139 分子のうち、一分子の発現で、肺腺癌の 5 年生存あるいは再発率において、予後の悪いハイリスク群を予測できる分子は、72 分子得られている。そのうち、ハイリスク群の患者に発現の高い分子 36 分子について、低分子化合物による創薬候補という点から、より絞り込みをかけ、新規分子標的候補としての評価を行っている。現在、MTHFD2, SMOX, VCP などの評価を進めている。

MTHFD2 は、葉酸—グリシン代謝経路にある酵素のひとつである。葉酸—グリシン代謝経路の阻害剤としては、methotrexate (MTX)が、関節リウマチや一部の悪性腫瘍に用いられている他、臨床で利用できる抗がん剤としてあまり開発されていない。ごく最近がん細胞がグリシン依存性であると報告されたため、この代謝経路とがんの病態との関わりが急速に注目されている。MTHFD2 は、いくつかの肺がん細胞株において発現が認められ、siRNA を用いてノックダウンを行うと、グリシンをのぞいた培地で培養した際に、細胞増殖が抑制された。また、軟寒天培地中の足場非依存性増殖や、がん幹細胞様細胞のスフェア形成能力も減弱した。MTHFD2 は、EGF によって発現誘導され、HER チロシンキナーゼ阻害剤 gefitinib によってその発現が減弱する。以上より、肺がん細胞やがん幹細胞様細胞において、HER チロシンキナーゼによって MTHFD2 が発現誘導され、細胞増殖や、がん幹細胞性が維持される可能性が示された。

早期肺癌の術後再発リスクを診断する qRT-PCR 診断薬を目指して、Hazard Ratio をもとに、どの遺伝子発現プロファイルでも予後に相関する 11 遺伝子に絞り込んだ。

2) 乳がん幹細胞におけるがん化パスウェイの解析

HER-PI3 kinase-NFkB がん化パスウェイが、乳がん幹細胞の自己複製能維持に重要であることを新鮮臨床検体を用いて証明した。HER-PI3 kinase がん化パスウェイ並びに HER-NFkB がん化パスウェイの詳細時系列トランスクリプトーム解析を行い、がん幹細胞シグネチャー、新規分子標的候補、がん早期、再発診断マーカー候補分子の抽出を行い、その評価を進めている。Amphiregulin, IGFII, SDF, MICAL3 などが新規分子標的候補として得られた。

3) 乳がんマウスモデルを使ったがん幹細胞の解析

乳がん幹細胞が、周囲の微小環境を形成するがん幹細胞ニッチを利用して生体内に棲みつくしくみの一端を明らかにした。また、正常の幹細胞・前駆細胞には、受容体チロシンキナーゼのシグナル伝達を抑制するたがが仕組まれており、細胞増殖が抑えられている。がん幹細胞はこれも巧みに利用し、自己複製やがん幹細胞ニッチを操り、生体内に棲みつくことも事が明らかになってきた。

FRS2beta アダプター分子は、HER/ErbB 受容体チロシンキナーゼファミリーに恒常的に結合している。HER ファミリー分子のチロシンキナーゼ活性が上昇して、ERK が活性化すると、このリン酸化 ERK と FRS2beta は結合して、ERK の核内への移行を抑制するため、FRS2beta は HER シグナル伝達のフィードバック抑制分子、言い換えれば「たが」として機能している。FRS2beta ノックアウトマウスと、乳がんモデルマウス MMTV-neu とを交配させたマウスの乳がんは、腫瘍の増殖能が悪く、がん幹細胞の機能が弱くなっていることがわかった。現在その分子機序を詳細に解析している。

【 研 究 業 績 】

< 発表論文 >

原著論文

1. Minegishi, Y., Shibagaki, Y., Mizutani, A., Fujita, F., Tezuka, T., Kinoshita, M., Kuroda, M., Hattori, S. & Gotoh, N.: An adaptor protein complex of FRS2beta and CIN85/CD2AP provides a novel mechanism for ErbB2/HER2 protein downregulation. *Cancer Sci.*, 104, 345-352, 2013. (研究室主体)
2. Kohsaka, S., Hinohara, K., Wang, L., Nishimura, T., Urushido, M., Yachi, K., Tsuda, M., Tanino, M., Kimura, T., Nishihara, H., Gotoh, N. & Tanaka, S.: Epiregulin enhances tumorigenicity activating ERK/MAPK pathway in glioblastoma. *Neuro. Oncol.*, in press. (共同研究)
3. Ono, K., Kita, T., Sato, S., O'Neill, P., Mak, S.-S., Paschaki, M., Ito, M., Gotoh, N., Kawakami, K. & Ladher, R.K.: Fgfr1-Frs2/3 Signalling Maintains Sensory Progenitors

during Inner Ear Hair Cell Formation. *PLOS Genetics*, in press. (共同研究)

4. Li, H., Tao, C., Cai, Z., Hertzler-Schaefer, K., Collins, T.N., Wang, F., Feng, G.-S., Gotoh, N. & Zhang, X.: Frs2alpha and Shp2 signal independently of Gab to mediate FGF signaling in lens development. *J. Cell Sci.*, in press. (共同研究)
5. Tomokuni, A., Eguchi, H., Hoshino, H., Dewi, D.L., Nishikawa, S., Kano, Y., Miyoshi, N., Tojo, A., Kobayashi, S., Gotoh, N., Hinohara, K., Fusaki, N., Saito, T., Suemizu, H., Wada, H., Kobayashi, S., Marubashji, S., Tanemura, M., Doki, Y., Mori, M., Ishii, H. & Nagano, H. Effect of in vivo administration of reprogramming factors in the mouse liver. *Oncol. Lett.* 6, 323-328, 2013. (共同研究)
6. Hashimoto, M., Suizu, F., Tokuyama, W., Noguchi, H., Hirata, N., Matsuda-Lennikov, M., Masuzawa, M., Gotoh, N., Tanaka, S. & Noguchi, M.: Protooncogene TCL1b functions as an Akt kinase co-activator which exhibits oncogenic potency in vivo. *Oncogenesis*, 2, e70, doi: 10.1038/oncsis.2013.30. (共同研究)
7. Cai, Z., Tao, C., Li, H., Ladher, R., Gotoh, N., Feng, G.-S., Wang, F. & Zhang, X.: Deficient FGF signaling causes optic nerve dysgenesis and ocular coloboma. *Development*, 140, 2711-2723, 2013. (共同研究)
8. Kano, Y., Tsuchiya, K., Zheng, X., Horita, N., Fukushima, K., Hibiya, S., Yamauchi, Y., Nishimura, T., Hinohara, K., Gotoh, N., Suzuki, S., Okamoto, R., Nakamura, T. & Watanabe, M.: The acquisition of malignant potential in colon cancer is regulated by the stabilization of Atonal homolog 1 protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 432, 175-181, 2013. (共同研究)

<総説>

1. Gotoh N.: Growth factor signaling regulates breast cancer stem cells. In *Practical molecular target for suppression of cancer. Publication in Forum on Immunopathological Diseases and Therapeutics, Begell House Inc. Publisher, CT, USA*, 4, 2013
2. Hinohara, K. & Gotoh, N.: NF-kappaB pathways in breast cancer stem cells for tumorigenesis.
In: *Breast cancer, Bentham eBooks, Bentham Science*, in press.

<学会発表>

国際学会

1. 後藤典子 : "Receptor tyrosine kinase signaling controls breast cancer stem cells." **SNUCRI & KUCRI Symposium**, 2013年7月10日, ソウル, 韓国。
2. Yukino Machida, Daisuke Iejima, Anna Mizutani, Reiko Sakamoto, Yusuke Inoue,

Nobutaka Kobayashi, Naoki Itano, Arinobu Tojo, Nobuaki Yoshida, and Noriko Gotoh :
“Growth factor receptor signaling controls breast cancer stem cells and their niche”
Gradients and Signaling: from chemotaxis to development, 2013年11月11
日～15日, 沖縄, OIST

3. Noriko Gotoh : “Prognostic gene signature and novel molecular targets derived from EGF receptor tyrosine kinase signaling.” , 日韓がんワークショップ, 2013年11月29日～12月1日
4. Yukino Machida, Arinobu Tojo and Noriko Gotoh : “Growth factor receptor signaling controls breast cancer stem cells and their niche”, 日韓がんワークショップ, 2013年11月29日～12月1日
5. Kana Tominaga, Kunihiro Hinohara, Teppei Shimamura, Satoru Miyano, Arinobu Tojo, Noriko Gotoh : “MICAL3 regulates mammosphere formation in human breast cancer.”
Gradients and Signalling: from chemotaxis to development, 2013年11月11日～15日, 沖縄, OIST

全国学会

1. 後藤典子 : 増殖因子制御遺伝子による予後予測診断と癌幹細胞の分子標的
Prognostic gene signature and novel molecular targets derived from growth factor signaling
JCA-JSMO 合同シンポジウム, 第72回日本癌学会学術総会, 2013年10月3～5日, 横浜
2. Kana Tominaga, Hajime Kanauchi, Seiichiro Shimizu, Kotoe Nishioka, Ei-ichi Tsuji, Kei-ichiro Tada, Masaki Mori, Hideshi Ishii, Toshihisa Ogawa, Arinobu Tojo, and Noriko Gotoh : “MICAL3 regulates mammosphere formation in human breast cancer.” **第36回日本分子生物学会年会**, 2013年12月3～6日, 神戸
3. 西村建徳, 中田飛鳥, 東條有伸, 後藤典子 : “MTHFD2 is a key molecule in EGF receptor tyrosine kinase and regulates lung cancer cell growth.” **第36回日本分子生物学会年会**, 2013年12月3～6日, 神戸
4. Yukino Machida, Daisuke Iejima, Natsuko Kimura, Anna Mizutani, Reiko Sakamoto, Yusuke Inoue, Nobutaka Kobayashi, Naoki Itano, Arinobu Tojo, Nobuaki Yoshida, and Noriko Gotoh : “Growth factor receptor signaling controls breast cancer stem cells and their niche” **第36回日本分子生物学会年会**, 2013年12月3～6日, 神戸
5. Yukino Machida, Daisuke Iejima, Anna Mizutani, Reiko Sakamoto, Yusuke Inoue, Nobutaka Kobayashi, Naoki Itano, Arinobu Tojo, Nobuaki Yoshida, and Noriko Gotoh : “Growth factor receptor signaling controls breast cancer stem cells and their niche”
第72回日本癌学会学術総会, 2013年10月3～5日, 横浜

6. Kana Tominaga, Kunihiro Hinohara, Teppei Shimamura, Satoru Miyano, Arinobu Tojo, Noriko Gotoh : “GDF15 promotes mammosphere formation in breast cancer.” 第72回日本癌学会学術総会, 2013年10月3～5日, 横浜
7. 西村建徳, 中田飛鳥, 東條有伸, 後藤典子 : “MTHFD2, an enzyme in a folate-metabolism, is a key molecule in EGF receptor tyrosine kinase and stimulates growth of lung cancer cells.” 第17回日本がん分子標的治療学会, 2013年6月13日, 京都
8. 後藤典子 : “Growth factor receptor signaling controls breast cancer stem cells and their niche” **The 86th Annual Meeting of Japanese Tissue Culture Association**, 2013年5月31日, 筑波
9. 西村建徳, 中田飛鳥, 東條有伸, 後藤典子 : “MTHFD2, an enzyme in folate-metabolism, is a key molecule in EGF receptor tyrosine kinase and regulates lung cancer cell growth.” 第11回 幹細胞シンポジウム, 2013年5月17日, 東京
10. Kana Tominaga, Kunihiro Hinohara, Teppei Shimamura, Satoru Miyano, Arinobu Tojo, Noriko Gotoh : “GDF15 promotes mammosphere formation in breast cancer.” 第11回 幹細胞シンポジウム, 2013年5月17日, 東京
11. Yukino Machida, Daisuke Iejima, Anna Mizutani, Reiko Sakamoto, Yusuke Inoue, Nobutaka Kobayashi, Naoki Itano, Nobuaki Yoshida, and Noriko Gotoh : “Growth factor receptor signaling controls breast cancer stem cells and their niche” 第11回 幹細胞シンポジウム, 2013年5月17日, 東京
12. 日野原邦彦, 島村徹平, 福田裕章, 富永香菜, 金内一, 新井田厚司, 多田敬一郎, 小川利久, 宮野悟, 後藤典子 “A PI3K-dependent gene expression program that regulates mammosphere formation of breast cancer cells.” 第11回 幹細胞シンポジウム, 2013年5月17日, 東京

