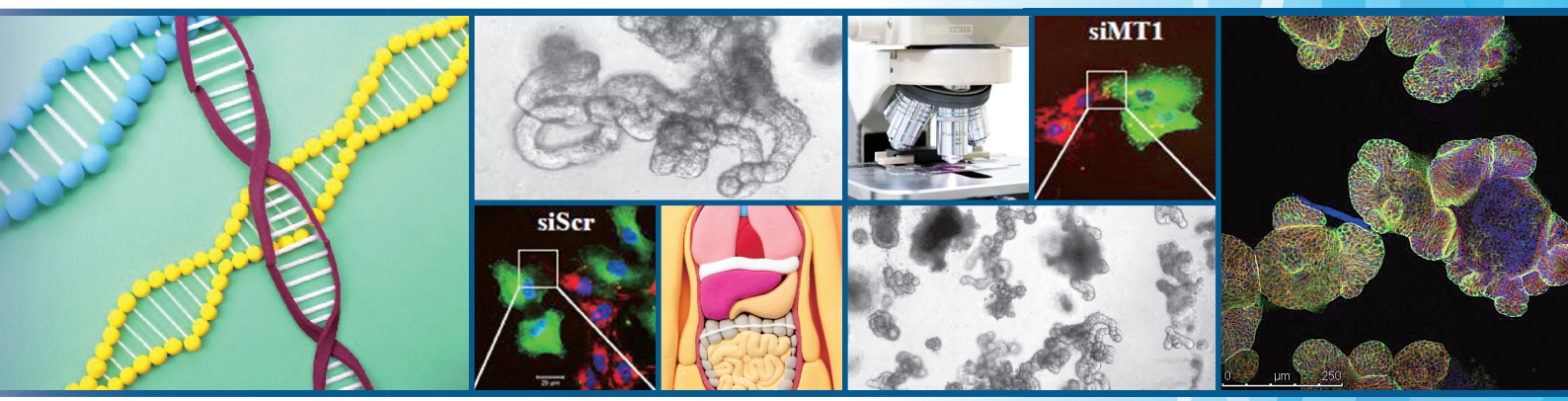
Annual Report
Cancer Research Institute
Kanazawa University

# 金沢大学がん進展制御研究所

# 年報 2015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 42 年に設立されて以来，半世紀の間，がんの本態解明を目指す基礎研究とそれを応用した臨床研究を一体的に推進して参りました。国立大学附置研究所の中でも，唯一の「がん研究」に特化した研究所として，がんの克服に貢献できるような成果を発信することが，本研究所の重要な使命と位置付けています。この目標に向かって，本研究所では「がん幹細胞研究」「がん微小環境研究」「がん分子標的探索」に着目した３つのプログラムに加えて，平成 27 年度から「先進がんモデル共同研究（ICMR）センター」を研究所内に設置し，遺伝子改変モデル（GEM）と患者由来がん移植モデル（PDX）の研究開発を推進する「先進がんモデル研究」を 4 つ目のプログラムとしてスタートさせました。また、平成 27 年度には，国内および海外の卓越した研究者をリサーチプロフェッサーとして本研究所 ICMR センターに招聘し，二つの新たな研究分野を発足させました。現在、研究分野数が 14 となり、皆が一丸となってそれぞれの研究プログラムを推進しているところです。また、平成 27 年度から，本研究所は金沢大学に新たに設置された新学術創成研究機構を構成する部局となり，新たな分野融合研究の探索にも着手致しました。これにともない，新たに４名の若手 PI を採用し，研究所の機能強化に邁進しているところです。

また，本研究所は平成 23 年度より「がんの転移・薬剤耐性に関する先導的共同研究拠点」として全国共同利用・共同研究拠点として文部科学省より認定されています。平成27年度も約50件程度の共同研究課題を採択して共同研究を実施しました。また，昨年度より始めた国際共同研究の公募も継続し，韓国，中国，シンガポール，オーストラリアなど環太平洋各国のがん研究者との共同研究を実施しました。また，米国の共同研究機関には，若手頭脳循環プログラムを活用して若手研究者を長期派遣しており，国際研究拠点としての発展を目指した活動を推進しています。これらの活動が評価され，平成 27 年度に行われた期末評価により，平成 28 年度からも同じ名称の共同研究拠点として再認定を受けることになりました。

研究機関の連携では，国立がん研究センターと金沢大学の省庁の枠組みを越えた交流協定を締結し，今後ますます国立がん研究センター研究所との連携を深めて行くことが期待されます。また，中国復旦大学がん研究所との連携協定による合同シンポジウムを開催した他，新たにシンガポールの DUKE-NUS 研究所との連携に向けた研究交流シンポジウムを金沢とシンガポールの双方で開催しました。このような国際的な研究者ネットワークの構築および研究機関連携を今後も強化していく所存です。ここに，平成 27 年度の研究所内各研究分野の成果を取りまとめ，業績集として報告させて頂きますので，ご批判を賜ることができましたら幸いです。

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２０１５年

## 目　次

**巻頭言**

**研究概要と研究業績**

**先進がんモデル共同研究センター**

腫瘍遺伝学研究分野 …… 2

分子病態研究分野 …… 8

実験治療研究分野 ……14

**がん幹細胞研究プログラム**

遺伝子・染色体構築研究分野 ……18

腫瘍分子生物学研究分野 ……24

分子生体応答研究分野 ……32

**がん微小環境研究プログラム**

細胞機能統御研究分野 ……40

免疫炎症制御研究分野 ……44

腫瘍動態制御研究分野 ……48

**がん分子標的探索プログラム**

シグナル伝達研究分野 ……54

腫瘍制御研究分野 ……58

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

# 先進がんモデル共同研究センター

# 腫瘍遺伝学研究分野

＜研究スタッフ＞

| | | | |
|---|---|---|---|
| 教　授 | 大島　正伸 | | |
| 准教授 | 大島　浩子 | 博士研究員 | Tae-Su Han（AMED-CREST） |
| 助　教 | 中山　瑞穂 | 博士研究員 | 越前　佳奈恵（AMED-CREST） |
| 大学院生（医学博士課程特別研究学生） | | 前田　祐介（慶応義塾大学） | |
| 大学院生（医学博士課程２年） | | 坂井　絵梨 | |
| 大学院生（自然科学研究科博士前期１年） | | 青木　やよい | |
| 技能補佐員 | 渡邊　真奈美 | | |
| 技術補佐員 | 津田　理子 | 医学類（６年） | 北嶋　彩夏 |

## 【 研 究 概 要 】

胃がん, 大腸がんの発生に関与する遺伝子変異について TCGA による詳細な解析が報告され，ドライバー遺伝子変異の全貌が次第に明らかにされている。しかし，実際の発がんにはエピジェネティックな制御や周囲の微小環境の影響が重要に関わっており，発がん，および悪性化進展機構の本態解明には至っていない。当研究室では，胃がん，大腸がんのマウスモデルを用いた遺伝学的解析，および腫瘍細胞由来のオルガノイド培養を用いた移植実験などを通して，胃がん・大腸がん発生に関わる『遺伝子変異』と，慢性炎症を中心とした『微小環境』の相互作用による発がんおよび悪性化機構を解明することを目標として研究を推進している。

**＜2015 年の研究成果，進捗状況＞**

（１）COX-2/$PGE_2$ 経路と自然免疫反応による胃がん発生促進（前田・越前）

胃がん発生モデルの Gan マウスでは，COX-2/$PGE_2$ 経路依存的に炎症性微小環境が形成される。自然免疫反応との関係を明らかにするため，Gan マウスにおいて Toll-like 受容体（TLR）のアダプター分子である MyD88 遺伝子を骨髄細胞で欠損させると，炎症反応および腫瘍形成の双方が顕著に抑制される事を明らかにした。さらに骨髄細胞での MyD88 シグナルが腫瘍細胞の TLR2 発現を誘導し，幹細胞性の維持に作用することを明らかにした（Maeda et al, Cancer Prev Res, 2016)。

（２）胃がん・胃炎組織発現解析と Nox1/ROS による発がん促進機構（越前・青木）

胃がん組織では炎症微小環境で誘導される TNF-αシグナル依存的に CD44，Prom1 などの幹細胞関連因子の発現が誘導され，TNF-αや MyD88 遺伝子欠損により抑制される。

炎症依存的に腫瘍細胞の未分化性を誘導する発がん促進因子として，ヒト胃がんでも発現上昇している Noxo1 に着目した。これまでに炎症により活性化する NF-κB が Noxo1 発現を誘導して NOX1 複合体を活性化し，腫瘍細胞の ROS 産生を誘導することを明らかにし，さらに NOX1/ROS による微小環境形成機構の可能性を示す予備的結果を得た。今後，Noxo1 遺伝子欠損マウスを用いた遺伝学的解析を計画している。

（３）炎症依存的 microRNA 発現変化によるがん転移の促進（Han）

Laser Microdissection により胃がん上皮細胞を単離して遺伝子発現解析を行ない，炎症依存的に腫瘍細胞で発現変化する microRNA（miRNA）を同定した。ヒト胃がん組織でも発現誘導される miR-135b に着目して研究を推進している。これまでに，miR-135b の発現によりがん細胞の遊走能が亢進し，個体内での転移巣形成効率が有意に上昇することを明らかにし，転移・再発過程に関与する miRNA としての可能性が考えられた。

（４）TGF-β抑制と炎症反応の相互作用によるがん細胞浸潤機構（大島浩）

大腸がんの多段階発がんにおいては，*Apc* 遺伝子変異による Wnt 活性化と *Tgfbr2* 変異による TGF-βシグナル遮断により悪性化腫瘍が発生すると考えられている。しかし，villin-CreER *Tgfbr2*$^{flox/flox}$ マウスを用いて腸炎誘導実験を行った結果，慢性腸炎により MMP2 が活性化し，同時に腸粘膜再生が起こると TGF-βシグナル遮断との相互作用により浸潤がんが発生することを明らかにした。がんの粘膜下浸潤による悪性化を誘導する炎症の新しい機構とし論文発表した（Cancer Res, 2015）。

（５）変異型 p53 とドライバー変異蓄積による大腸がん悪性化（中山・坂井）

ヒト固形がんにおける p53 変異の 75%はアミノ酸置換型のミスセンス変異である。そこで，R270H 変異による gain-of-function（GOF）の可能性を明らかにするため，各種遺伝子変異マウスとの交配を進めた。これまでに，*Apc*$^{\Delta 716}$ マウスと p53R270H の複合マウスで粘膜下に浸潤する腸がんが認められており，p53 遺伝子欠損では見られない事から GOF による悪性化と考えられる。また，複数のドライバー遺伝子変異の導入により，免疫不全マウスに移植した時に自然転移するオルガノイドの作製にも成功した。

＜今後の計画＞

2015 年の各プロジェクトの研究成果は，予想外の展開や成果が得られるなど興味深いものが多く，今後はそれぞれの publication に向けたロードマップを担当研究者と描き，それを着実に推進して行きたい。研究員およびプロジェクトは 2015 年と同じ構成で推進する。

## 【研究業績】

### ＜発表論文・著書＞

（腫瘍遺伝学研究分野主体）

1. Oshima H, Nakayama M, Han TS, Naoi K, Ju X, Maeda Y, Robine S, Tsuchiya K, Sato T, Taketo MM, and Oshima M. Suppressing TGF-β signaling in regenerating epithelia in an inflammatory microenvironment is sufficient to cause invasive intestinal cancer. **Cancer Res**, 75: 754-765, 2015.
2. Maeda Y, Echizen K, Oshima H, Yu L, Sakulsak N, Hirose O, Yamada Y, Taniguchi T, Jenkins BJ, Saya H, and Oshima M. Myeloid differentiation factor 88 signaling in bone marrow-derived cells promotes gastric tumorigenesis by generation of inflammatory microenvironment. **Cancer Prev Res**, 9: 253-263, 2016.
3. Echizen K, Hirose O, Maeda Y, and Oshima M. Inflammation in gastric cancer: Interplay of the COX-2/PGE2 and TLR/MyD88 pathways. **Cancer Sci**, 107: 391-397, 2016.
4. Oshima H, and Oshima M. $PGE_2$-associated inflammation and gastrointestinal tumorigenesis. In. **Inflammtion and Immunity in Cancer**, Eds by Seya T, Matsumoto M, Ueda K, and Sato N. Springer, 13-23, 2015.