<外部資金>

1. 後藤典子, 新学術領域研究・研究領域提案型「癌幹細胞」計画研究, 代表, 12,000 千円
2. 後藤典子, 厚生労働科学研究費補助金／第3次対がん総合戦略研究事業, 代表, 6,462 千円
3. 後藤典子, 基盤研究 (B) (一般) 代表, 2,900 千円
4. 後藤典子, 研究成果最適展開支援プログラム シーズ顕在化タイプ, 代表, 5,527 千円
5. 後藤典子, 北国がん基金 研究助成, 1,000 千円
6. 中田飛鳥, 若手 B, 代表, 1,400 千円

＜共同研究＞

1. 井上純一郎 東京大学医科学研究所 「悪性乳癌幹細胞維持における転写因子 NF- κ B の役割解明」
2. 河野隆志 国立がん研究センター 「がん幹細胞形質を増強する肺がん遺伝子異常の同定」
3. 石井秀始, 森正樹 大阪大学消化器外科学 「膵臓がんの薬剤耐性に関わる miRNA の同定」
4. 北嶋俊輔, 高橋智聡 金沢大学がん進展制御研究所 「細胞自律的炎症とメタボリック・リプログラミングによるがん幹細胞維持機構」
5. 鈴木穰 東京大学新領域創成科 「臨床検体乳がんスフェア培養細胞のゲノム解析」
6. Raj Ladher, 理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター 「FGFR 並びに FRS2alpha のマウス個体を用いた内耳発生の解析」
7. Xin Zhang, コロンビア大学, 米国 「FGFR 並びに FRS2alpha のマウス個体を用いた眼と視神経発生の解析」
8. Anna Akhmanova, Utrecht University, オランダ 「MICAL3 の乳がん幹細胞における役割」
9. 北林一生 (国立がん研究センター), 佐谷秀行 (慶応大学) 「乳がん幹細胞の発生機構の解析」

シグナル伝達研究分野

<研究スタッフ>

教 授 善岡 克次

助 教 佐藤 時春

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（博士課程） 石川 桃絵 大学院生（博士課程） 李 蓉

大学院生（修士課程） 太田 雅樹 大学院生（修士課程） I Ketut Gunarta

技術補佐員 猪谷 久世

【 研 究 概 要 】

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

<2013 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

紫外線が皮膚がんの危険因子であることはよく知られている。紫外線応答に関する研究は精力的に行われているが、紫外線応答は複雑であり、分子レベルでの十分な理解には至っていない。我々は、JLP 単純ノックアウト（KO）マウス、および基底細胞特異的 JLP KO [JLP cKO(K5-Cre)] マウスの作出・解析を行い、紫外線 B（UVB）誘

導性アポトーシスがこれら JLP 欠失マウスにおいて有意に抑制されることを見出した。6-4 型ダイマー (6-4PP) を指標に DNA 損傷の修復能を調べたところ、野生型細胞と JLP 欠失細胞の間で有意な差異は認められなかった (金沢大学・松永司博士との共同研究)。一方、UVB 照射による皮膚表皮での p38 MAPK の活性化は、JLP KO 及び JLO cKO(K5-Cre)マウスにおいて、有意に抑制された。さらに、p38 MAPK インヒビターを用いた塗布実験を行い、野生型マウスでは UVB 誘導性アポトーシスが顕著に抑制されるが、JLP KO マウスの場合には、ほとんど影響がないことを確認した。以上のことから、JLP-p38 シグナル経路は UVB 誘導性アポトーシスにおいて重要な役割を担うことが強く示唆された (*Genes Cells*, in press)。

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。また GCP の異常増殖は、髄芽腫を引き起こすと考えられている。我々は、これまでに JSAP1-JNK 経路が GCP の増殖抑制及び分化促進に関わること、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。本年は、主に初代培養 GCP を用いた解析を行い、bFGF/FGF-2 シグナル経路は転写因子 Gli (Shh 経路のエフェクター) の細胞内局在を制御することを示唆する結果を得た。今後、さらに解析を進め、bFGF/FGF-2- MAPK 経路と Shh-Gli 経路のクロストークを詳細に検討する予定である。

3. JSAP1, JLP の生理的機能の解析

JSAP1, JLP の生理的機能の解明に向け、本年は、主に初代培養系を用いた解析を行った。その結果、JSAP1, JLP は Kinesin-1 の微小管結合能を制御する新規制御因子であり、kinesin-1 の多様な積荷の軸索輸送を通じて神経細胞の生存維持に寄与することが示唆された。

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 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、昨年、B16F0 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 (B16-Gli1#8) を樹立し、B16-Gli1#8 が高転移能を示すことを見出した (金沢大学・遠藤良夫博士との共同研究)。本年は、B16-Gli1#8 細胞株の遺伝子発現プロファイルの解析を行った。また、B16-Gli1#8 に比べて Gli1 の発現レベルがより高い細胞株を樹立し、現在、その細胞株の解析を進めている。さらに、Gli1 の発現が誘導可能な細胞株の樹立も行っている。

【 研 究 業 績 】

<発表論文>

原著（研究分野主体）

1. Enkhtuya, R., Sato, T., Wakasugi, M., Tuvshintugs, B., Miyata, H., Sakurai, T., Matsunaga, T., Yoshioka, K. The scaffold protein JLP plays a key role in regulating ultraviolet B-induced apoptosis in mice. *Genes Cells* (in press).

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.* 4: 1346, 2013.

<学会発表>

1. Enkhtuya, R., Tuvshintugs, B., Miyata, H., Sato, T., Yoshioka, K.
Role of the scaffolding protein JLP in UVB-induced apoptosis
第 36 回 日本分子生物学会年会, 2013 年 12 月 4 日, 神戸
2. Gunarta, I.K., Sato, T., Endo, Y., Li, R., Nishiuchi, T., Yamada, Y., Yoshioka, K.
Role of Gli1 transcription activator in the metastasis of melanoma
第 36 回 日本分子生物学会年会, 2013 年 12 月 4 日, 神戸

<外部資金>

平成 25 年度

科学研究費補助金 基盤研究(C) (研究代表者: 善岡克次) 1,200 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: 山田 洋一 (金沢大学)
「がん転移に関わる遺伝子発現制御ネットワークの情報学的解析」

腫瘍制御研究分野

【研究室メンバー】（2013 年現在）

下線は研究指導

教授： 源 利成； 助教(TT)： 堂本貴寛 (12 月～)

博士研究員： 廣瀬まゆみ， 堂本貴寛（～11 月）

大学院博士課程： 金子真美 (本学心肺総合外科学)， 北村祥貴 (本学心肺総合外科学)，
下崎真吾 (本学整形外科学)， 富田泰斗 (金沢医科大学一般・消化器外科学)， 松井
大輔 (本学がん局所制御学～7 月)

医学修士課程： 伊藤有美

技能補佐員： 浅香敦子； 技能補佐員 (ヒトがん組織バンク)： 阿部尚子

共同研究員： 小竹優範 (石川県立中央病院消化器外科)

【研究分野の概要と研究成果】

消化器がんを中心に，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，基礎と臨床を密接に関係づける方向で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．本年 3 月末に川上和之（准教授）の退職後は，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の課題は継続しないこととした．これにともない本年 12 月までスタッフが不在であったことと，9 月に第 24 回日本消化器癌発生学会総会と県民市民を対象に一般公開プログラムを担当したことにより，研究活動がかなり停滞したことは否めず（研究業績を参照），反省している．

1. Wnt 経路に関わる新しい分子細胞機構の検討

Wnt 経路の制御破綻が固有のがん化シグナルを誘発する仕組みと，それを修飾する分子細胞機構について β -カテニンを中心に研究を進めている．これまでに，大腸がんの腫瘍－宿主境界の腫瘍環境で活性化される β -カテニンを機軸とするがん化経路の病理作用を明らかにしてきた．そのなかで， β -カテニンが RNA 安定化因子 CRD-BP (coding region determinant-binding protein)を転写誘導することを数年前に同定した．今年度までに，大腸がん病巣を対象に解析を進め，CRD-BP は c-Myc や IGF-II の発現 (mRNA 安定化) と相関し，がんのリンパ節転移や病期の分子指標になることを示唆する結果が得られた．現在，蛋白質レベルの発現解析を計画している．

がん細胞における β -カテニン活性化の仕組みについて，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ほとんどなされていない．核局在ドメインがない 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．本学 Richard Wong 教授の発案で，複数のヒト大腸がん細胞ではある特定の Nups が β -カテニンや Tcf-4 の核内における発現を調節していることを見出した．少数例の大腸がん組織の解析では，がんの病期と相関するある種の Nup(s) を同定し， β -カテニンの発現や局在との比較解析を開始した．これらの Nups が大腸がんの β -カテニン活性化に重要な役割を果たしていると考えて，研究を続けている．

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

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，腫瘍細胞に治療（抗がん剤，放射線）抵抗性を賦与すること

を発見し、報告してきた。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・希少がん治療の臨床研究を学内外の施設の協力を得て進めている。

本酵素阻害によるがん治療効果の分子機構として、この数年来、がん細胞の糖エネルギー代謝に及ぼす作用を検討してきた。代謝の網羅的解析により、がん細胞の原始的な糖代謝 Warburg 効果における GSK3 β の責任作用を示唆する中間代謝産物量の変化を見出した。そして、個々の代謝経路の変化を調べることにより、解糖系からミトコンドリアの酸化的リン酸化経路への起点を触媒する代謝酵素の状態（リン酸化や活性）に GSK3 β が影響していることを見出した。がん特有の代謝はがん生物学（Hanahan D & Weinberg RA. Cell 2011;144:646-74）の根源的特性と考えられているので、その中枢をなすがん糖代謝の仕組みの一端を明らかにしたい。

GSK3 β 阻害によるがん治療への取組みとして、1) GSK3 β 阻害作用が科学的に証明された医薬品の repurposing による膠芽腫と膵がん治療の臨床研究（UMIN No. 000005111, 000005095；特願 2013-093072）の継続；2) 創薬への応用を考えた 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準備を進めるとともに、3) 研究対象を希少・難治性の骨肉腫や消化管発がん動物モデル（食道、大腸）に広げ、GSK3 β 阻害によるがん治療とがん（化学）予防効果を検討したい。

3. エピジェネティクスを標的にするがん診断・治療法の開発

大腸がんを対象に、発がん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・治療に応用することを目的としている。エピジェネティックな変化のうち、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 遺伝子変異などのジェネティック解析を順次追加し、大腸発がん分子経路を再構築中である。これまでに、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、各臨床病期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、がんの浸潤や転移に伴う変化は乏しいと考えられた。この結果から、LINE-1 の低メチル化を指標にしたがんの早期診断への応用を目的として、血液や便中の DNA メチル化解析を行っている。

【附記】本課題は川上（前准教授）の指導で、本学心肺総合外科学大学院生と共同研究者が継続中であり、今年の概要を改定、転載した。

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礎資源として、2008 年から本事業を開始した。2010 年にこの事業を当研究所ヒトがん組織バンクに継承し、現在に至っている。これらの組織・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】

[註]アンダーラインは研究室スタッフ, メンバー, 研究協力員および共同研究員

論文発表

原著

1. Suzuki R, Yamamoto H, Ngan CY, Ohtsuka M, Kitani K, Uemura M, Nishimura J, Takemasa I, Mizushima T, Sekimoto M, Minamoto T, Doki Y, Mori M. Inhibition of angiopoietin 2 attenuates lumen formation of tumour-associated vessels in vivo. *Int J Oncol* 43 (5):1447-55, 2013.
2. Oshima H, Ishikawa T, Yoshida GJ, Naoi K, Maeda Y, Naka K, Ju X, Yamada Y, Minamoto T, Mukaida N, Saya H, Oshima M. Activation of TNF- α /TNFR1 signaling in bone marrow-derived cells promotes gastric tumorigenesis. *Oncogene* 2013 Aug 26. doi: 10.1038/onc.2013.356. [Epub ahead of print]
3. 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* 13 (5): 423-9, 2013. 2012 Jun 26. doi: 10.1038/tpj.2012.26. [Epub ahead of print].
4. Pyko IV, Nakada M, Sabit H, Lei T, Furuyama N, Hayashi Y, Kawakami K, Minamoto T, Fedlau AS, Hamada JI. Glycogen synthase kinase 3 β inhibition sensitizes human glioblastoma cells to temozolomide by affecting O⁶-methylguanine DNA methyltransferase promoter methylation via c-Myc signaling. *Carcinogenesis* 34 (10): 2206-17, 2013.
5. 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* 8 (2): e55289, 2013.

著書・総説

なし

学会発表

国際学会

1. Takahiro Domoto, Takahisa Takino, Toshinari Minamoto, Hiroshi Sato. Cleavage of hepatocyte growth factor activator inhibitor-1 by membrane-type MMP-1 stimulates tumor cell invasion and metastasis. The 3rd International Symposium on Carcinogenic Spiral & International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa 2013, January 24-25, 2013, Kanazawa Excel Hotel Tokyu, Kanazawa, Japan.
2. Mayumi Hirose, Takahiro Domoto, Yumi Ito, Kazuyuki Kawakami, Toshinari Minamoto. Therapeutic effect of GSK3 β inhibition by drugs in clinical use against colon and pancreatic cancer. The 3rd International Symposium on Carcinogenic Spiral & International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa 2013, January 24-25, 2013, Kanazawa Excel Hotel Tokyu, Kanazawa, Japan.

3. Takeo Shimasaki, Yasuhito Ishigaki, Ayako Kitano, Takanobu Takata, Tomiyasu Arisawa, Nobuhiko Ueda, Takeo Kosaka, Tsutomu Takegami, Yoshiharu Motoo, Naohisa Tomosugi, Toshinari Minamoto. GSK3 β is an emerging therapeutic target in pancreatic cancer: its implication for cancer cell migration and invasion. DDW 2013, May 18-21, 2013, Orange County Convention Center, Orlando, FL, U.S.A.
4. Shingo Shimosaki, Norio Yamamoto, Hideji Nishida, Hiroaki Kimura, Akihiko Takeuchi, Kentaro Igarashi, Takashi Kato, Yu Aoki, Toshinari Minamoto, Hiroyuki Tsuchiya. The novel therapy for osteosarcoma by targeting GSK-3 β . International Society of Limb Salvage 2013 (17th General Meeting), September 11-13, 2013, AdArte Eventi, Bologna, Italy.
5. Toshinari Minamoto. Targeting GSK3 β in colorectal and refractory cancers. 7th Conference of the International Society of Gastroenterological Carcinogenesis, November 15-16, 2013, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, U.S.A.
6. Mitsutoshi Nakada, Takuya Furuta, Hemragul Sabit, Yuri Chikano, Yutaka Hayashi, Hiroshi Sato, Toshinari Minamoto, Jun-ichiro Hamada. Glycogen synthase kinase 3 β promotes glioma invasion via FAK/Rac1/JNK/MMP pathway. 4th Quadrennial Meeting of the World Federation of Neuro-Oncology & 18th Annual Meeting of the Society for Neuro-Oncology, November 21-24, 2013, Marriott Marquis Hotel, San Francisco, California, U.S.A

国内学会

7. 堂本貴寛, 源 利成. がんの代謝と治療標的 GSK3 β の接点. 日本癌学会シンポジウム：がん代謝シンポジウム 2013, 2013 年 1 月 17 日－18 日, 慶應義塾大学医学部信濃町キャンパス北里記念医学図書館講堂, 東京.
8. 廣瀬まゆみ, 堂本貴寛, 伊藤有美, 川上和之, 源 利成. GSK3 β を標的とした既存医薬品を用いた大腸がん治療法の開発. 第 78 回大腸癌研究会, 2013 年 1 月 18 日, 都市センターホール, 東京.
9. 宮下勝吉, 中田光俊, 林 裕, 渡邊卓也, 古田拓也, 淑瑠へムラサビット, 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の免疫組織学的検討. 第 31 回日本脳腫瘍病理学会, 2013 年 5 月 24 日－25 日, FKC Hall 国際ファッションセンター, 東京.
10. 小竹優範, 川上和之, 伴登宏行, 山田哲司, 渡邊 剛, 源 利成. DNA メチル化パターンからみた大腸がんの特徴. 第 79 回大腸癌研究会, 2013 年 7 月 5 日, 梅田スカイビル, 大阪.
11. 富田泰斗, 藤田 純, 森岡絵美, 甲斐田大資, 大西敏雄, 大野由夏子, 野口美樹, 舟木 洋, 藤田秀人, 木南伸一, 中野泰治, 上田順彦, 小坂健夫, 源 利成. 大腸癌における β -catenin の転写標的 CRD-BP の発現と臨床病理学的因子との比較検討. 第 79 回大腸癌研究会, 2013 年 7 月 5 日, 梅田スカイビル, 大阪.
12. 島崎猛夫, 石垣靖人, 元雄良治, 上田順彦, 有沢富康, 小坂健夫, 源 利成, 友杉直久. GSK3 β を標的とした既存医薬品による膵がんの新規治療. 第 44 回日本膵臓学会大会, 2012 年 7 月 25 日－26 日, 仙台国際センター, 仙台.
13. 堂本貴寛, 廣瀬まゆみ, 紙健次郎, 曾我朋義, 江角浩安, 源 利成. 大腸がんの糖代謝経路における GSK3 β の機能解析. 第 24 回日本消化器癌発生学会総会：シ

ンポジウム1. がんの代謝特性とがん生物学, 2013 年 9 月 5 日ー6 日, 石川県立音楽堂, 金沢.

14. 小竹優範, 川上和之, 伴登宏行, 山田哲司, 渡邊 剛, 源 利成. DNA メチル化パターンからみた大腸がんの特徴. 第 24 回日本消化器癌発生学会総会, 2013 年 9 月 5 日ー6 日, 石川県立音楽堂, 金沢.
15. 廣瀬まゆみ, 堂本貴寛, 伊藤有美, 源 利成. 既存医薬品を用いた GSK3 β 阻害による大腸がん治療法の開発. 第 24 回日本消化器癌発生学会総会, 2013 年 9 月 5 日ー6 日, 石川県立音楽堂, 金沢.
16. 藻寄 茜, 小林亜紀子, 源 利成, Richard Wong. 大腸癌における核膜孔複合体因子と β -catenin の相互作用と機能解析. 第 24 回日本消化器癌発生学会総会, 2013 年 9 月 5 日ー6 日, 石川県立音楽堂, 金沢.
17. 藻寄 茜, 小林亜紀子, 源 利成, Richard Wong. 大腸癌における β -catenin と TCF-4 の核輸送を介在する核膜孔複合体の役割. Akane Moyori, Akiko Kobayashi, Toshinari Minamoto, Richard Wong. Putative role for nuclear pore complex in mediating nuclear transportation of β -catenin and TCF-4 in colorectal cancer. 第 86 回日本生化学会大会, 2013 年 9 月 11 日ー13 日, パシフィコ横浜, 横浜.
18. 堂本貴寛, 廣瀬まゆみ, 曾我朋義, 江角浩安, 源 利成. 大腸がん細胞の糖代謝特性における GSK3 β の病的作用. Takahiro Domoto, Mayumi Hirose, Tomoyoshi Soga, Hiroyasu Esumi, Toshinari Minamoto. Putative pathological role of GSK3 β in aberrant glucose metabolism in colon cancer cells. 第 72 回日本癌学会学術総会, 2013 年 10 月 3 日ー5 日, パシフィコ横浜, 横浜.
19. 中田光俊, ピコ イリア, 淑瑠へムラサビット, 林 裕, 源 利成, 濱田潤一郎. GSK3 β 阻害による膠芽腫のテモゾロミド増感作用と c-myc シグナルを介した MGMT プロモーターメチル化促進効果. Mitsutoshi Nakada, Ilya V. Pyko, Hemragul Sabit, Yutaka Hayashi, Toshinari Minamoto, Jun-ichiro Hamada. GSK3 β inhibition sensitizes glioblastoma cells to temozolomide by MGMT promoter methylation via c-Myc signaling. 第 72 回日本癌学会学術総会, 2013 年 10 月 3 日ー5 日, パシフィコ横浜, 横浜.
20. 廣瀬まゆみ, 伊藤有美, 堂本貴寛, 源 利成. GSK3 β 阻害作用を有する医薬品の大腸がんに対する治療効果. Mayumi Hirose, Yumi Itoh, Takahiro Domoto, Toshinari Minamoto. Therapeutic effect of the GSK3 β -inhibiting drugs against colon cancer. 第 72 回日本癌学会学術総会, 2013 年 10 月 3 日ー5 日, パシフィコ横浜, 横浜.
21. 中田光俊, 林 裕, 古田拓也, 宮下勝吉, 淑瑠へムラサビット, ピコイリア, 田中慎吾, 喜多大輔, 毛利正直, 林 康彦, 内山尚之, 源 利成, 濱田潤一郎. 多機能キナーゼ GSK3 β を標的とした膠芽腫治療の基礎と臨床. Mitsutoshi Nakada, Yutaka Hayashi, Takuya Furuta, Katsuyoshi Miyashita, Hemragul Sabit, Ilya V. Pyko, Daisuke Kita, Masanao Mohri, Yasuhiko Hayashi, Naoyuki Uchiyama, Toshinari Minamoto, Jun-ichiro Hamada. Translational research on GSK3 β as a molecular therapeutic target against glioblastoma. 第 72 回日本脳神経外科学会総会シンポジウム: 2013 年 10 月 16 日ー18 日, パシフィコ横浜, 横浜.
22. 宮下勝吉, 中田光俊, 林 裕, 渡邊卓也, 木下雅史, 田中慎吾, 古田拓也, 淑瑠へムラサビット, 喜多大輔, 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 相臨床試験における患者背景とバイオマーカーに関する検討. 第 72 回日本脳神経外科学会総会シンポジウム：2013 年 10 月 16 日－18 日，パシフィコ横浜，横浜.

23. 古田拓也，中田光俊，淑留へムラサビット，宮下勝吉，林 裕，源 利成，濱田潤一郎. 膠芽腫マウスモデルに対する既存の GSK3 β 阻害医薬品の効果. 第 72 回日本脳神経外科学会総会シンポジウム：2013 年 10 月 16 日－18 日，パシフィコ横浜，横浜.
24. 下崎真吾，山本憲男，西田英司，木村浩明，武内章彦，五十嵐健太郎，加藤貴士，源 利成，土屋弘行. 骨肉腫に対する GSK-3 β 阻害薬を用いた分子標的治療. The molecular target therapy for osteosarcoma using GSK-3 β inhibitors. 第 28 回日本整形外科学会基礎学術集会，2013 年 10 月 17 日－18 日，幕張メッセ国際会議場，幕張，千葉.
25. 下崎真吾，山本憲男，西田英司，木村浩明，武内章彦，五十嵐健太郎，加藤貴士，青木 裕，源 利成，土屋弘行. Shingo Shimosaki, Norio Yamamoto, Hideji Nishida, Hiroaki Kimura, Akihiko Takeuchi, Kentaro Igarashi, Takashi Kato, Yu Aoki, Toshinari Minamoto, Hiroyuki Tsuchiya. GSK3 β を標的とする骨肉腫の新規治療法の可能性. 第 51 回日本癌治療学会学術集会，2013 年 10 月 24 日－26 日，国立京都国際会館，京都.
26. 宮下勝吉，中田光俊，林 裕，木下雅史，古田拓也，淑留へムラサビット，渡邊卓也，喜多大輔，源 利成，濱田潤一郎. 再発膠芽腫に GSK3 β 阻害作用を有する薬剤を用いた第 I・II 相臨床試験. 第 31 回日本脳腫瘍学会，2013 年 12 月 8 日－10 日，フェニックス・シーガイアリゾート，宮崎.
27. 古田拓也，中田光俊，淑留へムラサビット，宮下勝吉，林 裕，源 利成，濱田潤一郎. 膠芽腫細胞株に対する GSK3 β 阻害医薬品の効果解析. 第 31 回日本脳腫瘍学会，2013 年 12 月 8 日－10 日，フェニックス・シーガイアリゾート，宮崎.