（共同研究先主体の共著論文）

1. Han TS, Hur K, Xu, G, Choi B, Okugawa Y, Toiyama Y, Oshima H, Oshima M, Lee HJ, Kim VN, Chang AN, Goel A, Yang HK. MicroRNA-29c mediates initiation of gastric carcinogenesis by directly targeting ITGB1. **Gut**, 64: 203-214, 2015.
2. Cao D, Jiang J, Tsukamoto T, Liu R, Ma L, Jia Z, Kong F, Oshima M, Cao X. Canolol inhibits gastric tumors initiation and progression through COX-2/PGE2 pathway in K19-C2mE transgenic mice. **PLoS One**, 10: e120938, 2015.
3. Seishima R, Wada T, Tsuchihashi K, Okazaki S, Yoshikawa M, Oshima H, Oshima M, sato T, Hasegawa H, Kitagawa Y, Goldenring JR, Saya H, Nagano O. Ink4a/Arf-dependent loss of parietal cells induced by oxidative stress promotes CD44-dependent gastric tumorigenesis. **Cancer Prev Res**, 8: 492-501, 2015.
4. Naka K, Jomen Y, Ishihara K, Kim J, Ishimoto T, Bae EJ, Mohney RP, Stirdivant SM, Oshima H, Oshima M, Kim DW, Nakauchi H, Takihara Y, Kato Y, Ooshima A, Kim SJ. Dipeptide species regulate p38MAPK-Smad3 signalling to maintain chronic myelogeneous leukemia stem cells. **Nat Commun**, 6: 8039, 2015.

（日本語総説）

1. 大島浩子，中山瑞穂，越前佳奈恵，大島正伸．炎症反応による消化器がん発生と悪性化の誘導機構．**実験医学**（羊土社）, 33: 746-751, 2015.
2. 大島正伸．がんにおける炎症反応の役割–その捉え方の変遷．増刊「がん微小環境と標的治療」（編集）．**実験医学**（羊土社）, 33: 718-719, 2015.
3. 大島浩子，大島正伸．消化管がん発生を促進する慢性炎症．**臨床免疫・アレルギー科**（科学評論社），63: 538-542, 2015
4. 大島正伸．慢性炎症とがん．**感染 炎症 免疫**（鳥居薬品，羊土社），45: 96-103, 2015.
5. 大島浩子，大島正伸．COX-2/$PGE_2$経路による発がん促進機構．増刊「脂質疾患学」．**実験医学**（羊土社）, 33: 2474-2478, 2015.

＜学会発表＞

（国際学会・国際シンポジウム／ワークショップ）

1. Oshima M. Inflammatory and innate responses in gastrointestinal cancer development. Seoul National University CRI Cancer Symposium.（2015 年 4 月 4 日，韓国）
2. Nakayama M, Sakai E, Oshima H, Taketo MM, Oshima M. Mutant p53 increase invasive adenocarcinoma of intestinal tumors in *Apc*$^{\Delta 716}$ mcie. 10th International Symposium of the Institute Network（研究所ネットワークシンポジウム）（2015 年 7 月 24 日，札幌）
3. Han TS, Oshima H, Oshima M. Inflammation-induced microRNA, miR135b in gastrointestinal tumorigenesis. 20th Korea-Japan Cancer Research Workshop（2015 年 12 月 1 日，東京）
4. Oshima M. Chronic inflammation in gastrointestinal tumor development and progression. 20th International Conference of Korean Society of Cancer Prevention（2015 年 12 月 11 日 : 韓国）

（国内学会・シンポジウム／ワークショップ）

1. 大島正伸．慢性炎症と粘膜再生刺激による浸潤がん発生機構．日本癌学会シンポジウム／共同利用・共同研究拠点シンポジウム．（2015 年 1 月 22 日）
2. 越前佳奈恵，堀内契吾，石川智夫，大島浩子，大島正伸．炎症依存的な胃がん発生における Noxo1 の機能解析．平成 26 年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ（2015 年 2 月 6 日，大津）
3. 前田祐介，大島浩子，Natthiya Sakulsak，佐谷秀行，谷口維紹，大島正伸．胃腫瘍の炎症性微小環境における MyD88 シグナル伝達系の役割．平成 26 年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ（2015 年 2 月 6 日，大津）
4. 大島正伸．消化器がんの新しいマウスモデル．第 101 回日本消化器病学会（特別企画「消化器がんの克服を目指す」）．（ 2015 年 4 月 24 日，仙台）
5. 大島正伸. 慢性炎症が促進するがんの発生. 日本獣医臨床病理学会 2015 年大会.（2015 年 5 月 30 日，東京）

6. 大島正伸．自然免疫によるがん組織での炎症誘導と発がん促進．第３回がんと代謝研究会．（2015 年 7 月 17 日，金沢）
7. 大島正伸．マウスモデルを用いた大腸がんドライバー遺伝子変異の生物学的特徴化．平成 27 年度文部科学省新学術領域「がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動」シンポジウム（2015 年 9 月 9 日，東京）
8. Oshima M. The role of chronic inflammation in gastric cancer development. 第 74 回日本癌学会学術総会（シンポジウム），（2015 年 10 月 9 日，名古屋）
9. Echizen K, Horiuchi K, Ishikawa T, Oshima H, Oshima M. Functional and genetical analysis of Noxo1 in carcinogenesis promoted by chronic inflammation. 第 74 回日本癌学会学術総会，（2015 年 10 月 8 日，名古屋）
10. Maeda Y, Oshima H, Echizen K, Saya H, Oshima M. Innate immune responses through MyD88 for construction of gastric tumor microenvironment. 第 74 回日本癌学会学術総会，（2015 年 10 月 8 日，名古屋）
11. Han TS, Oshima H, Oshima M. Identification and functional study of tumor epithelial cell-specific microRNAs in gastrointestinal tumors. 第 74 回日本癌学会学術総会，（2015 年 10 月 8 日，名古屋）
12. Oshima H, Nakayama M, Sato H, Taketo M, Oshima M. Cooperation of TGF-β suppression and inflammation in malignant invasion of intestinal tumors. 第 74 回日本癌学会学術総会，（2015 年 10 月 8 日，名古屋）
13. Nakayama M, Sakai E, Oshima H, Taketo MM, Oshima M. Mutant p53 promotes intestinal tumorigenesis by alteration of tumor cell characteristics in $Apc^{\Delta 716}$ mice. 第 74 回日本癌学会学術総会，（2015 年 10 月 10 日，名古屋）
14. 大島浩子．TGF-βシグナル欠損と炎症反応の相互作用による浸潤性大腸がん発生機構．AMED-CREST「慢性炎症」研究領域若手研究者報告会，（2015 年 11 月 10 日，逗子）
15. 中山瑞穂．がん悪性化における変異型 p53 と炎症性微小環境の関連性，（2015 年 11 月 10 日，逗子）
16. 大島正伸．ドライバー遺伝子変異と微小環境の相互作用による大腸がん悪性化機構．BMB2015．（2015 年 12 月 4 日，神戸）

**＜平成 26 年度　外部資金＞**

1. 戦略的創造研究推進事業（CREST）［研究代表者：大島 正伸］
「消化器がんの発生・進展過程における慢性炎症の誘導と役割の解明」　36,715 千円
2. 基盤研究（A）［研究代表者：大島 正伸］
「大腸がん自然転移・再発モデルの開発による悪性化進展機構の研究」　8,900 千円
3. 基盤研究（C）［研究代表者　大島 浩子］
「SOX17 発現抑制と炎症反応の相互作用によるがん悪性化機構の研究」　1,300 千円
4. 基盤研究（C）［研究代表者　中山 瑞穂］

「新規大腸がんモデルマウス作製とがん悪性化進展機構の研究」　1,200 千円

5. 若手研究（B）「研究代表者　越前佳奈恵」

「炎症性微小環境で活性化される Nox 複合体/ロ S ニよる胃がん発生機序の解明」1,700 千円

＜共同研究＞

1. Brendan Jenkins（モナシュ大学、オーストラリア）

「Novel mouse models to understand the molecular pathogenesis of gastric cancer」

2. 大木理恵子（国立がん研究センター研究所　希少がん研究分野）

「がん抑制遺伝子 p53 機能喪失による胃がん悪性化機構の本態解明」

3. 清川悦子（金沢医科大学　医学部病理 I）

「２光子顕微鏡を用いた大腸がんにおけるマクロファージの可視化」

4. 高橋利一（実験動物中央研究所　動物資源基盤技術センター）

「NOG マウスをプラットフォームとした消化器がん発生研究モデルの開発」

5.永瀬浩喜（千葉県がんセンター研究所　がん遺伝創薬研究室）

「抗炎症・抗腫瘍化合物の実験動物モデルにおける検証」

6.樋田京子（北海道大学遺伝子病制御研究所　フロンティア研究ユニット）

「消化器がん発生における腫瘍血管マーカー発現の時空的解析」

7.出口敦子（東京女子医科大学　薬理学）

「Toll 様受容体内因性リガンドによる胃がん悪性化機構の解明」

8.大浜　剛（山口大学共同獣医学部　薬理学）

「PP2A 阻害因子 SET による胃がん悪性化の分子機構の解明」

＜その他＞

1. 新学術領域「がん支援」主催の第 20 回日韓がんワークショップをコーディネーターとして開催（2015 年 11 月 30 日～12 月 1 日，東京）

2. 金沢大学市民公開講座「がん研究の最前線」, がんを育む微小環境（2015 年 6 月 20 日，金沢）

# 分子病態研究分野

＜研究スタッフ＞

教授　　後藤　典子
助教　　中田　飛鳥
博士研究員　西村　建徳
博士研究員　伊藤　千秋
技能補佐員　武　紀代子

＜大学院生＞

博士課程 2 年　須賀　淳子
博士課程 2 年　苅谷　文子

## 【 研 究 概 要 】

がんとがん幹細胞に注目し，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。分子生物学的手法に加えて，最新のバイオインフォマティクスも組み合わせ，新しい抗がん剤開発のための新たな分子標的の発見や診断マーカーの開発を試み，トランスレーショナルリサーチへの展開を目指している。今年度より，先進がんモデル研究ユニットとしてのミッションも加わった。本研究部では乳がんに注目し，新たなマウスがんモデルの作出と，Patient-derived xenograft (PDX)モデルの構築とそのカタログ化を行っている。今後乳がん PDX モデルを拡充し，世界的なコンソーシアムの形成に貢献することを目指している。