講演，その他

28. 源 利成. 研究の質と評価：独創性と国際性－みんなで考えてみよう－. 石川県立金沢泉丘高等学校 SSH 模擬講義，2013 年 1 月 11 日，金沢医科大学，河北郡内灘町，石川.
29. 源 利成. がんの代謝と GSK3 β . がん代謝セミナー，2013 年 5 月 23 日，金沢大学がん進展制御研究所，金沢.
30. 源 利成. 消化器がん研究から難治がん制御への歩み：金沢発の小さな一歩. 第 24 回日本消化器癌発生学会総会：会長講演，2013 年 9 月 5 日－6 日，石川県立音楽堂，金沢.
31. 源 利成. がん医科学とがん医療：消化器がんを中心に. 2013（平成 25）年度石川県看護師資質向上研修【がん看護】，2013 年 10 月 7 日，金沢大学附属病院，金沢.

32. 源 利成，大腸がん研究から同定した治療標的：難治がん制御への応用．順天堂大学大学院病理腫瘍学特別セミナー，2013年12月12日，順天堂大学医学部本郷キャンパス，東京．
33. 源 利成，研究力と臨床力：研究と臨床は表裏一体．順天堂大学基礎研究医養成プログラムM1「医学研究入門Ⅱ」セミナー，2013年12月12日，順天堂大学医学部さくらキャンパス，酒々井，千葉県．

外部資金（2013年度が含まれる課題）

1. 2013－2014年度 科学研究費補助金（挑戦的萌芽）：課題番号 25670572
源 利成（代表），杉山直幸（連携）
課題：蛋白質リン酸化特性の網羅的解析による大腸がんの病態解明と制御への応用
研究経費：3,770千円
2. 2013－2015年度 科学研究費補助金（若手研究B）：課題番号 25860233
堂本貴寛（代表）
課題：エネルギー代謝特性に基づく消化器がん病態解明と制御への応用
研究経費：3,770千円
3. 2012－2013年度 金沢大学重点研究経費（拠点形成型）
松本邦夫（代表），源 利成，ほか（分担）
課題：アカデミアがん創薬拠点形成のための人材と知の集約・循環プログラム
研究経費：4,000千円
4. 2012－2013年度 金沢大学重点研究経費（拠点形成型）
Richard Wong（代表），源 利成，ほか（分担）
課題：細胞核輸送分子機構の機能的および構造的動態の解析
研究経費：4,000千円
5. 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
研究経費：16,340千円
6. 2011－2013年度 科学研究費補助金（基盤研究C）：課題番号 23591955
廣瀬まゆみ（代表），源 利成，川上和之（分担）
課題：GSK3β阻害による消化器がん治療法の開発と分子機構の解明
研究経費：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
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
研究経費：4,550千円

8. 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
研究経費：5,200 千円
9. 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
研究経費：5,200 千円

奨学寄附金

10. 2013 年 3 月 株式会社アルプ 294 千円
11. 2013 年 3 月 財団法人石川県予防医学協会 722 千円
12. 2013 年 3 月 財団法人石川県予防医学協会 400 千円

共同研究

1. 2013 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（特定）
島崎猛夫，ほか
課題：GSK3 β 阻害による膵がん治療法の分子基盤の解明と臨床試験への応用
2. 2013 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
松田陽子，ほか
課題：Nestin の制御による膵癌幹細胞および腫瘍新生血管に対する新たな治療戦略
3. 2013 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
小坂健夫，富田泰斗，ほか
課題：新規の Wnt 経路分子を中心とする大腸がんの分子病理学的特性と病態の解明
4. 2013 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
太田哲生，ほか
課題：GSK3 β 阻害による食道発癌の予防とその機序の解明

特許出願

1. 日本国特許出願 2013 年 4 月 25 日
出願番号：特願 2013-093072
発明者：島崎猛夫，中田光俊，源 利成
出願者：学校法人金沢医科大学，国立大学法人金沢大学
名称：膵臓癌治療剤

報 道

該当なし

その他

1. 第 24 回日本消化器癌発生学会総会を開催（総会長を担当）
会場：石川県立音楽堂（邦楽ホール，交流ホール）
会期：2013 年 9 月 5 日（木），6 日（金）
URL：<http://jsgc2013.jp/>
2. 第 24 回日本消化器癌発生学会総会一般公開プログラムを併催
会場：石川県立音楽堂 邦楽ホール
日時：2013 年 9 月 5 日（木）16 時～18 時
時局講演：神谷研二（広島大学原爆放射線医科学研究所，福島県立医科大学）
「福島原発事故と県民の健康管理」
育成講演：山下智茂（学校法人稲置学園 理事，星稜高等学校野球部 名誉監督）
「ありがとう 高校野球 38 年間の一期一会に感謝します」

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： 丹下正一郎 事務補佐員： 小田原敦子
大学院生（博士課程）： Zanabazar Enkhbaatar Dulamsuren Oktyabri

【研究概要】

がん細胞においては、ゲノム DNA のメチル化やヒストンの翻訳後修飾の脱制御が、高頻度に検出される。こうしたエピジェネティクス制御の異常は、可逆的に元の状態に戻すという治療戦略が考えられるため、次世代のがん治療の標的として注目されている。当研究分野では、ウイルス感染発がんモデルマウスを用いて、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多くが同定された。これらの酵素は、がん細胞の増殖ばかりでなく、がん細胞の運動・浸潤、上皮・間葉転換、薬剤耐性獲得、低酸素応答など、がんの悪性進展過程にも関与することが示唆されており、酵素の新しい役割を明らかにするため、機能解析を進行している。

<今年度の研究成果，進行状況と今後の計画>

1) 上皮-間葉転換 (EMT) におけるヒストンのメチル化制御酵素の役割

ヒストン H3 の 4 番目の Lys (H3K4) の脱メチル化酵素 KDM5B は、様々な種類のがんで高発現が見られ、がん細胞の浸潤能を亢進する活性をもつことを以前に報告した。今回、KDM5B が、がん細胞の EMT を誘導することを新たに見いだした。KDM5B の高発現は、EMT 誘導に重要な転写制御因子のうち、ZEB1, ZEB2 の発現を上昇させた。これは、ZEB 転写制御因子の発現を抑制している microRNA-200 ファミリーの発現抑制に起因する。KDM5B が miR-200 遺伝子クラスターの発現制御領域にリクルートされ、H3K4me3 を脱メチル化する一方、H3K27me3 レベルを増加させ、転写抑制的クロマチン構造を誘導することがわかった。さらに、がん細胞株を用いた実験だけでなく、ヒト肺がん組織において、KDM5B の発現レベルと ZEB1, ZEB2 の発現レベルの間に、正の相関関係があることが示された（論文 1）。また、H3K27 脱メチル化酵素である JMJD3 は、その発現の低下が EMT を促進するが、同様に miR-200 を標的として発現調節を行うことがわかった。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。

2) がんの悪性進展の諸過程におけるヒストンのメチル化制御酵素の関与

がん細胞の薬剤耐性獲得や低酸素応答におけるメチル化制御酵素の機能解析を進めている。これまでに、JMJD3 脱メチル化酵素の発現低下が、肺がん細胞株の EGFR-TKI や ALK 阻害薬に対する耐性獲得を亢進することを見いだした。miR-200 の発現抑制による EMT の誘導が薬剤耐性獲得の共通のメカニズムと考えられ、さらに詳細な解析を進めている。また、低酸素刺激に応答して発現変化する因子として、H3K27 脱メチル化酵素群の発現誘導を新たに検出した。ヒストン H3K27 のメチル化制御が、低酸素によるがん悪性化に対する細胞の防御応答を担っている可能性が示唆されるため、酵素で発現調節される標的遺伝子の探索を通して、低酸素応答における役割を解析している。

3) 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、*Jmjd5* 欠損マウスを作製した。表現型解析の結果、欠損マウスは著しい成長阻害と血管発生異常を伴い、胎生 11 日目前後に胚性致死となった。血管特異的 *Jmjd5* 欠損マウス (*Tie2-Cre; Jmjd5^{lox/lox}*) の表現型解析およびマウス胚線維芽細胞を用いた解析によって、胚性致死は細胞レベルの増殖異常に起因する可能性が示唆された。このとき欠損胚では、*p21* を含む *p53* 下流標的遺伝子群の発現が同時に上昇しており、*Jmjd5* / *p53* ダブル欠損胚の表現型異常は *Jmjd5* 欠損胚と比べて著しく回復していた。クロマチン免疫沈降実験の結果、*Jmjd5* は内在性 *p53* 蛋白質の標的遺伝子座へのリクルートや *p21/Cdkn1a* 遺伝子座上のヒストン H3K36 メチル化状態を負に制御することで、その発現に関与している可能性が示唆された。以上より *Jmjd5* は、最も主要ながん抑制遺伝子のひとつである *p53* の関連シグナルを制御し、正常な個体発生を調節していることを見いだした。

4) がん細胞における DNA の脱メチル化に関与する酵素の解析

細胞のがん化とゲノム DNA のメチル化との関連については膨大な研究の蓄積がある一方、がん化と DNA の脱メチル化制御についての研究は未だ十分ではない。DNA の積極的脱メチル化の第一段階を担う TET1 酵素の発現を様々な細胞で調べたところ、がん細胞株の間で高発現と極端な低発現という二極化の傾向を示した。TET1 低発現を示した細胞は、CpG アイランドメチル化形質(CIMP)陽性の細胞株であり、これらの細胞では TET1 遺伝子発現制御領域が高度にメチル化されているがわかった。CIMP は、がん患者の予後と深く関係していることが報告されているが、その誘導および成立のメカニズムはほとんど解明されていない。CIMP 表現型と TET1 の低発現との関係性を調べるために、がん関連遺伝子によって CIMP 陽性細胞を誘導するモデル実験系を樹立し、その過程における TET1 酵素の発現制御の解析をスタートした。

【 研 究 業 績 】

< 発表論文 >

原著

(研究室主体)

1. Enkhbaatar Z, Terashima M, Oktyabri D, Tange S, Ishimura A, Yano S and Suzuki T. KDM5B histone demethylase controls epithelial-mesenchymal transition of cancer cells by regulating the expression of the microRNA-200 family. Cell Cycle, 12, 2100-2112, 2013.

著書・総説

1. Suzuki T, Terashima M, Tange S, Ishimura A. Roles of histone methyl-modifying enzymes in development and progression of cancer. Cancer Science, 104, 795-800, 2013.