＜2015 年の研究成果，進捗状況＞

**1) 新規ドライバー融合遺伝子産物 CD74-NRG1 は，IGF2 オートクライン・パラクラインメカニズムによってがん幹細胞性を増強する**

*CD74-Neuregulin1 (NRG1)*は，非小細胞肺腺がんの中でも特に予後不良の invasive mucinous adenocarcinoma の一部に報告された新規のドライバー融合遺伝子である。ごく最近では卵巣がんや乳がんにおいてもその存在が報告されている。一方，CD74-NRG1 がどのようにがんの進展に関わるのか不明であった。また，これまで種々のドライバー融合遺伝子が見つかっているものの，融合遺伝子産物ががん幹細胞に関与するのかどうか，全く不明であった。

CD74-NRG1 蛋白質を肺がん細胞や乳がん細胞に過剰発現させると，がん幹細胞性の指標の一つスフィア形成能が上昇した。NRG1(別名 heregulin)は，HER3 のリガンドとして知られている。そこで，CD74-NRG1 過剰発現細胞において，HER3 ならびに

ヘテロダイマー形成する HER2 のリン酸化を調べたところ上昇をみた。私どもは以前に，NRG1 の刺激により HER2/HER3 の下流で PI3 kinase/AKT/NFkB パスウエイが活性化することを報告している。CD74-NRG1 過剰発現細胞においても，この経路が活性化していた。私どもはまた，この経路の下流で NFkB の活性上昇により IGF2 の産生が起こることを見出している（現在投稿中）。CD74-NRG1 過剰発現細胞においても，IGF2 の産生とその受容体 IGFR 1 のリン酸化が検出された。さらに，HER2, PI3 kinase または NFkB の阻害薬もしくは IGF2 中和抗体の投与により，スフィア形成能が著しく低下した。次に CD74-NRG1 過剰発現細胞を限界希釈して免疫不全マウス皮下に移植したところ，がん幹細胞性のもう一つの指標 tumor initiating activity が上昇した。以上，CD74-NRG1 が，IGF2 の産生を誘導してオートクライン・パラクラインにがん幹細胞性を増強することがわかった。本研究は，融合遺伝子産物ががん幹細胞の維持に直接働いていることを示した最初の報告である。HER ファミリーに対する分子標的薬は多く開発され，初発がんに著効するものの，数年以内に耐性が生じるため生命予後が改善されないことが大きな問題になっている。私どもは，ドライバー融合遺伝子が検出されるがんの根治を目指すうえで，がん幹細胞性を標的とした治療が有効である理論的根拠を前臨床レベルで示すことができた。

**2) 乳がんの PDX と新規マウスモデル**

私どもは，難易度高いとされている乳がん臨床検体の培養系ならびにがん幹細胞性を評価できるスフィア培養系，そして PDX モデルの系を立ち上げ，カタログ化している。

Fibroblast growth factor (FGF)は，正常では種々の組織幹細胞の維持に重要な役割を果たしていることが知られている一方，がんにどのように関わっているかは不明な点が多い。そこで，FGF シグナルと乳がんの進展との関わりに注目した新規マウスモデルの開発を行っている。具体的には FGF の細胞内シグナルの司令塔を果たすアダプター分子 FRS2alpha を乳腺特異的に欠損させ，MMTV-HER2 マウスに生じる乳がんに対する影響を調べる。FRS2alpha のコンディショナルマウスを作出して，MMTV-Cre と掛け合わせし，現在 MMTV-HER2 マウスとの掛け合わせを予定している。

## 【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

原著論文

1. Murayama T, Nakaoku T, Enari T, Nishimura T, Tominaga K, Nakata A, Tojo A, Sugano S, Kohno T, Gotoh N.: Oncogenic fusion gene CD74-NRG1 confers cancer stem cell-like properties in lung cancer through a IGF2 autocrine/paracrine circuit, *Cancer Res*, in press. (分野主体)

2. Ogawa H, Wu X, Kawamoto K, Nishida N, Konno M, Koseki J, Matsui H, Noguchi K, Gotoh N, Yamamoto T, Miyata K, Nishiyama N, Nagano H, Yamamoto H, Obika S, Kataoka K, Doki Y, Mori M, Ishii H.: MicroRNAs Induce Epigenetic Reprogramming and Suppress Malignant Phenotypes of Human Colon Cancer Cells. *PLoS One*, 10, e0127119, 2015. （共同研究）

3. Konno M, Koseki J, Kawamoto K, Nishida N, Matsui H, Dewi DL, Ozaki M, Noguchi Y, Mimori K, Gotoh N, Tanuma N, Shima H, Doki Y, Mori M, Ishii H: Embryonic MicroRNA-369 controls metabolic splicing factors and urges cellular reprogramming. *PLoS One*, 10, e0132789, 2015. （共同研究）

4. Nadal E, Truini A, Nakata A, Lin J, Reddy RM, Chang A, Ramnath N, Gotoh N, Beer DG, Chen G: A novel serum 4-microRNA signature for lung cancer detection. *Sci Rep*, 5, 12464, 2015. doi: 10.1038/srep12464. （共同研究）

5. Nakata A, Yoshida R, Yamaguchi R, Yamauchi M, Tamada Y, Fujita A, Shimamura T, Imoto S, Higuchi T, Nomura M, Kimura T, Nokihara H, Higashiyama K, Kondoh K, Nishihara H, Tojo A, Yano S, Miyano S, Gotoh N.: Elevated beta-catenin pathway as a novel target for patients with resistance to EGF receptor targeting drugs. *Sci Rep*, 5, 13076, 2015. doi: 10.1038/srep13076.
(分野主体)

総説

Gotoh N and Tsuchida N.: Membrane-linked docking protein. *Encyclopedia of Cancer, 3rd Edition, Springer, Heidelberg, Germany*, in press.

＜学会発表＞

国際学会

Noriko Gotoh : “Maintenance of stemness of breast cancer stem-like cells by FRS2beta, a feedback inhibitor for HER, during mammary tumorigenesis.” **2015 SNUCRI Cancer Sympotisum,** 2015 年 4 月 3 日, 韓国 (招待講演)

Asuka Nakata, : ”NOVEL MOLECULAR MECHANISMS OF ACQUIRED RESISTANCE TO GEFITINIB IN LUNG CANCER” **23rd Congress of the International Union for Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB) and 44th Annual Meeting of the**

**Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (SBBq),** 2015 年 8 月 24～28 日，パラナ，ブラジル

全国学会

後藤典子：” Molecular targets in the signaling and metabolism in cancer stem cells and their niche.”
**第 38 回日本分子生物学会年会第 88 回日本生化学会大会・合同大会ワークショップ「がん治療抵抗性にむけた新しいアプローチ」**
2015 年 12 月　神戸 (招待講演)

後藤典子：「増殖因子によるシグナル制御から得られた耐性克服のための新規分子標的」
**第 56 回日本肺癌学会学術集会シンポジウム・「肺癌のトランスレーショナルリサーチ（分子標的薬の耐性克服）」**
2015 年 11 月　京都　(招待講演)

後藤典子：「がん幹細胞—乳がんの癌幹細胞研究と臨床応用への展望」
**第 53 回日本癌治療学会・日本癌学会合同シンポジウム：がん治療のゲノム個別化 Precision Medicine を目指す多様な視点**
2015 年 10 月　京都　(招待講演)

後藤典子：”Molecular targets in the signaling and metabolism in cancer stem cells and their niche”
**第 74 回日本癌学会学術総会特別シンポジウム「女性研究者による癌研究」**
2015 年 10 月 名古屋　(招待講演)

後藤典子：”MICAL3 regulates stemness of human breast cancer”
**第 13 回日本臨床腫瘍学会学術集会シンポジウム「がん幹細胞の分子標的・免疫制御の新展開」**
2015 年 7 月　札幌　(招待講演)

中田飛鳥 ：”肺腺癌における β カテニンの活性化はイレッサ(gefitinib)への耐性に寄与する” **第 35 回日本分子腫瘍マーカー研究会**，2015 年 10 月 7 日，名古屋

中田飛鳥：” Novel molecular mechanisms of acquired resistance to gefitinib in lung adenocarcinoma” **第 73 回日本癌学会学術総会**，2015 年 10 月 8～10 日，名古屋

中田飛鳥 :”肺腺癌におけるβカテニンの活性化はイレッサ(gefitinib)への耐性に寄与する” 第38回日本分子生物学会年会，第88回日本生化学大会　合同大会，2015年12月1～4日，神戸

伊藤千秋 : ”The role of p62/SQSTM1, an adaptor protein for selective autophagy for stemness of breast cancer cells” 第13回幹細胞シンポジウム，2015年5月29, 30日，東京

伊藤千秋 : ”乳癌細胞の幹細胞性に対する選択的オートファジーの役割 “
第74回日本癌学会学術総会，2015年10月8～10日，名古屋

西村建徳 : ”ミトコンドリア内代謝酵素 MTHFD2 は，新規分子標的である.” **第 3 回がんと代謝研究会**，2015 年 7 月 16, 17 日，金沢

西村建徳 : ” EGF 受容体チロシンキナーゼ鍵分子 MTHFD2 は非小細胞肺癌細胞の増殖を制御する” **第 19 回日本がん分子標的治療学会**，2015 年 6 月 10，11, 12 日，松山

＜外部資金＞

1. 後藤典子，基盤研究 B（一般），H27-29 年度，代表，13,000 千円
2. 後藤典子，挑戦的萌芽研究，H26-27 年度，代表，2,100 千円
3. 後藤典子，次世代がん研究シーズ戦略的育成プログラム，H26-27 年度，代表，11,730 千円
4. 中田飛鳥，若手研究 B（一般），H27-28 年度，代表，3,200 千円

＜共同研究＞

1. 井上純一郎　東京大学医科学研究所　「悪性乳癌幹細胞維持における転写因子 NF-kB の役割解明」
2. 河野隆志　国立がん研究センター　「がん幹細胞形質を増強する肺がん遺伝子異常の同定」
3. 石井秀始，森正樹　大阪大学消化器外科学　「膵臓がんの薬剤耐性に関わる miRNA の同定」
4. 鈴木穣　東京大学新領域創成科　「臨床検体乳がんスフェア培養細胞のゲノム解析」
5. Anna Akhmanova，Utrecht University, オランダ　「MICAL3 の乳がん幹細胞における役割」

6. 北林一生（国立がん研究センター），佐谷秀行（慶応大学），赤司浩一（九州大学）
「乳がん幹細胞の発生機構の解析」
7. Joseph Schlessinger, Yale University, 米国　「FRS2beta を介するシグナル伝達」
8. 東條有伸，東京大学医科学研究所「固形がんのがん幹細胞培養系を用いたがん悪性化の分子機構の解析」
9. Mats Nilsson, Stockholm University, スウェーデン, 岡本康司（国立がん研究センター）
「乳がん幹細胞のシングルセル解析」
10. Yu Qiang, Genome Institute of Singapore
「Patient-derived in vitro culture system to study molecular mechanism underlying breast cancer stemness and therapeutic resistance.」
11. 下野洋平，神戸大学
「転移乳がん幹細胞の幹細胞性制御機構のパスウエイ解析」
12. 加藤良規，星薬科大学
「ヒト乳がん細胞変異株におけるがん幹細胞の解析及び臨床サンプルとの関連性の評価」
13. 河野晋，高橋智聡，金沢大学がん進展制御研究所
「代謝酵素 MTHFD2 のがん進展における役割」

# 実験治療学研究分野

＜研究スタッフ＞

特任教授　　武藤　誠（京都大学国際高等教育院）

博士研究員　　Mohamed A.E. Ali

## 【研究概要】

固形がんによる死亡の原因の多くは肝臓，肺，骨などの重要臓器への転移による。当研究室では，ヒト胃がんと肺がんの転移に対する有効な化学療法を確立するために，患者腫瘍の細胞培養とマウスへの移植系を併用して，実験的治療評価法を開発し，評価して臨床応用を確立することを目標としている。これらの研究目標のもとに，2015年は以下を推進した。

**＜2015年の研究成果，進捗状況＞**

当研究室は2015年度から発足したが，実際の教授赴任は8月より，またPDの赴任は11月からで，本年度は大部分の努力を研究室とプログラムのセットアップに費やした。

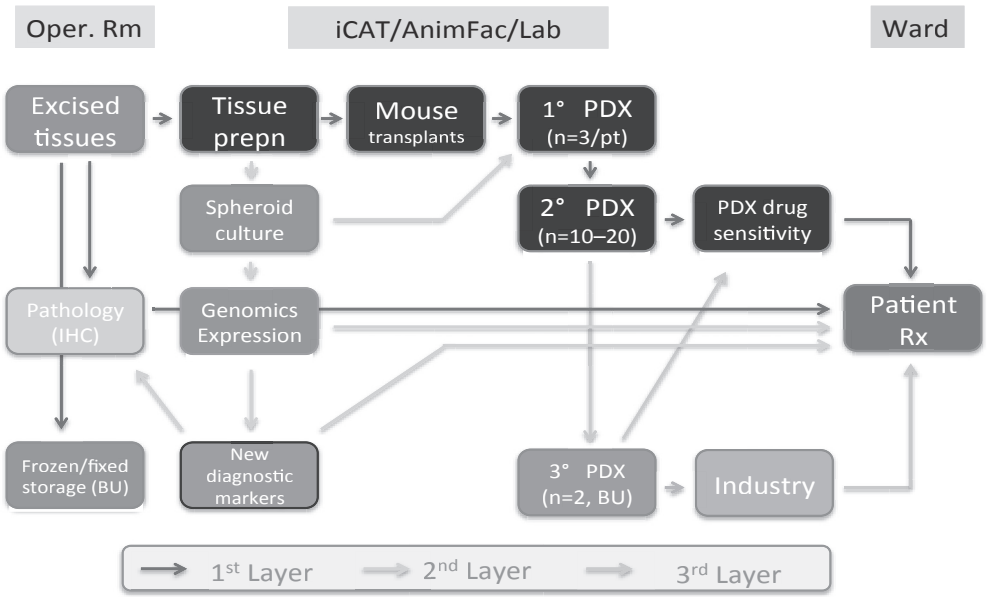
（１）肺がんと胃がん上皮のスフェロイド（オーガノイド）培養：この方法では所謂がん幹細胞を含む増殖性がん上皮細胞をマトリゲル内で3次元培養する。2012年に米国でこの方法を著しく改善して簡易にした三好弘之が京大からアドバイザーとして参画することで，比較的容易に進められると考えられる。（Miyoshi et al., *Science* 338:108-113, 2012）．PDを京都大学に派遣して大腸がんのスフェロイド（オーガノイド）培養法を実地に修練した。

（２）PDX (Patient-derived xenografts)による免疫不全マウスへの異種移植：この方法は既に多数の報告があり（例，*Nature Protocols* 1670-1680, 2009）腫瘍片からの直接移植による成功率はがんのタイプによって異なるが，30%～70%と報告されている。マウス飼育施設と移植手術の為の設備セットアップを行った。

これらのプロジェクトを遂行するために当研究所腫瘍内科研究分野と協力して肺がんの研究を，腫瘍遺伝学研究分野と協力して胃がんの研究をするための，討議・調整を行い，倫理委員会に書類を申請し，承認された。これに先立ち，金沢大学大学院医薬保健学総合研究科・がん局所制御学（旧外科学第二）と討議・調整を行い，手術摘出腫瘍試料を用いた共同研究を遂行する事で合意を得た。

＜今後の計画＞

肺がん，胃がんの摘出腫瘍試料を用いて spheroid 培養及び PDX を確立し，これらを用いて，患者の腫瘍に対する化学療法感受性を推測評価する。PDX の確立には 3〜9 ヶ月を要するが，spheroid 培養法が確立出来れば，それをマウスに移植することで期間を大幅に短縮できる可能性がある。また，spheroid 培養は，それらを用いた遺伝子変異解析，発現解析にも有用であり，それらの関係を下記のダイアグラムで示す。




## 【研究業績】

＜発表論文＞

なし

＜学会発表＞

なし

＜その他＞

なし

＜外部資金＞

なし

＜共同研究＞

京都大学大学院医学研究科 遺伝薬理学 START プログラム

# 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，小林昌彦，上野将也

博士研究員　大田久美子

大学院生

[医薬保健総合研究科博士課程]　笠田篤郎，野村奈穂，彭卉，Vu T. Ha，高瀬雄介

[自然科学研究科博士後期課程]　Ahmed M. Hegazy

技能・技術補佐員　畦地絵里，澤和恵

## 【 研 究 概 要 】

当研究室では，①幹細胞自己複製・分化制御メカニズムの解明，②がんの幹細胞特性制御メカニズムの解明をテーマとして研究を進めている。これらの知見に基づいて，③新規がん治療法の開発を模索している。

### ＜2015 年の研究成果，進行状況＞

#### 1）幹細胞の自己複製調節と発がんの関連について

造血幹細胞は，骨髄環境の中で様々な外的影響を受け，自己複製と分化の適切なバランスによって，恒常性が維持されている。本研究室では，栄養・エネルギーシグナルやサイトカインシグナルを中心に，その分子メカニズムの解明に取り組んでいる。

我々は，これまで，造血幹細胞の維持機構の解明を目的として，主に細胞周期停止・静止状態（G0 期）の導入・維持，それに伴う活性酸素の抑制に焦点を当て，FOXO/mTOR 経路の解析を進めてきた。しかし，一方で，生体内では，すべての造血幹細胞は一定期間の間に細胞周期に進入し，娘細胞を生み出すプロセスを有する。幹細胞プールの制御という観点からは，細胞分裂に伴う未分化性の維持機構，つまり，自己複製プロセスの制御を理解することが極めて重要である。本年は，自己複製制御の解明を目的に，Spred ファミリーの機能解析を進めた。受容体型チロシンキナーゼ c-Kit とそのリガンドである SCF は，自己複製のための細胞分裂を誘導する最も重要なシグナルである。Spred1 は，SCF/c-Kit により活性化され，Ras-Raf-ERK 経路を負に制御ことが知られている。造血幹細胞において，Spred1 と c-Kit シグナルとの関係を解析した結果，本分子が造血幹細胞の自己複製を負に制御すること，加齢や移植ストレスに反応して上昇し，造血幹細胞機能を抑制すること，反対に Spred1 欠失は，自己複製能を上昇させ，老化表現型が解除されることを見いだした（投稿準備中）。さらに，造血幹細胞の細胞分裂の際，足場となるニッチ細胞や接着を介した自己複製調節が重要であることを見いだした。本研究結果を基に，今後，「細胞接着を介した未分化性維持機構」

という新たなテーマを設定して研究を展開したいと考えている。一方，c-Kit シグナルの過剰な活性化は発がんの原因ともなり，本研究を通して，”生理的自己複製”と”がん化を伴う自己複製”の本質的な違いを見いだしたいと考えている。

栄養センサーシグナルとして，オートファジーに関するプロジェクトを進めた。その結果，オートファジーの機能不全が，成体型幹細胞の成立に大きく影響することを見いだし，現在，その分子メカニズムの解析を進めている。その他，mTOR シグナルの下流分子として脂質代謝制御分子に着目して解析を進めるなど，多方向から自己複製制御メカニズムの解明に取り組んでいる。

### ２）代謝シグナルを介した白血病の増殖・治療耐性機構について

白血病の増殖・治療耐性機構の解明を目指し，①栄養・エネルギーを感知し活性化する mTOR 複合体 1,2 (mTORC1,2)，②栄養飢餓によって活性化する転写因子フォークヘッド FOXO の機能解析を中心に行った。mTORC1 は，多くの栄養シグナルに反応し活性化し，増殖の活発ながん細胞における重要な治療標的として認識されている。本年は，mTORC1 活性化誘導分子である Rheb に着目して，造血幹細胞や各種白血病細胞における機能解析を行った。その結果，本分子は Raptor と同様に，急性骨髄性白血病の増殖・生存には決定的な機能を発揮しないが，リンパ球性白血病では極めて重要な役割を果たしていることが判明した。現在，リンパ球系白血病の臨床的治療応用への可能性を視野に入れ，臨床教室と共同で研究を進めている。一方，mTORC2 は，白血病治療耐性機構において重要な役割を果たしていることを見いだした。現在，本シグナルの下流分子の探索のため，革新ゲノム情報学分野と共同で，次世代シークエンサーを用いた網羅的機能分子スクリーニング法の確立に取り組んでいる。現時点では，いくつかの技術的問題があるが，次年度はできるだけ速やかに治療標的候補を得ることを目標とする。さらに，昨年から引き続き，骨髄性白血病における FOXO の機能解析を行った結果，本分子が幹細胞分化や代謝変動に対して直接的に関与していることを見いだした。FOXO に関連する分子も含め，白血病幹細胞の未分化性維持における細胞内代謝調節の意義について明らかにしたい。