< 学会発表 >

1. Suzuki T. Involvement of histone demethylases in cancer identified by retroviral insertional mutagenesis. 2013 SUCRI-KUCRI Joint Symposium (ソウル, 韓国 2013 年 7 月)
2. Suzuki T, Tange S, Enkhbaatar Z, Oktyabri D, Terashima M and Ishimura A. Involvement of histone methyl-modifying enzymes in cancer identified by retroviral insertional mutagenesis. 第72回日本癌学会学術総会 (横浜2013年10月)
3. Suzuki T. Involvement of histone methyl-modifying enzymes in cancer development identified by retroviral insertional mutagenesis. 2013 KUCRI-FUSCC Joint Symposium (金沢2013年10月)
4. Ishimura A, Tange S, Oktyabri D, Enkhbaatar Z, Hara T and Suzuki T. JmjCファミリー遺伝子Jmjd5による新しい遺伝子発現制御メカニズムの解析, 第36回日本分子生物学会年会 (神戸2013年12月)
5. Tange S, Enkhbaatar Z, Terashima M, Oktyabri D, Ishimura A. and Suzuki T. がん細胞の上皮間葉転換におけるヒストン脱メチル化酵素の機能解析, 第36回日本分子生物学会年会 (神戸 2013 年 12 月)

一般対象

1. 鈴木健之, 金沢大学公開講座「ウイルス感染とがん発症」, 金沢 2013 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 1,300 千円
研究課題名「ウイルス挿入変異法で同定されたエピゲノム制御因子による疾患発症機構の解析」
2. 文部科学省科学研究費補助金, 新学術領域研究 (がん微小環境)
研究分担者 鈴木健之 1,000 千円
研究課題名「呼吸器悪性腫瘍の微小環境の特性を標的とした新規制御法の開発」
3. 文部科学省科学研究費補助金, 基盤研究 (C)
研究代表者 石村昭彦 1,400 千円
研究課題名「がん関連遺伝子 Jmjd5 の新しい遺伝子発現制御機構の解析」
4. 金沢大学戦略的研究推進プログラム
研究代表者 丹下正一郎 500 千円
研究課題名「DNA 脱メチル化に関与する酵素 TET1 のがん細胞における機能解析」

<共同研究>

1. 木村 宏 准教授 大阪大学大学院生命機能研究科 がんの悪性進展過程におけるヒストンの翻訳後修飾変化の解析
2. 小出 寛 准教授 金沢大学医薬保健研究域医学系 DNA の積極的脱メチル化に関わる酵素群の幹細胞およびがん細胞における役割の解析
3. 中田 光俊 講師 金沢大学医薬保健研究域医学系 神経腫瘍における IDH 酵素と TET 酵素の関係性の解析
4. 仙波 憲太郎 教授 早稲田大学理工学術院先進理工学部 アンプリコン導入乳癌発症モデルにおけるエピゲノム変化の解析

がん分子標的医療開発プログラム

腫瘍内科研究分野

<研究スタッフ>

教授	矢野 聖二	臨床准教授	大坪 公士郎
准教授	安本 和生	講師	毛利 久継 (8月から)
講師	山田 忠明 (7月まで)	助教	竹内 伸司
助教	山下 要	助教	南條 成輝 (8月から)
助教	衣斐 寛倫	医員	谷本 梓
医員	小谷 浩	博士研究員	佐野 峻子
特任助手	北 賢二	修士研究員	新井 祥子
博士研究員	福田 康二	大学院生	中出 順也
大学院生	中川 学之		
大学院生	ZHAOLU		
事務補佐員	岡本 恵子	事務補佐員	堂林 淳子

【研究概要】

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

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

<2013 年の研究成果、進捗状況>

1. EGFR-TKI 耐性を惹起する BIM 遺伝子多型に着目し、BIM 遺伝子多型を有し EGFR-TKI によるアポトーシス抵抗性を示す日本人由来肺がん細胞株 PC-3 を新たに発見した。PC-3 は、EGFR-TKI によるアポトーシスに抵抗性を示したが、野生型 BIM 遺伝子導入により EGFR-TKI によるアポトーシスに感受性となったことから、BIM 遺伝子多型が EGFR-TKI 耐性因子であると確認された。さらに、BIM 遺伝子多型に起因した EGFR-TKI 耐性は、皮膚 T 細胞性リンパ腫に認可されている HDAC 阻害薬であるボリノスタットを併用することで解除できることを明らかにした。（中川、竹内、南條、福田、佐野、石川、衣斐、山田、矢野）
2. HGF により EGFR-TKI 耐性を示す腫瘍の増殖を、mTOR 阻害薬や PI3K/mTOR 阻害薬により制御しうることを明らかにした。（佐野、石川、竹内、山田、矢野）
3. EGFR-TKI に獲得耐性となった腫瘍は、耐性因子として EGFR-T790M 変異と HGF をしばしば共発現する。HGF は、EGFR-T790M 変異による耐性克服薬として開発

された第3世代 EGFR-TKI(変異 EGFR 選択的 TKI)に対しても耐性を誘導する。そこで、EML4-ALK 肺がんに対し認可された ALK 阻害薬クリゾチニブが Met 阻害活性も併せ持つことに着目し、第3世代 EGFR-TKI とクリゾチニブを併用することで、EGFR-T790M 変異と HGF を共発現した腫瘍の増殖を制御しうることを明らかにした。(山田, 竹内, 中川, 南條, 北, 矢野)

4. 胃がん診療において腹水を伴うがん性腹膜炎の発症解明と治療法の開発は喫緊の課題である。なかでもスキルス胃がんは、高率に本病態を形成する極めて予後不良な疾患である。本病態の成因にスキルス胃がん特異的 HGF/MET シグナル活性化の深い関与を明らかにし、マウス治療実験から手術不能スキルス胃がんへの臨床応用への可能性を明らかにした。(Zhao, 安本, 竹内, 中川, 佐野, 山田, 北, 矢野)
5. PI3 キナーゼ(PI3K)阻害薬は、HER2 遺伝子増幅もしくは PIK3CA 遺伝子変異を有する乳がんの有効であることが臨床試験から示唆されているがその理由は不明であった。シグナル解析により感受性を示す乳がんでは、PI3K が P-Rex1 を介して別の重要な生存シグナルである ERK を制御していることが示された。P-Rex1 の発現は PI3K 阻害薬の感受性と相関しており、患者選択のバイオマーカーとなる可能性が示された。(衣斐, 矢野)

<今後の計画>

1. BIM 遺伝子多型を有する EGFR 変異肺がんの臨床的特徴を明らかにする疫学研究 (NEJ002-BIM, PEOPLE-J) を行う。
2. BIM 遺伝子多型を有する EGFR 変異肺がんにおけるボリノスタット+ゲフィチニブ併用療法の安全性を検討する医師主導治験(VICTORY-J)を実施する。
3. EGFR-TKI 耐性を克服する治療法を開発する HGF による EGFR-TKI 耐性肺がん症例の実用的な診断法を確立する。
4. 肺がんの分子標的薬耐性の新たな分子機構を解明し、有効な耐性克服治療法の確立を目指した研究を推進する。
5. 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。
6. *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。
7. 胃がん、膵がん、胸膜中皮腫などに対する分子標的治療法の開発に向けた基礎的検討を展開する。

【 研 究 業 績 】

< 発表論文 >

原著論文

(研究室主体)

1. Nanjo S, Yamada T, Nishihara H, Takeuchi S, Sano T, Nakagawa T, Ishikawa D, Zhao L, Ebi H, Yasumoto K, Matsumoto K, Yano S. Ability of the Met kinase inhibitor crizotinib and new generation EGFR inhibitors to overcome resistance to EGFR inhibitors. **PLoS ONE** 8(12): e84700. doi:10.1371/journal.pone.0084700
2. Zhao L, Yasumoto K, Kawashima A, Nakagawa T, Takeuchi S, Yamada T, Matsumoto K, Yonekura K, Yoshie O, Yano S. Paracrine activation of MET promotes peritoneal carcinomatosis in scirrhous gastric cancer. **Cancer Sci** 2013;104(12):1640-6.
3. 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 in combination with HDAC inhibition. **Cancer Res** 2013; 73(8):2428-34.
4. Sano T, Takeuchi S, Nakagawa T, Ishikawa D, Nanjo S, Yamada T, Nakamura T, Matsumoto K, Yano S. The novel phosphoinositide 3-kinase-mammalian target of rapamycin inhibitor, BEZ235, circumvents erlotinib resistance of epidermal growth factor receptor mutant lung cancer cells triggered by hepatocyte growth factor. **Int J Cancer** 2013;133(2):505-13.
5. Ishikawa D, Takeuchi S, Nakagawa T, Sano T, Nakade J, Nanjo S, Yamada T, Ebi H, Nakamura T, Matsumoto K, Kagamu H, Yoshizawa H, Yano S. mTOR inhibitors control erlotinib-resistance of *EGFR* mutant lung cancer cells triggered by HGF. **PLoS ONE** 8(5):e62104. doi: 10.1371/journal.pone.0062104.
6. 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** 2013; 32(37):4427-35.
7. Ohtsubo K, Ishikawa D, Nanjo S, Takeuchi S, Yamada T, Mouri H, Yamashita K, Yasumoto K, Gabata T, Matsui O, Ikeda H, Takamatsu Y, Iwakami S, Yano S. Synchronous triple cancers of the pancreas, stomach, and cecum treated with S-1 followed by pancrelipase treatment of pancreatic exocrine insufficiency. **JOP** 2013; 14: 515-20.

(共同研究)

1. Mitsuhashi A, Goto H, Kuramoto T, Tabata S, Yukishige S, Abe S, Hanibuchi M, Kakiuchi S, Saijo A, Aono Y, Uehara H, Yano S, Ledford JG, Sone S, Nishioka Y. Surfactant protein a suppresses lung cancer progression by regulating the polarization of tumor-associated macrophages. **Am J Pathol** 2013;182:1843-53.
2. Enkhbaatar Z, Terashima M, Oktyabri D, Tange S, Ishimura A, Yano S, Suzuki T. KDM5B histone demethylase controls epithelial-mesenchymal transition of cancer cells by regulating the expression of the microRNA-200 family. **Cell Cycle** 2013;Jun 6;12(13). [Epub ahead of print]
3. Moriya M, Yamada T, Tamura M, Ishikawa D, Alireza HM, Matsumoto I, Klepetko W, Oda M, Yano S, Watanabe G. Antitumor effect and antiangiogenic potential of the mTOR inhibitor temsirolimus against malignant pleural mesothelioma. **Oncol Rep** 2014; 31(3):1109-15.
4. Ebi H, Costa C, Faber AC, Nishtala M, Kotani H, Juric D, Della Pelle P, Song Y, Yano S, Mino-Kenudson M, Benes CH, Engelman JA. PI3K regulates MEK/ERK signaling in breast cancer via the Rac-GEF, P-Rex1. **PNAS** 2013;Dec 10. [Epub ahead of print].
5. Faber AC, Coffee EM, Costa C, Dastur A, Ebi H, Hata AN, Yeo AT, Edelman EJ, Song Y, Tam AT, Boisvert JL, Milano RJ, Roper J, Kodack DP, Jain RK, Corcoran RB, Rivera MN, Ramaswamy S, Hung KE, Benes CH, Engelman JA. mTOR Inhibition Specifically Sensitizes Colorectal Cancers with KRAS or BRAF Mutations to BCL-2/BCL-XL Inhibition by Suppressing MCL-1. **Cancer Discov** 2013;Dec 4. [Epub ahead of print]
6. 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** 2013;23(1):121-8.
7. Hata A, Fujita S, Kaji R, Nanjo S, Katakami N. Dose reduction or intermittent administration of erlotinib: which is better for patients suffering from intolerable toxicities? **Intern Med** 2013; 52(5): 599-603.
8. Hata A, Katakami N, Yoshioka H, Takeshita J, Tanaka K, Nanjo S, Fujita S, Kaji R, Imai Y, Monden K, Matsumoto T, Nagata K, Otsuka K, Tachikawa R, Tomii K, Kunimasa K, Iwasaku M, Nishiyama A, Ishida T, Nishimura Y. Rebiopsy of non-small cell lung cancer patients with acquired resistance to epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor: Comparison between T790M mutation-positive and mutation-negative

populations. **Cancer** 2013; 119(24): 4325-32.

9. 松原崇史, 小坂一斗, 蒲田敏文, 松井 修, 小林 聡, 北川裕久, 太田哲生, 大坪公士郎, 北村星子, 池田博子, 中沼安二. 【粘液産生性胆道系腫瘍の再発-エビデンスとしての画像と病理】 著明な粘液産生を示した IPNB の 1 例. **胆と膵** 34 (5): 403-12, 2013.
10. 北出紘規, 山田忠明, 五十嵐紗耶, 北国憲剛, 森光恵, 新宅君子, 佐川元保, 矢野聖二. Gefitinib による肝障害に対し低用量 Erlotinib 治療が有効であった EGFR 変異陽性肺腺癌の 1 例. **癌と化学療法誌** 40(1):79-81,2013.

総説

1. Yano S, Nakagawa T. The current state of molecularly targeted drugs targeting HGF/Met. **Jpn J Clin Oncol** 2014; 44(1):9-12.
2. 矢野聖二. チロシンキナーゼ阻害に必須のバイオマーカー. **がん分子標的治療** 11(1):65-70,2013
3. 矢野聖二. がんの分子標的治療と耐性シグナル. **生化学** 85(6):475-83,2013
4. 矢野聖二. 非小細胞肺癌における EGFR-TKI 耐性. **腫瘍内科** 11(2):255-62,2013
5. 矢野聖二. 難治な癌の特徴と問題点. **臨床と研究** 90(1) : 14-9,2013
6. 安本和生. ー基礎と臨床の最新研究動向ースキルス胃癌 (増)最新胃癌学 in press
7. 山田忠明, 矢野聖二. 肺扁平上皮癌における Driver oncogene. **Annual Review 呼吸器** 2014 in press
8. 山田忠明, 矢野聖二. 肺癌治療における mTOR の役割. **週刊「医学のあゆみ」** in press
9. 山田忠明, 矢野聖二. がんの heterogeneityー分子標的薬耐性から見た肺がんの heterogeneity. **実験医学** 31(1) 33-38,2013.
10. 山田忠明, 矢野聖二. クリゾチニブ (ザーコリ®) の適正使用 **呼吸器内科** 24(2): 179-187, 2013
11. 山田忠明, 矢野聖二. EGFR 阻害薬の耐性機構. **日本臨床 最新肺癌学** 258-262, 2013
12. 山下 要, 矢野聖二. 転移性肺腫瘍の分子標的薬治療ー悪性黒色腫, 甲状腺癌ー. **日本胸部臨床** in press.