### ３）がん化モデルを用いた脳腫瘍幹細胞の悪性化因子の特定

悪性神経膠腫（グリオーマ）は，最も未分化で臨床的にも悪性度の高いグリア細胞由来の脳腫瘍である。がん遺伝子変異の導入や転写因子の制御によって，ヒト患者検体由来脳腫瘍細胞で認められる未分化性形質の獲得過程を再現する解析法の確立に取り組んでいる。特に，スフィア形成，CD133 や OCT/NANOG などの幹細胞マーカー発現，マウス個体での腫瘍形成能の獲得を指標に，未分化性形質維持に寄与する分子を特定するプロジェクトを進めている。本研究により脳腫瘍の悪性化メカニズムの解明と新規治療法の開発に向けて研究を進めたい。

## 【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

（研究室主体）

1. Tanaka S, Nakada M, Yamada D, Nakano I, Todo T, Ino Y, Hoshii T, Tadokoro Y, Ohta K, Ali MA, Hayashi Y, Hamada JI, Hirao A. Strong therapeutic potential of γ-secretase inhibitor MRK003 for CD44-high and CD133-low glioblastoma initiating cells. ***J Neurooncol.*** 121:239-50. 2015

（共同研究）

2. MatsushitaT, Huu DL, Hamaguchi Y, Hasegawa M, Naka K, Hirao A, Muramatsu M, Takehara K, Fujimoto M. The PI3K-Akt pathway controls IL-10-producing regulatory B cells. ***J Allergy Clin Immunol,*** in press, 2015
3. Nakagawa T, Araki T, Nakagawa M, Hirao A, Unno M, Nakayama K. S6 Kinase- and β-TrCP2-Dependent Degradation of p19Arf Is Required for Cell Proliferation. ***Mol Cell Biol.*** 3517-27, 2015
4. Kato T, Sakata YM, Nishikii H, Miyake Y, Yokoyama Y, Asabe Y, Kamada Y, Ueno M, Obara N, Suzukawa K, Hasegawa Y, Kitabayashi I, Uchida K, Hirao A, Yagita H., Kageyama, R., Chiba S.: Hes1 suppresses acute myeloid leukemia development through FLT3 repression. ***Leukemia*** 29:576-85, 2015.
5. Naka K, Ishihara K, Jomen Y, Jin CH, Kim DH, Gu YK, Jeong ES, Li S, Krause DS, Kim DW, Bae E, Takihara Y, Hirao A, Oshima H, Oshima M, Ooshima A, Sheen YY, Kim SJ, Kim DK. The novel oral TGF-β signaling inhibitor EW-7197 eradicates chronic myelogenous leukemia-initiating cells. ***Cancer Sci.*** 2015 Nov 19. [Epub ahead of print]
6. Kawahara T, Kagaya N, Masuda Y, Doi T, Izumikawa M, Ohta K, Hirao A, Shin-Ya K. Foxo3a Inhibitors of Microbial Origin, JBIR-141 and JBIR-142. ***Org Lett.*** 17:5476-9, 2015
7. Fahkri H, Zhang B, Fajol A, Hernando N, Elvira B, Mannheim JG, Pichler BJ, Daniel C, Amann K, Hirao A, Haight J, Mak TW, Lang F, Föller M. Checkpoint kinase Chk2 controls renal Cyp27b1 expression, calcitriol formation, and calcium-phosphate metabolism. ***Pflugers Arch***. 467:1871-80, 2015

（著書）

1. Hirao A, Tadokoro Y, Ueno M: Molecular Pathogenesis and Treatment of Chronic Myelogenous leukemia (Editor: Masahiko Kizaki) Chapter 2: Molecular Mechanisms of CML Stem Cell Maintenance. p11-17, 10.1007/978-4-4431-55714-2, 2015, Springer
2. 笠田篤郎，平尾敦：医学生・レジデントのための必修エッセンス Principles and Practice 血液・造血器・リンパ系 (千葉滋 編) 造血幹細胞から各血球への分化, 48-52 頁，平成 27 年，文光堂

（総説）

1. 平尾　敦：造血幹細胞と代謝調節　再生医療 14:18-29, 2015
2. 平尾　敦：固形がんの分子標的薬―基礎研究から創薬・開発・臨床まで―幹細胞特性とがん分子標的　日本臨床 73: 1256-62, 2015
3. 平尾　敦 : 造血幹細胞および白血病動態制御における mTOR シグナルの役割　臨床血液　56:601-5, 2015
4. 平尾　敦：白血病幹細胞を標的とした治療の開発　内科 116:293-7, 2015
5. 平尾　敦：造血器腫瘍における PI3K-AKT-mTOR シグナルと分子標的治療　腫瘍内科 16:499-504, 2015

＜学会発表＞

1. Hirao A: Role of nutrient sensing signaling pathways in the maintenance of leukemia stem cells. SNUCRI CANCER SYMPOSIUM, Apr. 3, 2015, Korea
2. Hirao A: Role of c-Kit signal modulation in the control of self-renewal and aging of hematopoietic stem cells. JAPAN-US Hematology Conference. Mar.16-17, 2015, Hawaii, USA
3. Hirao A: Molecular mechanism linking between hematopoietic stem cell aging and leukemogenesis. International Society for Experimental Hematology（ISEH） 44th Annual Scientific Meeting Sep.17-19, 2015, Kyoto
4. Hirao A. Stem cell regulation by nutrient signals　第74回日本癌学会学術総会, 平成27年10月9日，名古屋
5. 平尾敦：　造血・白血病幹細胞研究の現状と未来. 第 77 回日本血液学会学術集会, 平成 27 年 10 月 16-18 日，金沢
6. 平尾敦 : 幹細胞未分化性制御因子による老化および発がん調節機構, BMB2015（第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会 平成 27 年 12 月 1-4 日，神戸
7. Tadokoro Y, Eto K, Ema H, Yamazaki S, Yoshimura A, Nakauchi H, Hirao A: Control of self-renewal activity of hematopoietic stem cells by Spred1. 日本癌学会シンポジウム/共同利用・共同研究拠点シンポジウム, 平成27年1月21-22日, 金沢
8. Tadokoro Y, Yoshimura Y, Nakauchi H, Hirao A: Quality control of undifferentiated status in hematopoietic stem cells during cell division by Spred1. The 13th Stem Cell Research Symposium, 平成27年5月29-30日, 東京
9. Tadokoro Y, Yoshimura Y, Nakauchi H, Hirao A: Spred1 regulates the self-renewal activity in hematopoietic stem cells. The 10th International Symposium of the Institute Network, 平成27年7月23-24日, 札幌
10. Tadokoro Y, Yoshimura Y, Nakauchi H, Hirao A: Role of Spred1 in the regulation of self-renewal and aging of hematopoietic stem cells. ISEH 43rd Annual Scientific Meeting,

Sep. 17-19, Kyoto

11. Tadokoro Y, Yoshimura Y, Nakauchi H, Hirao A: Spred1 regulates the self-renewal activity of hematopoietic stem cells. 第77回 日本血液学会学術集会, 平成27年10月16-18日, 金沢
12. 田所優子, 吉村昭彦, 中内啓光, 平尾敦: Spredによる造血幹細胞の自己複製制御機構, 新学術領域「幹細胞老化と疾患」若手の会 平成28年1月29-30日,熱海
13. 田所優子, 吉村昭彦, 中内啓光, 平尾敦: Spredファミリーによる造血幹細胞の自己複製調節および腫瘍抑制機構, 第20回造血器腫瘍研究会 平成28年2月12-13日, 木更津
14. 小林昌彦, 山田大祐, Hegazy Ahmed M, 平尾敦: mTORC 1 の活性化によるグリオーマ幹細胞の悪性化の解析, 日本癌学会シンポジウム／共同利用・共同研究拠点シンポジウム, 平成 27 年 1 月 21-22 日, 石川
15. 小林昌彦, 山田 大祐, Hegazy Ahmed M, 平尾敦: mTOR 複合体 1 のエネルギー代謝調節機構を介したグリオーマ幹細胞の悪性化の解析, 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, 平成 27 年 1 月 27-28 日, 東京
16. Hegazy Ahmed M, 小林昌彦, 山田大祐, 平尾敦: mTOR 複合体 1 活性化グリオーマの悪性化形質に対するミトコンドリア活性阻害の効果, 第 3 回がんと代謝研究会, 平成 27 年 7 月 16-17 日, 石川
17. Kobayashi M, Yamada D, Hegazy Ahmed M, Hirao A: Efficient targeting malignant phenotypes of glioma by inhibition of mitochondrial activity, 第 74 回日本癌学会, 平成 27 年 10 月 8-10 日, 愛知
18. 大田久美子, 布施香子, 上野将也, 河野晋, 高橋智聡, 平尾敦 : フォークヘッド転写因子 FOXO による急性骨髄性白血病代謝調節機構, 第 3 回がんと代謝研究会 平成 27 年 7 月 16-17 日, 金沢
19. 大田久美子, 布施香子, 上野将也, 河野晋, 高橋智聡, 平尾敦 : 急性骨髄性白血病での FOXO による代謝調制御機構, 第 74 回日本癌学会学術総会, 平成 27 年 10 月 8-10 日, 名古屋
20. 彭卉, 笠田篤郎, 星居孝之, 上野将也, 平尾敦: 正常造血及び白血病発症における mTOR 複合体の役割 BMB2015（第 38 回日本分子生物学会年会、第 88 回日本生化学会大会 平成 27 年 12 月 1-4 日, 神戸

＜外部資金＞

1. 平尾敦 : 基盤研究（A）H27～H30 年度「幹細胞性獲得・維持のためのがん微小環境」8,900 千円
2. 平尾敦 : 新学術領域「幹細胞老化と疾患」（公募） H27～H28 年度「幹細胞エイジングを制する栄養環境シグナルメディエーター」4,300 千円
3. 平尾敦 : 次世代がん研究戦略推進プロジェクト H23～H27 年度「がん幹細胞を

標的とした根治療法の開発」40,000 千円

4. 田所 優子：基盤研究（C）（H25～H27年度）「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」1,200千円
5. 小林昌彦：基盤研究（C）（H25～H27年度）「DNA損傷を介さないATM依存的な細胞ストレス応答と発がん抑制機構の解析」　800千円
6. 上野将也：基盤研究（C）H26～H28年度「静止期制御因子を指標とした造血幹細胞不均一性の解明」1,200千 円
7. 大田久美子：若手研究（B）H27～H28年度「白血病幹細胞の未分化性制御での代謝リプログラミングの役割」1,500千 円

＜共同研究＞

学内

1. 脳腫瘍幹細胞解析：脳神経外科　中田光俊
2. 白血病解析：血液内科　中尾眞二
3. 薬物動態解析：薬物動態学　中西猛夫，玉井郁巳
4. 次世代シークエンサー解析：田嶋敦

学外

5. 造血幹細胞解析：東京大学医科学研究所　中内啓光
6. シグナル解析：慶應義塾大学　吉村昭彦

# 腫瘍分子生物学研究分野

＜研究スタッフ＞

教授　　高橋　智聡
助教　　シャムマ　アワド　　助教　　林　直之（3 月まで）
特任助教　北嶋　俊輔　（3 月まで）　　特任助教　河野　晋
博士研究員　佐々木　信成（8 月まで）
協力研究員　Mohammed Salah Abdallah Mohammed（6 月まで）
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（博士課程）　西本　裕希
大学院生（修士課程）李　鳳凱　　大学院生（修士課程）　近藤　篤志
大学院生（修士課程）万　沅松　　大学院生（修士課程）Nguyen Thi Kem
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，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・未分化性制御のための有効標的を探し出す試みを続けており、研究の焦点を RB がん抑制遺伝子によるシグナル制御，代謝制御，微小環境制御，エピジェネテッィク制御機構に絞り込んでいる。

＜2015 年の成果、進行状況と今後の計画・展望＞

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。悪性進展の様々なコンテクストにおいて RB 不活性化シグナチャーを決定するアプローチによって見えてきたのは、RB の多様な代謝制御機能とサイトカイン・ケモカイン発現への影響であった。

悪性進展モデルの構築と解析

C 細胞悪性進展モデルと MEF を用い，プログレッション時の RB 不活性化が未分化性獲得につながることを証明した（北嶋・河野、Stem Cells2015）。$p53^{-/-}$; $Rb^{flox/flox}$，　$p53^{-/-}$; $Pten^{flox/flox}$ あるいは $p53^{-/-}$; $Rb^{flox/flox}$; $Pten^{flox/flox}$ 乳腺（西本）および前立腺（Salah、近藤）上皮初期培養細胞を *in vitro* 系において *de novo* にトランスフォームすることにより, 幹細胞様活性獲得のコンテクストにおける RB および PTEN 不活性化のシグナチャーを決定、IL-6, CCL2, CCL5 やコラーゲン修飾酵素 LOX 等の標的候補を発見した(Mol. Carc.2015)。

**RB-PGAM 機軸による Warburg 効果の修飾（未分化状態の代謝の流れ）**

解糖系酵素の中でほぼ唯一 HIF や Myc による転写制御を受けない PGAM1,2 が、RB によって転写活性化されることとその分子機序を明らかにした。PGAM1,2 が RB による未分化性制御を媒介することの証拠も得た。RB 不活性化による

PGAM1,2 の発現低下は、解糖系の下流への流れを途絶するとともに、上流から分岐する代謝の流れを変化させる。RB-PGAM 機軸の生理学的意義の探索によって、がん細胞の未分化性の基盤となる代謝の流れの解明に挑む（河野、万、第一三共・大阪大学との共同研究）。

**RB-SREBPs・ELOVL6・SCD1 機軸による脂肪酸の質の制御**

小野薬品工業・筑波大学との共同研究による RB-SREBP1 DKO マウスの解析の過程で、RB が、ELOVL6 と SCD1 の発現制御を介して、脂肪酸の伸長反応と不飽和化を制御する事が明らかになった（脂肪酸の質的制御）。筑波大学島野仁教授の AMED-CREST の研究グループに参加し、この臨床的意義を探索している（村中）。

がん細胞未分化性とコレステロール代謝

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解明しつつある。コレステロールとコレステロールエステルの抗酸化作用が見えてきた（佐々木、鈴木）

腫瘍において合成致死となる代謝酵素の探索

腫瘍において頻繁に欠落する遺伝子の近傍に代謝酵素遺伝子が位置する場合、「巻き込まれ」によってこれらもしばしば欠落する。そのような場合、この酵素のアイソフォームに対する阻害剤が抗腫瘍効果を示す可能性がある。様々なデータベースを用いて、いくつかの標的遺伝子候補を見出している（河野、第一三共との共同研究）。

**RB-FAO-IL-6 機軸による腫瘍微小環境制御**

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

**RB 不活性化と腫瘍内不均一性**

プログレッション時の RB 不活性化が、前立腺がん、肺がん、グリオーマの腫瘍内不均一性や薬剤耐性の獲得に貢献することが示されている。我々は、細胞競合やクローン間協調の観点から、RB 不活性化が関与する腫瘍内不均一性を考える試みを開始した（西本、Kem, 北海道大との共同研究）。

## 【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

原著論文

（研究室主体）

1. Kitajima S, Kohno S, Kondo A, Sasaki N, Nishimoto Y, Li F, Mohammed SA, Muranaka H, Nagatani N, Suzuki M, Kido Y and Takahashi C. Undifferentiated state induced by Rb-p53 double inactivation in mouse thyroid neuroendocrine cells

and embryonic fibroblasts. Stem Cells, 33: 1657-1669, 2015.

2. Kitajima S, Li F, Takahashi C. Primary Culture of Mouse Thyroid Calcitonin-producing Cell (C cell) Tumors. Bio-Protocol, 2015. (in press)
3. Salah M, Nishimoto Y, Kohno S, Kondoh A, Kitajima S, Muranaka H, Nishiuchi T, Ibrahim A, Yoshida A and Takahashi C. An *in vitro* system to characterize prostate cancer progression identified signaling required for self-renewal. Mol Carcinog, 2015 Dec 1. [Epub ahead of print]

（共同研究）

1. Okahashi N, Kohno S, Kitajima S, Matsuda F, Takahashi C and Shimizu H. Metabolic characterization of cultured mammalian cells by mass balance analysis, tracer labeling experiments and computer-aided simulations. J Biosci Bioeng, 120:725-731, 2015.
2. Gutiérrez J, Droppelmann CA, Contreras O, Takahashi C and Brandan E. RECK-mediated β1-integrin regulation by TGF-β1 is critical for wound contraction in mice. PLoS One, 2015 Aug 6. [Epub ahead of print]

（総説）

1. Hayashi N. and Takahashi C. Pleiotropic functions of RB protein in tumor suppression. Archives in Cancer Res, 2015. [Epub]
2. Kohno S, Kitajima S, Sasaki N and Takahashi C. RB tumor suppressor functions shared by stem cell and cancer cell strategies. World J Stem Cells, 2016. (in press)

（著書）

3. 河野晋. 実験医学 News and Hot Paper Digest「酢酸は多能性幹細胞やがん細胞の栄養源！？」Vol.33 No.9 p1406-1407, 2015 榎本和生編, 羊土社刊
4. 河野晋. 実験医学 News and Hot Paper Digest「LXR インバースアゴニストは夢のがん治療薬か？」Vol.33 No.18 p2973-2975, 2015 仁科博史編, 羊土社刊
5. 北嶋俊輔, 河野晋, 髙橋智聡. RB と p53 の二重不活性化により，マウス甲状腺 C 細胞および線維芽細胞は高度な未分化性を獲得する. BioMed サーカス.com 最新研究情報「執筆者自身による研究論文レビュー 第 35 回」2015.
6. 髙橋智聡. 家族性腫瘍学 － 家族性腫瘍の最新研究動向 － II. 各論 原因遺伝子 RB1. 日本臨牀, 73 巻: p336-341, 2015.

＜学会発表＞

1. Sasaki N, Kitajima S, Muranaka H, Shamma A, Kohno S, Takahashi C. The metabolic function of RB in controlling mevalonate (MVA) pathway regulates

tumor progression. Keyston Symposia 2015 年 1 月 16 日(Vancouver, Canada / Fairmont Hotel Vancouver)

2. 佐々木信成, 村中勇人, 北嶋俊輔, 河野晋, Shamma A, 髙橋智聡. RB によるメバロン酸経路を介したがん悪性進展制御機構. 日本癌学会シンポジウム / 共同利用・共同研究拠点シンポジウム　がん幹細胞・微小環境・分子標的〜がん進展制御への挑戦 2015 年 1 月 21 日（金沢/石川県立音楽堂）
3. 河野晋, 北嶋俊輔, 鈴木佐和子, 田中知明, 岡橋伸幸, 松田史生, 清水浩, 髙橋智聡. RB 不活性化によって誘導される代謝リワイヤリング機構の解明. 日本癌学会シンポジウム / 共同利用・共同研究拠点シンポジウム　がん幹細胞・微小環境・分子標的〜がん進展制御への挑戦 2015 年 1 月 21 日（金沢/石川県立音楽堂）
4. 村中勇人, 北嶋俊輔, 佐々木信成, 河野晋, 林昭夫, 多田秀明, 丹下正一朗, 鈴木健人, Shamma A, 髙橋智聡. がん抑制遺伝子 RB による SREBP-1 の制御とがんにおける役割の解析. 日本癌学会シンポジウム / 共同利用・共同研究拠点シンポジウム　がん幹細胞・微小環境・分子標的〜がん進展制御への挑戦 2015 年 1 月 21 日（金沢/石川県立音楽堂）
5. Yoshida A, Kitajima S, Hayashi N, Nagatani N, Li F, Nishiuchi T, Tanaka T, Hirose O and Takahashi C. b1 inhibits malignant progression through miR-140. 日本癌学会シンポジウム / 共同利用・共同研究拠点シンポジウム　がん幹細胞・微小環境・分子標的〜がん進展制御への挑戦 2015 年 1 月 21 日（金沢/石川県立音楽堂）
6. 西本裕希, 北嶋俊輔, 河野晋, Mohammed M, 吉田晶代, 鈴木佐和子, 田中知明, 西内巧, 髙橋智聡. *In vitro* 乳がんモデルにおける *Rb*, *Trp53* の機能とその作用機構の解析. 日本癌学会シンポジウム / 共同利用・共同研究拠点シンポジウム　がん幹細胞・微小環境・分子標的〜がん進展制御への挑戦 2015 年 1 月 21 日（金沢/石川県立音楽堂）
7. Mohammed M, Nishimoto Y, Yoshida A, Kondo A, Muranaka H and Takahashi C. In vitro model of carcinogenesis from prostate epithelial cells using $p53^{-/-}$ $Rb^{flox}$ $Pten^{flox}$ mice. 日本癌学会シンポジウム / 共同利用・共同研究拠点シンポジウム　がん幹細胞・微小環境・分子標的〜がん進展制御への挑戦 2015 年 1 月 21 日（金沢/石川県立音楽堂）
8. 塙京子, 橋田光, 松原大祐, 北嶋俊輔, 高橋智聡, 末次志郎. がん化における IRSp53 の役割. 日本癌学会シンポジウム / 共同利用・共同研究拠点シンポジウム　がん幹細胞・微小環境・分子標的〜がん進展制御への挑戦 2015 年 1 月 21 日（金沢/石川県立音楽堂）
9. 岡橋伸幸, 松田史生, 河野晋, 高橋智聡, 清水浩. $^{13}C$ 標識実験によるグルタミンの還元的代謝の解析. 日本癌学会シンポジウム / 共同利用・共同研究拠点シンポジウム　がん幹細胞・微小環境・分子標的〜がん進展制御への挑戦 2015 年 1 月 21 日（金沢/石川県立音楽堂）
10. 髙橋智聡. がん代謝とがん幹細胞–RB がん抑制遺伝子研究から. 第 28 回原研研究集会. 2015 年 3 月 25 日（長崎/長崎大学医学部 良順会館）
11. 髙橋智聡. 乳がんにおける RB-IL-6 経路の細胞自律的機能. 金沢国際がん生