13. 南條成輝, 矢野聖二. Oncogene driver mutation と肺癌. 別冊「医学のあゆみ」呼吸器疾患 6, 2013
14. 矢野聖二, 佐野峻子, 竹内伸司, 埴淵昌毅. 骨転移の増殖・進展メカニズムー2.肺癌ー 癌と骨 95-104, 2013

<学会発表・国内>

1. 第 85 回日本胃癌学会総会 安本和生, 矢野聖二. The EGFR ligand amphiregulin promotes peritoneal dissemination from CXCR4-expressing gastric carcinoma. 2013 年 2 月 大阪
2. 第 99 回日本消化器病学会総会 大坪公士郎, 毛利久継, 山下 要, 安本和生, 矢野聖二. 膵癌症例に合併した消化管出血に関する検討. 2013 年 3 月 鹿児島
3. 第 99 回日本消化器病学会総会 毛利久継, 大坪公士郎, 山下 要, 石川大輔, 南條成輝, 竹内伸司, 衣斐 寛倫, 山田忠明, 安本和生, 北川裕久, 太田哲生, 矢野聖二. 当科における進行膵癌に対するエルロチニブ+ゲムシタビン併用療法の検討. 2013 年 3 月 鹿児島
4. 第 110 回日本内科学会講演会 毛利久継, 山下 要, 衣斐 寛倫, 石川大輔, 南條成輝, 竹内伸司, 山田忠明, 大坪公士郎, 安本和生, 矢野聖二. 大腸原発低分化神経内分泌癌・多発肝転移 2 例の検討. 2013 年 4 月 東京
5. 第 110 回日本内科学会講演会 南條成輝. 悪性腹膜中皮腫 2 例の検討. 2013 年 4 月 東京
6. 第 113 回日本外科学会定期学術集会 安本和生, 高橋 豊, 矢野聖二. 胃癌腹膜播種形成におけるサイトカインから見た分子機構の解明と特異的な標的療法の開発. 2013 年 4 月 福岡
7. 第 53 回日本呼吸器学会学術講演会 山田忠明. 非小細胞肺癌における EGFR 阻害薬耐性の機構解明とその克服に向けた研究. 2013 年 4 月 東京
8. 第 53 回日本呼吸器学会学術講演会 竹内伸司, 山田忠明, 藤田直也, 石井源一郎, 落合淳志, 矢野聖二. Aggrus/podoplanin は Rho/ROCK シグナルを活性化し胸膜中皮腫の進展を促進する. 2013 年 4 月 東京
9. 第 53 回日本呼吸器学会学術講演会 南條成輝, 山田忠明, 中川学之, 竹内伸司, 衣斐寛倫, 光富徹哉, 松本邦夫, 矢野聖二. EGFR 変異肺癌の次世代 EGFR-TKI 耐性における Crizotinib の治療効果. 2013 年 4 月 東京

10. 第 17 回日本がん分子標的治療学会学術集会 山田忠明, 竹内伸司, 藤田直也, 矢野聖二. 新規足場蛋白 Aki1 を標的とした EGFR 遺伝子変異陽性肺がんの制御. 2013 年 6 月 京都
11. 第 22 回日本癌病態治療研究会 安本和生, HGF/EGFR リガンドを標的とした胃癌標的治療法の開発. 2013 年 6 月 東京
12. 第 22 回日本癌病態治療研究会 安本和生, 矢野聖二. スキルス胃癌形成性癌性腹膜炎発症機序の解明とその標的分子制御 2013 年 6 月 東京
13. 第 22 回日本がん転移学会学術集会・総会 矢野聖二. 分子標的薬剤の耐性機序及びその耐性克服を目指した臨床戦略. 2013 年 7 月 松本
14. 第 22 回日本がん転移学会学術集会・総会 安本和生, Zhao L, 矢野聖二. MET シグナル活性化はスキルス胃癌がん性腹膜炎病態形成に深く関与する. 2013 年 7 月 松本
15. 第 44 回日本膵臓学会大会 大坪公士郎, 毛利久継, 山下 要, 安本和生, 池田博子, 矢野聖二. 自己免疫性膵炎における EUS-FNA の診断能に関する検討. 2013 年 7 月 仙台
16. 第 21 回クリニカルファーマシーシンポジウム 医療薬学フォーラム 2013 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. 中出順也, 竹内伸司, 中川学之, 山田忠明, 米倉和比古, 矢野聖二. 2013 年 7 月 金沢
17. 第 11 回日本臨床腫瘍学会学術集会 矢野聖二. Mechanisms of EGFR-TKI resistance and therapeutic strategies. 2013 年 8 月 仙台
18. 第 11 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, 衣斐寛倫, 山田忠明, 毛利久継, 山下 要, 安本和生, 矢野聖二. 膵癌症例に合併した薬剤性間質性肺疾患の検討. 2013 年 8 月 仙台
19. 第 11 回日本臨床腫瘍学会学術集会 毛利久継, 大坪公士郎, 山下 要, 石川大輔, 南條成輝, 竹内伸司, 衣斐 寛倫, 山田忠明, 安本和生, 矢野聖二. Analysis of treatment for the patients with pancreatic cancer-Report from Kanazawa University Hospital Cancer Center. 2013 年 8 月 仙台
20. 第 11 回日本臨床腫瘍学会学術集会 竹内伸司, 中川学之, 矢野聖二. BIM 遺伝子多型に起因する分子標的薬耐性の克服. 2013 年 8 月 仙台
21. 第 11 回日本臨床腫瘍学会学術集会 衣斐寛倫, 矢野聖二. PI3K controls

- MEK/ERK signaling in HER2 amplified and/or PIK3CA mutant breast cancer. 2013 年 8 月 仙台
22. 第 11 回日本臨床腫瘍学会学術集会 南條成輝, Crizotinib with next generation EGFR-TKI overcomes the resistance to reversible EGFR-TKI in EGFR mutant lung cancer. 2013 年 8 月 仙台
23. 第 8 回肺癌分子病態研究会 南條成輝, 次世代 EGFR-TKI とクリゾチニブ併用による可逆性 EGFR-TKI 耐性の克服. 2013 年 9 月 東京
24. 第 72 回日本癌学会学術総会 矢野聖二, Circumvention of molecular targeted drug-resistance in lung cancer. 2013 年 10 月 横浜
25. 第 72 回日本癌学会学術総会 山田忠明, 肺がんにおける分子標的薬耐性の機構解明とその治療法開発を目指した研究. 2013 年 10 月 横浜
26. 第 72 回日本癌学会学術総会 衣斐寛倫, Treatment strategies for the patients showing intrinsic resistance to molecular targeted drugs. 2013 年 10 月 横浜
27. 第 21 回日本消化器関連学会週間 大坪公士郎, 石川大輔, 南條成輝, 竹内伸司, 衣斐寛倫, 山田忠明, 毛利久継, 山下 要, 安本和生, 矢野聖二, 膝癌症例に合併した肺病変に関する検討. 2013 年 10 月 東京
28. 第 51 回日本癌治療学会学術集会 安本和生, 矢野聖二, 胃癌腹膜播種におけるサイトカインから見た分子機構解明と特異的バイオマーカーの確立. 2013 年 10 月 京都
29. 第 51 回日本癌治療学会学術集会 毛利久継, 大坪公士郎, 山下 要, 衣斐 寛倫, 谷本 梓, 小谷 浩, 石川大輔, 南條成輝, 竹内伸司, 山田忠明, 安本和生, 北川裕久, 太田哲生, 矢野聖二, 当科における進行膝癌症例に対するエルロチニブ+ゲムシタビン併用療法の検討. 2013 年 10 月 京都
30. 第 51 回日本癌治療学会学術集会 山下 要, 毛利久継, 小谷 浩, 谷本 梓, 石川大輔, 南條成輝, 衣斐寛倫, 竹内伸司, 山田忠明, 大坪公史郎, 安本和生, 矢野聖二, 当センターにおける原発不明癌(予後不良群)診療の現状. 2013 年 10 月 京都
31. 第 54 回日本肺癌学会総会 矢野聖二, Mechanisms of EGFR-TKI resistance and therapeutic strategies in lung cancer. 2013 年 11 月 東京
32. 第 54 回日本肺癌学会総会 竹内伸司, 中川学之, 長谷川好規, 矢野聖二, BIM 遺伝子多型に起因する EGFR-TKI 耐性と HDAC 阻害薬併用による耐性克服治

療戦略. 2013 年 11 月 東京

33. 第 54 回日本肺癌学会総会 佐野峻子, 竹内伸司, 新井祥子, 山田忠明, 矢野聖二. 発光イメージングシステムを用いた小細胞肺癌多臓器転移モデルにおける Hsp90 阻害薬の効果. 2013 年 11 月 東京
34. 第 54 回日本肺癌学会総会 福田康二, 山田忠明, 竹内伸司, 藤田直也, 矢野聖二. EGFR 遺伝子変異陽性肺癌における新規治療標的 Aki1 の制御法開発. 2013 年 11 月 東京

<学会発表・国際>

1. International Conference of Personalized Medicine and Targeted Therapies in Cancer. Yano S. Mechanisms of resistance to molecular targeted drugs in lung cancer and personalized medicine. Sharjah Institute for Medical Research, University of Sharjah, UAE 2013 年 1 月
2. 3rd International Symposium on Carcinogenic Spiral International Symposium on Tumor Biology. Zhao L, Yasumoto K, Kawashima A, Nakagawa T, Takeuchi S, Yamada T, Matsumoto K, Yoshie O, Matsushima K, Yonekura K, Yano S. Paracrine HGF-induced as well as constitutive Met phosphorylation promotes peritoneal carcinomatosis in gastric cancer. 2013 年 1 月 Kanazawa
3. American Thoracic Society 2013. (Meet the Professor) Yano S. Novel acquired resistance of molecular-targeted therapy for lung cancer. 2013 年 5 月 Philadelphia, USA
4. 10th International Gastric Cancer Congress 2013. (IGCC) Yasumoto K, Yamada T, Kawashima A, Yano S. EGFR ligands promote peritoneal carcinomatosis in CXCR4-expressing gastric cancer. 2013 年 6 月 Verona, Italy
5. The 8th International Symposium of the Institute Network. 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. 2013 年 6 月 Kyoto
6. AACR-NCI-EORTC International Conference on Molecular Targets and Cancer Therapeutics. Ebi H, Costa C, Faber A, Juric D, Della Pelle P, Song Y, Yano S, Mino-Kenudson M, Benes CH, Engelman JA. 2013 年 10 月 Boston, USA
7. IASLC 15th World Conference on Lung Cancer. Yano S. Resistance to EGFR TKIs. 2013 年 10 月 Sydney, Australia

8. IASLC 15th World Conference on Lung Cancer. Takeuchi S, Nakagawa T, Yamada T, Yano S. EGFR-TKI resistance due to BIM polymorphism can be circumvented in combination with HDAC inhibition. 2013 年 10 月 Sydney, Australia
9. 18th Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology. Yano S. Molecular mechanisms of resistance to EGFR-TKI in lung cancer. 2013 年 11 月 Yokohama
10. 18th Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology. Nanjo S, Yamada T, Nishihara H, Takeuchi S, Ebi H, Yano S. Ability of the Met kinase inhibitor crizotinib and new generation EGFR Inhibitors to overcome resistance to EGFR inhibitors. 2013 年 11 月 Yokohama