物学シンポジウム 2015 年 4 月 8 日（金沢/金沢大学附属病院）

12. Takahashi C. Metabolic functions of RB tumor suppressor in controlling undifferentiated state. 2015 the Catholic Univ. of Korea Seoul St Mary's Hospital Comprehensive Cancer Institute International Symposium 2015 年 5 月 22 日（韓国/ソウル/Seoul Marriott Hotel）
13. 村中勇人, 多田秀明, 林昭夫, 南圭一, 丹下正一朗, 北嶋俊輔, 鈴木健之, 松坂賢, 島野仁, 髙橋智聡. がん抑制遺伝子 RB と SREBP1 の発がん制御における協調的作用.第 57 回日本脂質生化学会 2015 年 5 月 29 日（東京/一橋大学一橋講堂）
14. 佐々木信成, 村中勇人, 北嶋俊輔, 河野晋, シャムマ アワド, 髙橋智聡. RB によるメバロン酸経路を介したがん悪性進展制御機構. 第 57 回日本脂質生化学会 2015 年 5 月 29 日（東京/一橋大学一橋講堂）
15. 髙橋智聡. RB1 不活性化シグナチャー解析による新規分子標的探索. 第 19 回日本がん分子標的治療学会学術集会 2015 年 6 月 11 日（松山/松山全日空ホテル）
16. 村中勇人, 多田秀明, 林昭夫, 南圭一, 北嶋俊輔, 丹下正一朗, 鈴木健之, 松坂賢, 島野仁, 髙橋智聡. がん抑制遺伝子 Rb と SREBP-1 の発がん制御および脂質代謝における協調的作用. 第 10 回スフィンゴテラピィ研究会 2015 年 6 月 17 日（加賀/ホテルアローレ）
17. 近藤篤志, 河野晋, Mohammed M, 西本裕希, 髙橋智聡. 前立腺上皮細胞における RB による活性酸素種制御機構. 第 3 回がんと代謝研究会 2015 年 7 月 16 日（金沢/石川県立音楽堂）
18. 河野晋, 岡橋信幸, 北嶋俊輔, 鈴木佐和子, 田中知明, 松田史生, 清水浩, 髙橋智聡. Rb 不活性化による代謝リワイヤリング機構の解明. 第 3 回がんと代謝研究会 2015 年 7 月 16 日（金沢/石川県立音楽堂）
19. 村中勇人, 多田秀明, 林昭夫, 南圭一, 丹下正一朗, 北嶋俊輔, 鈴木健之, 松坂賢, 島野仁, 髙橋智聡. がん抑制遺伝子 RB と SREBP1 の発がん制御における協調的作用. 第 3 回がんと代謝研究会 2015 年 7 月 16 日（金沢/石川県立音楽堂）
20. 佐々木信成, 村中勇人, 北嶋俊輔, 河野晋, シャムマ アワド, 髙橋智聡. RB によるメバロン酸経路を介したがん悪性進展制御機構. 第 3 回がんと代謝研究会 2015 年 7 月 16 日（金沢/石川県立音楽堂）
21. 西本裕希, 北嶋俊輔, 吉田晶代, 河野晋, 近藤篤志, 西内巧, 鈴木佐和子, 田中知明, 髙橋智聡. The metabolic bases for inflammatory phenotype associated with RB-deficiency in mammary cells. 第 3 回がんと代謝研究会 2015 年 7 月 16 日（金沢/石川県立音楽堂）
22. 岡橋信幸, 河野晋, 松田史生, 髙橋智聡, 清水浩. *p53* 欠損マウス軟部腫瘍由来細胞株の $^{13}C$ 代謝フラックス解析. 第 3 回がんと代謝研究会 2015 年 7 月 16 日（金沢/石川県立音楽堂）
23. 大田久美子, 布施香子, 上野将也, 河野晋, 髙橋智聡, 平尾敦. フォークヘッド転写因子 FOXO による急性骨髄性白血病代謝調節機構. 第 3 回がんと代謝研究会 2015 年 7 月 16 日（金沢/石川県立音楽堂）

24. 河野晋, 岡橋信幸, 北嶋俊輔, 鈴木佐和子, 田中知明, 松田史生, 清水浩, 髙橋智聡. Rb 不活性化による代謝リワイヤリング機構の解明. 平成 27 年度がん若手研究者ワークショップ. 2015 年 9 月 3 日（蓼科/蓼科グランドホテル滝の湯）
25. 村中勇人, 多田秀明, 林昭夫, 南圭一, 北嶋俊輔, 丹下正一朗, 鈴木健之, 松坂賢, 島野仁, 髙橋智聡. がん抑制遺伝子 RB と SREBP-1 の脂肪酸代謝および発がん制御における協調的作用. 平成 27 年度がん若手研究者ワークショップ. 2015 年 9 月 5 日（蓼科/蓼科グランドホテル滝の湯）
26. 髙橋智聡. The interface between tumor cells with different RB status and self-renewal activity. 1st International Symposium on Cell Competition / Cell Competition in Development and Cancer. 2015 年 9 月 10 日（京都/京都大学 芝欄会館）
27. 河野晋. Control of cellular metabolism by tumor suppressors. 2015 Kanazawa University Cancer Research Institute Fudan University Shanghai Cancer Center Joint Symposium. 2015 年 9 月 11 日（金沢/金沢大学 医学部記念館）
28. Muranaka H, Tada H, Hayashi A, Minami K, Kitajima S, Tange S, Suzuki T, Matsuzaka T, Shimano H, Takahashi C. Cooperative roles of Rb and SREBP-1 in controlling fatty acid metabolism and carcinogenesis. Cancer and Metabolism conference 2015. 2015 年 9 月 29 日（Cambridge/Robinson College）
29. 髙橋智聡. RB1 不活性化シグナチャー解析による新規分子票的探索. 第 1 回ライフサイエンス研究交流セミナー 2015 年 9 月 30 日（金沢/金沢大学医学部記念館）
30. 西本裕希, 北嶋俊輔, 河野晋, 吉田晶代, 鈴木佐和子, 田中知明, 髙橋智聡. In vitro 乳がんモデルにおける Rb,Trp53 の機能とその作用機構の解析. 第 74 回日本癌学会学術総会 2015 年 10 月 9 日（名古屋/名古屋国際会議場）
31. 河野晋, 北嶋俊輔, 鈴木佐和子, 田中知明, 佐々木信成, 村中勇人, 髙橋智聡. RB 不活性化に伴うメタボリックワイヤリング機構の解明. 第 74 回日本癌学会学術総会 2015 年 10 月 10 日（名古屋/名古屋国際会議場）
32. 大田久美子, 布施香子, 上野将也, 河野晋, 髙橋智聡, 平尾敦. 急性骨髄性白血病での FOXO による代謝制御機構. 第 74 回日本癌学会学術総会 2015 年 10 月 10 日（名古屋/名古屋国際会議場）
33. 髙橋智聡. RB がん抑制遺伝子による代謝制御. 第 46 回高松宮妃癌研究基金国際シンポジウム 2015 年 11 月 17 日（東京/パレスホテル東京）
34. 西本裕希, 北嶋俊輔, 河野晋, 髙橋智聡. インビトロがん幹細胞モデルの細胞競合研究への応用. 第 38 回日本分子生物学会年会 第 88 回日本生化学会大会　合同大会（BMB2015） 2015 年 12 月 2 日（神戸/神戸ポートアイランド）
35. 村中勇人, 多田秀明, 林昭夫, 南圭一, 北嶋俊輔, 丹下正一朗, 鈴木健之, 松坂賢, 島野仁, 髙橋智聡. がん抑制遺伝子 RB と SREBP-1 の脂肪酸代謝および発がん制御における協調的作用. 第 38 回日本分子生物学会年会 第 88 回日本生化学会大会　合同大会（BMB2015） 2015 年 12 月 2 日（神戸/神戸ポートアイランド）

36. 佐々木信成, 鈴木美砂, 髙橋智聡. RB 不活性化によるメバロン酸経路の亢進はROSの制御を介してがん悪性化に寄与する. 第38回日本分子生物学会年会 第88回日本生化学会大会　合同大会（BMB2015） 2015年12月3, 4日（神戸/神戸ポートアイランド）
37. 河野晋, 岡橋信幸, 北嶋俊輔, 鈴木佐和子, 田中知明, 松田史生, 清水浩, 髙橋智聡. Rb不活性化による代謝リワイヤリング機構の解明. 第38回日本分子生物学会年会 第 88 回日本生化学会大会　合同大会（BMB2015） 2015年12月4日（神戸/神戸ポートアイランド）
38. Zhao J, Okamoto Y, Yoshioka K, Aki S, Takuwa N, Inagaki Y, Takahashi C and Takuwa Y. スフィンゴシン1-リン酸2型受容体($S1P_2$)の遺伝子欠損は、肺胞マクロファージのM2分化抑制と細胞老化を介して肺線維症を抑制する. 第38 回日本分子生物学会年会 第 88 回日本生化学会大会　合同大会（BMB2015） 2015年12月3, 4日（神戸/神戸ポートアイランド）

＜外部資金＞

高橋智聡

1. 科学研究費補助金　基盤研究（B）H26〜H28年度「RBがん抑制遺伝子の代謝制御機能」　3,700千円
2. 学術研究助成基金助成金　挑戦的萌芽研究H26〜H27年度「炎症性サーキット―がん悪性進展を促す炎症性微小環境のトリガー」　1,500千円
3. 科学研究費補助金　新学術領域研究H27〜H28年度「細胞競合を介したがん幹細胞クローン維持機構」　4,500千円
4. 共同研究（第一三共 / TaNeDS）H26〜H27年度「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」　16,200千円
5. 第27回研究助成（小野医学研究財団）H27年度「RBがん抑制遺伝子の新規機能探索から脂質代謝異常による発がん・悪性進展機序の理解を深める」2,000千円
6. 革新的先端研究開発支援事業（AMED-CREST）H27〜H32年度「脂肪酸の鎖長を基軸とした疾患の制御機構と医療展開に向けた基盤構築」　3,000千円
7. 共同研究（第一三共）H27〜H28 年度「合成致死誘導により特定の腫瘍に薬効を示す代謝関連標的分子の同定」3,085.8千円

シャムマ アワド

1. 学術研究助成基金助成金　基盤研究（C）H27〜H29 年度「Identification of global epigenetic alterations indispensable for malignant transformation and mediated by the RB-ATM pathway」　2,000千円

河野晋

1. 学術研究助成基金助成金　若手研究（B）H27〜H28年度「Pgamによるグルコース代謝リプログラミングを標的としたがん幹細胞克服法の開発」1,900千円

村中勇人

1. 北國がん基金　海外派遣等研修助成部門 H27 年度「がん代謝研究等について」　300 千円

<共同研究>

1. 小野薬品工業株式会社筑波研究所 多田秀明 博士、林昭夫 博士「Rb がん抑制遺伝子による脂質代謝制御機構とその臨床的意義の解明」
2. 第一三共株式会社 堤信二 博士、大阪大学 清水浩 博士、金沢大学 後藤典子 博士「乳がんがん幹細胞の代謝工学的解析と機構探索に基づく創薬基盤の創出」
3. 第一三共株式会社 廣田泰秀 博士「合成致死誘導により特定の腫瘍に薬効を示す代謝関連標的分子の同定」
4. 大阪大学大学院 清水浩 博士「がん幹細胞特異的代謝フラックスの解明」
5. 奈良先端科学技術大学院大学 末次志郎 博士「Rb1 の関与する発ガンにおける p107 と IRSp53 の役割」
6. 東京医科歯科大学 味岡逸樹 博士「Rb ファミリー遺伝子を欠損した神経細胞におけるがん特異的代謝異常経路の解析」
7. 京都大学 三木貴雄 博士「がん抑制遺伝子と概日リズムの関連に関する研究」
8. 千葉大学 田中 知明 博士「p53-Rb ネットワークによるがん幹細胞代謝制御機構の基盤的研究」

# 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，　佐々木宗一郎

研究補助員：南邦子，　東海林芙沙恵

大学院生：　宋瑶（医薬保健学総合研究科・博士課程，2015 年 9 月卒業）

大学院生：　崔平方，Heny Ekowati，田辺和（医薬保健学総合研究科・博士課程）

大学院生：　内藤達志（福井大・医・大学院生，2015 年 9 月学位取得）

大学院生：　野阪拓人（福井大・医・大学院生）

研究生：　Etienne Mercier（フランス Poitiers 大学・大学院生，2015 年 5 月～8 月）

## 【 研 究 概 要 】

① 炎症性サイトカイン・ケモカインの発がん・がんの進展過程での役割の解析に基づく，治療法の開発。

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

＜**2014 年の成果**＞

１）正常骨髄において，好塩基球がケモカイン CCL3 を恒常的に産生していて，CCL3 レセプターである CCR1 あるいは CCR5 を発現している造血細胞に作用して，骨髄移植時における造血細胞の過剰増殖を抑制している可能性を示唆する結果が得られた。さらに，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幹／前駆細胞を投与して生じる慢性骨髄性白血病（CML）モデルの解析から，主に好塩基球様の白血病細胞によって産生される CCL3 が，CML の骨髄に残存している正常造血細胞の増殖を抑制することで，CML 細胞の増殖に有利な環境を形成している可能性を明らかにした。

２）マウス乳がん細胞株 4T1 細胞株から，乳腺脂肪組織に接種することで，骨に自然転移するクローンとして一昨年度樹立した 4T1.3 クローンを用いて，乳がんの骨転移過程を検討した。その結果，4T1.3 クローンが恒常的に産生しているケモカイン CCL4 が，autocrine 的に作用せず，paracrine 的に作用して，骨内での 4T1.3 クローン自体の増殖を促進することを明らかにした。さらに，4T1.3 クローンを骨内に接種しても，親株接種時に比べて，破骨細胞・骨芽細胞の数が増加しないことも明らかにした。

３）昨年度マウス大腸がん細胞株 colon 26 の盲腸への接種モデルに対して，ケモカイン・レセプターCCR5 に対して拮抗作用を示す Maraviroc を投与すると，腫瘍内線維芽細胞数の減少とともに，腫瘍容積の減弱が起きることを認めた。ヒト大腸がん

細胞株を盲腸内に同所接種したヌードマウスに Maraviroc を投与した際にも，同様の効果を認めた。
４）マウス肝臓がん細胞株 BNL の尾静脈接種による実験的肺転移モデルに関して，種々のケモカイン関連遺伝子欠損マウスについて検討を加えたところ，従来から肺転移が軽減することが知られていた CCR2 欠損マウス以外に，CX3CR1 欠損マウスでも肺転移が軽減していることを認めた。
５）単球／マクロファージでは，ケモカイン・レセプターである CCR2 ならびに CX3CR1 が発現することが知られている。マウス乳がん細胞株 4T1 株を乳房脂肪組織に同所接種した時に，従来の報告と同様に CCR2 欠損マウスでは腫瘍形成が抑制されるのに対して，CX3CR1 欠損マウスでは腫瘍形成が亢進することを認めた。

＜今後の研究計画＞
１）我々が確立した CML モデルを用いて，現在汎用されているチロシン・キナーゼ阻害剤とマラビロックを始めとする CCR5 阻害剤の併用療法の最適化を数理モデルを用いながら行う。さらに，他のケモカイン関連遺伝子やマクロファージに発現している種々の分子の，CML の発症過程での役割を，遺伝子欠損マウスを用いて解析する。
２）乳がん骨転移過程における CCL4 の標的細胞を同定して，乳がん骨転移に対する CCL4 を標的とした治療法の細胞基盤を明確にする。さらに，4T1.3 クローンを骨内に接種した時の遺伝子発現パターンを，医学系の橋本真一教授ならびに国立遺伝学研究所のグループと共同で解析しているので，この解析結果を踏まえて，骨転移過程に関与している分子を同定する。
３）Maraviroc の大腸がんに対する効果を検証するとともに，その作用機構を解明する。
４）マウス肝臓がん細胞株 BNL 株の肺転移過程でのケモカインの病態生理学的役割を解明する。
５）乳がん細胞の乳腺脂肪組織内での増殖過程での，CCR2 発現細胞ならびに CX3CR1 発現細胞などの役割を解明する。

## 【 研 究 業 績 】（所属研究者は下線で示した）

＜発表論文＞
原著論文
分野主体の研究論文

1. Song Y, Baba T, Li Y-Y, Furukawa K, Tanabe Y, Matsugo S, Sasaki S, and Mukaida N. Gemcitabine-induced CXCL8 expression counteracts its action by inducing tumor neovascularization. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 458(2): 341-346. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.01.112.

2. Naito T, Baba T, Takeda K, Sasaki S, Nakamoto Y, and Mukaida N. High-dose cyclophosphamide induces specific tumor immunity with concomitant recruitment of LAMP1/CD107a-expressing CD4-posisitve T cells into tumor sites. *Cancer Lett* 2015; 366 (1): 93-99. doi: 10.1016/j.canlet.2015.06.009. PMID: 26116901.

他の研究室との共同研究

3. Mazzocca A, Dituri F, De Santis F, Filannino A, Lopane C, Betz RC, Li Y-Y, Mukaida N, Winter P, Tortorella C, Giannelli G, and Sabbà C. Lysophosphatidic acid receptor LPAR6 supports the tumorigenicity of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2015; 75 (3): 532-543. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-1607.
4. Hata R, Izukuri1 K, Kato Y, Sasaki S, Mukaida N, Maehata Y, Miyamoto C, AkasakaT, Yang X, Nagashima Y, Takeda K, Kiyono T, and Taniguchi M. Suppressed rate of carcinogenesis and decreases in tumour volume and lung metastasis in CXCL14/BRAK transgenic mice. *Sci Rep* 2015; 5: 9083. doi: 10.1038/srep09083.
5. Liang C, Yu X-J, Guo X-Z, Sun M-H, Wang Z, Song Y, Ni Q-X, Li H-Y, Mukaida N, and Li Y-Y. MicroRNA-33a-mediated downregulation of Pim-3 kinase expression renders human pancreatic cancer cells sensitivity to gemcitabine. *Oncotarget* 2015; 6 (16): 14440-1454. PMID: 25971209.
6. Nakano H, Hasegawa T, Saito N, Furukawa K, Mukaida N, Kojima H, Okabe T, and Nagano T. Design and synthesis of an in vivo-efficacious PIM3 kinase inhibitor as a candidate anti-pancreatic cancer agent. *Bioorg Med Chem Lett* 2015; 25: 5687-5693. doi: 10.1016/j.bcl.2015.10.098.

＜学会発表＞（筆頭発表者が分野所属の者に限る）

1. Sasaki S, Baba T, and Mukaida N. CCL4 and CCR5 interaction have pivotal roles on survival of a murine breast cancer cell line in bone marrow. Gordon Research Conference on Stem Cells & Cancer. Feb. 15 to 20, 2015. Ventura, CA, USA.
2. Mukaida N, Sasaki S, and Baba T. Crucial involvement of CCL4 and CCR5 interaction in bone metastasis process of a murine breast cancer cell line. Cell Symposia; Cancer, Inflammation, and Immunity. June 14 to16, 2015. Stiges, Spain.
3. Baba T and Mukaida N. Role of inflammatory chemokine, CCL3, in the dominant proliferation of leukemia initiating cells in CML BM. 12$^{th}$ World Congress on Inflammation. Aug. 8 to 12, 2015. Boston, USA.
4. Sasaki S, Baba T, and Mukaida N. CCL4-CCR5 interactions have pivotal roles in survival of a murine breast cancer cell line in osseous environment. 12$^{th}$ World Congress on Inflammation. Aug. 8 to 12, 2015. Boston, USA.
5. Mukaida N, Sasaki S, and Baba T. CCL4 can promote bone metastasis of a murine breast cancer cell line, by interacting CCR5-expressing non-tumor cells in bone marrow. 3$^{rd}$

Annual Meeting of the International Cytokine & Interferon Soceity. Oct 11 to 14, 2015. Bamberg, Germany.

6. 田辺和，向田直史。　腫瘍関連線維芽細胞を標的とする抗がん治療法の可能性の検討。（口頭発表）　第 19 回日本がん分子標的治療学会・学術集会。　2015 年 6 月 10 日～12 日。松山。
7. 佐々木宗一郎，向田直史。　マウス乳がん細胞の骨転移過程における，腫瘍産生性 CCL3，CCL4 の重要性。　第 24 回日本がん転移学会学術集会・総会。　2015 年 7 月 23 日・24 日。大阪。
8. 佐々木宗一郎，馬場智久，向田直史。炎症性ケモカイン CCL4 は傍分泌型にマウス乳がん細胞株の骨転移を促進する。（口頭発表）　第 74 回日本癌学会学術集会。2015 年 10 月 8 日～10 日。名古屋。
9. 馬場智久，向田直史。　CML 骨髄内における白血病細胞の優位性増殖にかかわる炎症性ケモカイン CCL3 の役割。（英語セッションでの口頭発表）第 74 回日本癌学会学術集会。　2015 年 10 月 8 日～10 日。名古屋。
10. 田辺和，