<外部資金>

1. 次世代がん研究 文部科学省
矢野聖二
研究代表者
分子標的薬の感受性・耐性を規定する新たな分子機構の解明 19,545 千円
2. 新学術領域 日本学術振興会
矢野聖二
研究代表者
呼吸器悪性腫瘍の微小環境の特性を標的とした新規制御法の開発 9,500 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 2,300千円
5. 厚生労働省 創薬基盤推進研究事業
矢野聖二
研究代表者
BIM 遺伝子多型に起因する EGFR 変異肺がんの EGFR チロシンキナーゼ阻害薬耐性をボリノスタット併用で克服する研究 27,000 千円
6. 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

7. 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 2,100千円
8. 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 348千円
9. 若手研究 (B) 日本学術振興会
竹内伸司
研究代表者
EGFR変異肺癌のBIM遺伝子多型に起因するEGFR-TKI耐性克服治療の開発
2,200千円
10. 新学術領域 日本学術振興会
衣斐寛倫
研究分担者
呼吸器悪性腫瘍の微小環境の特性を標的とした新規制御法の開発 1,000 千円
11. 基盤研究 (B) 日本学術振興会
衣斐寛倫
研究分担者
肺がんの転移と分子標的薬耐性を克服する統合的研究 1,000 千円
12. 挑戦的萌芽研究 日本学術振興会
北 賢二
研究代表者
肺癌脳転移の Metastasis initiating cell 800 千円
13. 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 5,000 千円
14. 公益財団法人小林がん学術振興会第7回研究助成金
衣斐寛倫
KRAS 変異癌に対する臓器特異的な新規治療開発 1,000 千円
15. アストラゼネカ・R&D・グランド 2013 助成金
衣斐寛倫
Identification of the best combinatorial approach for anti-cancer inhibitors 2,000 千円

<共同研究>

1. がん研究会がん化学療法センター 基礎研究部 藤田直也
「中皮腫の進展におけるAggrusの関与を解明する研究」
2. 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 呼吸器・膠原病内科 西岡安彦
「悪性胸膜中皮腫に対する特異的免疫療法の開発」
「肺がん・中皮腫における血管新生阻害薬耐性機構の解析」
3. 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」
4. 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」
5. 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」
6. 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」
7. 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味を検討する研究」
8. 北海道大学大学院医学科研究科探索病理学講座 西原広史
「分子標的薬耐性を克服する治療の安全性の前臨床評価」
9. 北海道大学病院呼吸器内科 大泉聡史
順天堂大学浦安病院呼吸器内科 佐々木信一
大阪府立成人病センター呼吸器内科 熊谷 融
神戸市立医療センター中央市民病院呼吸器内科、 片上信之、富井啓介
先端医療センター総合腫瘍科 片上信之
兵庫県立がんセンター呼吸器内科 里内美弥子
名古屋医療センター呼吸器科・臨床腫瘍科 小暮啓人
東京医科大学茨城医療センター呼吸器内科 中村博幸
水戸済生会総合病院呼吸器内科 橋本俊夫
徳島大学病院呼吸器・膠原病内科 西岡安彦
松山赤十字病院呼吸器内科 兼松貴則
久留米大学病院内科学講座 呼吸器・神経・膠原病内科 星野友昭
東京大学大学院医学系研究科ゲノム医学講座 間野博行、曾田 学
「肺がん分子標的薬耐性の分子機構を明らかにする研究」
10. 東京大学大学院医学系研究科ゲノム医学講座 間野博行
埼玉医科大学呼吸器内科 萩原弘一
名古屋大学呼吸器内科 長谷川好規
東北大学病院臨床試験推進センター 井上 彰
静岡県立静岡がんセンター呼吸器内科 高橋利明

徳島大学病院呼吸器・膠原病内科 西岡安彦

先端医療センター総合腫瘍科 片上信之

兵庫県立がんセンター呼吸器内科 里内美弥子

名古屋大学医学部附属病院先端医療・臨床研究支援センター 安藤昌彦

名古屋大学医学部附属病院先端医療・臨床研究支援センター 清水 忍

名古屋大学医学部附属病院先端医療・臨床研究支援センター 藤原忠美

金沢大学附属病院先端医療開発センター 手良向 聡

金沢大学附属病院先端医療開発センター 長瀬克彦

「BIM 遺伝子多型に起因する EGFR 変異肺がんの EGFR チロシンキナーゼ阻害薬耐性をボリノスタット併用で克服する研究(NEJ002-BIM, PEOPLE-J, VICTORY-J)」

中央実験施設

中央実験施設

<研究スタッフ>

施設長（併） 松本 邦夫

准教授 黒木 和之

准教授 遠藤 良夫

准教授 久野 耕嗣

技術補佐員 久保 周子（～H25.11）

技術補佐員 志村 瞳（H25.12～）

【研究概要】

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

<2013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、ツールとしての新規HBVベクターの構築とHBV感染培養細胞系の樹立を進めている。本年はより安全な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、感染成立の指標となる各種マーカー遺伝子を組み込んだ組換えHBVベクターを構築し、これらを新しくデザインしたHepG2, HEK293由来パッケージング細胞へ導入することにより培養液中に組換えHBV粒子の産生に成功した。一方、HBVレセプターとして昨年報告されたNTCPの発現は感染効率を上げること、また、iPS細胞Dotcomより分化誘導した肝細胞に組換えHBVが感染することを示した。今後、未成熟HBV粒子が多く産生される現状の改善とより感染効率の良いin vitro感染系の樹立を試みるとともに、HBV感染初期過程に関わる宿主因子の同定と感染メカニズムの解明およびHBV感染・増殖を阻止する化合物の探索と創薬を目標に研究を進める。

5-ALAを用いる光線力学的療法の新たな応用（遠藤）

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

蓄積した後に、630 nm付近の赤色励起光を照射すると大量の一重項酸素が生じ、殺細胞効果が発揮される (ALA-PDT)。また、PpIXは405-410 nm付近の青色光により赤色蛍光を発するため、がん組織が可視化され、術中診断が可能となる(ALA-PDD)。本邦においては膀胱がんや脳腫瘍の蛍光診断に使用されている。今年度のヒト胃癌細胞MKN-45より樹立したALA-PDTに対する獲得耐性細胞の耐性化機構に関する研究では、PEPT1とABCG2を含む複数のアミノ酸トランスポーターやABCトランスポーターの発現が変化している以外にも、ヘムの分解酵素であるheme oxygenase (decycling) 1やbilirubinの細胞外排出に関わるトランスポーターの発現が亢進していることが明らかになった。また、低分子化合物ライブラリーを用いてALA-PDTに対する感受性増強剤のスクリーニングを実施し、ALAと同時処理をすることでPDT効果を相乗的に増強することができる化合物を見出した。

〈今後の計画〉ALA-PDTに対する感受性増強剤の誘導体展開を実施し、多様ながん腫の診断や治療に広く応用可能な新薬シーズの開発を目指す。

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ている。また ADAMTS-1^{-/-}マウスの子宮平滑筋では、オキシトシン、PGF₂、 μ PGF₂ 等に対する収縮応答性が低下していることを見い出している。今回、ADAMTS-1^{-/-}マウスの分娩異常の原因を明らかにするため、分娩前子宮組織における、uterotonin 受容体等、子宮収縮調節に関わる遺伝子群の発現を調べた。その結果、妊娠 19 日目の分娩前子宮組織においては、EP₁ および EP₃ 受容体の mRNA 発現量は、ADAMTS-1^{-/-} および野生型マウスの間で有意な差は認められなかったが、FP 受容体の mRNA 量は、野生型マウスと比較して ADAMTS-1^{-/-}マウスで軽度の低下が認められた。また分娩前の ADAMTS-1^{-/-}の子宮組織では、オキシトシン受容体遺伝子だけでなく gap junction 構成タンパクである Connexin43 遺伝子の mRNA 発現量もコントロール群と比較して有意に減少していることがわかった。これらの結果から ADAMTS-1 は、分娩前に Connexin43、オキシトシン受容体、FP 受容体などの収縮調節遺伝子群が発現誘導されて uterotonin への収縮応答性や筋収縮性が増大する過程に必要である可能性が示唆された。今後、ADAMTS-1^{-/-}マウスの子宮組織における他の子宮収縮調節因子や ECM 構成成分の変化と組織学的変化の解析、また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。

【 研 究 業 績 】

<発表論文>

(共同研究)

1. Kuchiike D, Uto Y, Mukai H, Ishiyama N, Abe C, Tanaka D, Kawai T, Kubo K, Mette M, Inui T, Endo Y, Hori H: Degalactosylated/desialylated human serum containing GcMAF induces macrophage phagocytic activity and in vivo antitumor activity. *Anticancer Res.* 2013 Jul;33(7):2881-5.
2. Hagiya Y, Fukuhara H, Matsumoto K, Endo Y, Nakajima M, Tanaka T, Okura I, Kurabayashi A, Furihata M, Inoue K, Shuin T, Ogura S: Expression levels of PEPT1 and ABCG2 playkey roles in 5-aminolevulinic acid(ALA)-induced tumor-specificprotoporphyrin IX (PpIX) accumulation inbladder cancer. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2013 Sep;10(3):288-95. doi: 10.1016/j.pdpdt.2013.02.001. Epub 2013 Mar 15.
3. Canbay E, Ishibashi H, Sako S, Kitai T, Nishino E, Hirano M, Mizumoto A, Endo Y, Ogura SI, Yonemura Y: Photodynamic detection and management of intraperitoneal spreading of primary peritoneal papillary serous carcinoma in a man: report of a case. *Surg Today.* 2013 Feb 23. DOI 10.1007/s00595-013-0500-1 [Epub ahead of print]
4. Kitano A, Shimasaki T, Chikano Y, Nakada M, Hirose M, Higashi T, Ishigaki Y, Endo Y, Takino T, Sato H, Sai Y, Miyamoto K, 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.* 2013;8(2):e55289. doi: 10.1371/journal.pone.0055289. Epub 2013 Feb 8.

<学会発表>

1. 黒木和之, 久保周子:HBV ベクターの構築 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 2013 年 11 月 10 日～12 日 (神戸, 神戸国際会議場)
2. 宇都義浩, 玉谷 大, 河井智仁, 遠藤良夫, 大久保敬, 中西郁夫, 石塚昌宏, 田中 徹, 口池大輔, 久保健太郎, 乾 利夫, 堀 均: 発育鶏卵を用いた 5-aminolevulinic acid および Tin Chlorin e6 の超音波増感活性と薬物動態の評価 第 17 回バイオ治療法研究会 2013 年 12 月 7 日 (土) (福岡, 福岡大学病院 福大メディカルホール)
3. Y. Uto, R. Takeuchi, Y. Nakagawa, K. Hirota, H. Terada, S. Onizuka, K. Kubo, D. Kuchiike, M. Mette, T. Inui, Y. Endo and H. Hori: Development of Immunomodulatory Cancer Therapy Based on Gc protein-derived Macrophage Activating Factor (GcMAF) 7th International

Symposium on Nanomedicine (ISNM2013) 2013年11月7日（木）～9日（土）（北九州，百周年中村記念館）

4. Yoshihiro Uto, Yoshio Endo, Hiroshi Sato, Hitoshi Hori Development of antimetastatic hypoxic cytotoxin TX-2137 targeting for Akt/protein kinase B 第72回日本癌学会学術総会 2013年10月3日（木）-5日（土）（横浜，パシフィコ横浜）
5. Yoshio Endo, Shun-ichiro Ogura, Yutaka Yonemura, Kimura Masashi: Enhanced effect of ALA-PDT using dipyrindamole 第72回日本癌学会学術総会 2013年10月3日（木）-5日（土）（横浜，パシフィコ横浜）
6. 原 毅弘，宇都義浩，中島綾香，福島孝士朗，野口智帆，遠藤良夫，前澤 博，富永正英，福本修一，堀 均：発育鶏卵を用いたオオバギ葉抽出物の放射線防護活性の評価 第19回癌治療増感研究会 2013年6月8日（土）（東京，東京医科歯科大学歯科棟南4F歯学部特別講堂）
7. 宇都義浩，玉谷 大，遠藤良夫，石塚昌宏，田中 徹，堀 均：発育鶏卵を用いた5-ALAの超音波増感活性の評価 第3回ポルフィリン-ALA学会年会 2013年4月27日（横浜，東京工業大学 すすかけ台キャンパス すすかけホール）
8. 遠藤 良夫，小倉 俊一郎，米村 豊：5-ALAを用いるがんの光線力学的療法における耐性化機序の解析 日本薬学会第133年会 2013年3月30日（横浜，パシフィコ横浜）
9. 野口智帆，宇都義浩，福島孝志朗，田中大地，遠藤良夫，前澤 博，福本修一，堀均：発育鶏卵を用いた放射線防護活性の評価系の構築 日本薬学会第133年会 2013年3月30日（横浜，パシフィコ横浜）
10. 宇都義浩，遠藤良夫，久保健太郎，乾 利夫，堀 均：発育鶏卵を工学的動物モデルとした制がん剤のメディシナルケミストリー 日本化学会第93春季年会 2013年3月22日（金）～25日（月）（立命館大学びわこ・くさつキャンパス）
11. 宇都義浩，皆巳和賢，原田 浩，遠藤良夫，前澤 博，増永慎一郎，堀 均：解糖系からみた癌増感のターゲット：糖修飾放射線増感剤のメディシナルケミストリー 第15回癌治療増感研究シンポジウム 2013年2月9日-10日（奈良，猿沢荘）
12. 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の分娩過程における役割の解析 第36回日本分子生物学会年会 2013年12月3日～6日（神戸，神戸ポートアイランド）

<外部資金>

1. 厚生労働科学研究費補助金 B型肝炎創薬実用化等研究事業 分担：黒木和之
直接経費：10,000千円

2. 科学研究費補助金（基盤研究C）代表：遠藤良夫
直接経費：1,200千円
3. 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
直接経費：600千円
4. 産学官連携共同研究（平成25年5月～平成26年3月1件）代表：遠藤良夫
直接経費：762千円

<共同研究>

1. HBV エンベロープタンパク質と相互作用する細胞膜表面分子の網羅的探索（大阪大学大学院医学系研究科ウイルス学）（黒木和之）
2. 5-ALA を用いた転移性胃癌の術中診断および治療法の開発（東工大・フロンティア研究機構，徳島大・ソシオテクノサイエンス研究部，NPO 腹膜播種治療支援機構）（遠藤良夫）
3. 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 MMP-9 阻害性抗転移剤の開発（徳島大・ソシオテクノサイエンス研究部）（遠藤良夫）
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）



基 礎 統 計

決算額（運営費交付金）

（単位：千円）

区 分		平成 21 年度	平成 22 年度	平成 23 年度	平成 24 年度	平成 25 年度
運営費交付金		723, 893	507, 414	564, 308	624, 321	567, 178
内 訳	人件費	388, 901	386, 797	411, 774	475, 998	382, 253
	物件費等	334, 992	120, 617	152, 534	148, 323	184, 925

科学研究費補助金（間接経費を含む）

（単位：千円）

研究種目	平成 21 年度		平成 22 年度		平成 23 年度		平成 24 年度		平成 25 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	8	44, 200	1	3, 500	0	0	0	0	0	0
新学術領域研究			2	47, 840	5	65, 520	5	60, 710	4	41, 600
基盤研究（A）	0	0	1	16, 510	1	14, 560	1	26, 910	1	15, 210
基盤研究（B）	8	50, 700	8	45, 500	7	43, 290	7	35, 620	4	35, 620
基盤研究（C）	5	8, 450	7	12, 090	9	15, 210	9	17, 745	15	25, 805
挑戦的萌芽研究	1	1, 500	3	5, 600	4	8, 840	4	4, 810	4	5, 590
若手研究（S）	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
若手研究（A）	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
若手研究（B）	5	13, 390	7	13, 130	9	20, 800	9	16, 640	7	15, 210
研究活動スタート支援	1	1, 560	1	1, 260	1	1, 508	0	0	0	0
特別研究員奨励費	2	1, 800	3	2, 700	1	900	1	900	0	0
最先端・次世代研究開発支援プログラム			2	20, 150	2	149, 500	2	78, 390	2	75, 390
合 計	30	121, 600	35	168, 280	39	320, 128	39	241, 725	37	214, 425

外部資金（間接経費を含む）

（単位：千円）

研究種目	平成 21 年度		平成 22 年度		平成 23 年度		平成 24 年度		平成 25 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	8	125, 161	7	89, 060	7	82, 343	7	123, 460	9	155, 459
受託事業経費	1	20, 000	1	18, 000	2	17, 668	1	16, 600	1	3, 400
民間等との共同研究	2	2, 499	4	12, 850	5	8, 285	3	6, 570	5	24, 650
寄附金	23	23, 614	27	32, 897	22	30, 018	16	24, 774	23	32, 635
合 計	34	171, 274	39	152, 807	36	138, 314	27	171, 404	38	216, 144

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 26 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	1	3	3		32
			II					
		博士課程	I	2	1	2		
			II	1	1	1	1	
			III		1			
			IV					
	医学系研究科	博士課程	I					
			II					
			III					
			IV	4	4	5	2	
	自然科学研究科	前期課程	I	1		2	2	11
			II	2	2	1		
		後期課程	I					
			II	1		1		
			III			1		
研究生（特別研究学生含む）				2		3	1	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 26 年 5 月 1 日現在

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

各種シンポジウム開催状況

1. 共同利用・共同研究拠点シンポジウム Joint Usage/Research Center Symposium

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」の活動を推進し、がん研究者コミュニティのネットワーク構築と最新の知見の情報交換を目的として、シンポジウムを開催する。平成25年度は、がん進展制御研究所と北海道大学遺伝子病制御研究所とのジョイントシンポジウムとして開催。

日 時：平成25年11月19日（火）
13：10～18：10

場 所：金沢エクセルホテル東急

来場者数：100人

プログラム：

- ① 「TGF- β シグナル制御と炎症反応による大腸がん悪性化の誘導」
大島 浩子（金沢大学がん進展制御研究所）
- ② 「正常上皮細胞と変異細胞の相互作用」
藤田 恭之（北海道大学遺伝子病制御研究所）

③ 招待講演1：「上皮管腔組織形成とその異常によるがん」

菊池 章（大阪大学大学院医学系研究科）

④ 「増殖因子による乳がん肝細胞と肺がんシグナル制御から個別化医療へ」

後藤 典子（金沢大学がん進展制御研究所）

⑤ 「Akt結合因子による多彩な細胞反応性の修飾の分子機構」

野口 昌幸（北海道大学遺伝子病制御研究所）

⑥ 招待講演2：「次世代プロテオミクスが拓く生命科学の新地平：90年来のがんの謎に挑む」

中山 敬一（九州大学生体防御医学研究所）

⑦ 特別講演：「がんの個別化ゲノム医療とスーパーコンピュータ」

宮野 悟（東京大学医科学研究所）



2. 金沢国際がん生物学シンポジウム & アカデミア創薬シンポジウム

International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa & Symposium on Drug Discovery in Academic

目 的：がんの基礎及び臨床研究領域における国際交流と若手育成を目的として，国内外の第一線の研究者を招聘して開催する。

日 時：平成26年1月23日（木）
12：40～18：30
平成26年1月24日（金）
9：00～16：50

場 所：金沢エクセルホテル東急

来場者数：348名（2日間延べ）

プログラム：

① セッションⅠ：

Tumor Metabolism-central carbon metabolism and anti-oxidant

高橋 智聡（金沢大学がん進展制御研究所）

田中 知明（千葉大学）

本橋 ほづみ（東北大学）

② セッションⅡ：

Tumor Metabolism-central carbon metabolism and lipid metabolism

源 利成（金沢大学がん進展制御研究所）

右田 敏郎（東京都医学総合研究所）

Mi-Kyung Kim（ソウル大学・韓国）

③ セッションⅢ：

Tumor Metabolism-senescence and beyond

Daniel S.Peeper（オランダがん研究所・オランダ）

原 英二（がん研究会がん研究所）

④ セッションⅣ：

Short Talks by young investigators

Award Shamma（金沢大学がん進展制御研究所）

星居 孝之（金沢大学がん進展制御研究所）

丹下正一郎（金沢大学がん進展制御研究所）

中田 飛鳥（金沢大学がん進展制御研究所）

⑤ セッションⅤ：Big Data & System Biology

佐藤 賢二（金沢大学理工研究域）

André 藤田（サンパウロ大学・ブラジル）

新井田厚司（東京大学）

藤本 明洋（理化学研究所）

⑥ セッションⅥ：

Bioinformatics and Drug Development, Drug Resistance

山西 芳裕（九州大学）

鈴木 貴（大阪大学）

仲 一仁（金沢大学がん進展制御研究所）

⑦ 特別講演：Drug Development

Nicholas B.Lydon

（ブループリントメディスン社・アメリカ）



3. がん進展制御研究所 共同利用・共同研究拠点研究成果報告会

Joint Usage/Research Center Research results report meeting

目 的：共同利用・共同研究拠点としての機能強化および共同研究活動活性化のため、当該年度に採択された共同研究課題の研究代表者数名を招へいし、研究成果報告会を開催している。

日 時：平成25年12月24日（火）
13：30～17：10

場 所：金沢大学自然科学系図書館棟 G 1 階
A V ホール

来場者数：70人

プログラム：

- ①「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」
(田中 知明・千葉大学)

- ②「GSK3 β 阻害による膵がん治療法の分子基盤の解明と臨床試験への応用」
(島崎 猛夫・金沢医科大学)
- ③「肺がん・中皮腫における血管新生阻害薬耐性機構の解析」
(西岡 安彦・徳島大学)
- ④「メタロプロテアーゼ ADAM28 を標的としたヒト型活性阻害抗体の開発」
(望月 早月・慶應義塾大学)
- ⑤「皮膚発がんにおける CX3CL1-CX3CR1 システムの病態生理学的役割解析」
(近藤 稔和・和歌山県立医科大学)
- ⑥「オートファジーと Keap1-Nrf2 システムの連動機構：その異常と腫瘍増殖」
(小松 雅明・公益財団法人東京都医学総合研究所)



4. 金沢大学がん進展制御研究所・復旦大学上海がん病院合同シンポジウム

Cancer Research Institute Kanazawa University & Fudan University Shanghai Cancer Center Symposium

目 的：平成22年7月に部局間交流協定を締結以来、金沢、上海でそれぞれ隔年開催し、両部局間の共同研究の一層の促進を図っている。

日 時：平成25年10月11日（金）
13：10～16：20

場 所：金沢大学自然科学系図書館棟 G1階
A Vホール

来場者数：55人

プログラム：

- ① 「ALK, ROS1 and RET fusions in lung adenocarcinomas from China」
Yihua Sun（復旦大学上海がん病院）
- ② 「Involvement of histone methyl-modifying enzymes in cancer development identified by retroviral insertional mutagenesis」

鈴木 健之（金沢大学がん進展制御研究所）

- ③ 「Overexpressed CD59 in Cancer Cells: Mechanisms and Strategies」

Weiguo Hu（復旦大学上海がん病院）

- ④ 「Circumvention of molecular targeted drug-resistance in lung cancer」

矢野 聖二（金沢大学がん進展制御研究所）

- ⑤ 「Prostate Cancer in China: Epidemiology, Characteristics and Management」

Yao Zhu（復旦大学上海がん病院）

- ⑥ 「Expanding Roles of the CCL3 Axis in Carcinogenesis and Leukemogenesis Processes---Beyond Leukocyte Chemotaxis」

向田 直史（金沢大学がん進展制御研究所）



5. 大学院生国際交流会

International Interaction Event for Graduate Students in Cancer Research Field

目 的：各国の大学院生が集い、研究発表や意見交換を行うことで、研究所の所属する大学院生が、将来、国際感覚を備えた研究者としての成長につながることを目的として開催。

日 時：平成25年9月11日（水）
14：00～16：00

場 所：金沢大学がん進展制御研究所
4階 会議室

来場者数：約40人

プログラム：

第1部（研究発表）

① Boram Choi（韓国）

胃がん関連遺伝子のメチル化マーカー解析結果について

② 山田 大祐（日本）

mTORC1活性化による脳腫瘍モデルの作成と解析について

③ I Ketut Gunaruta（インドネシア）

悪性黒色腫におけるGli1の活性化制御について

④ Teasu Han（韓国）

胃がんにおけるmicroRNA発現制御変化の研究について

第2部（意見交換会）

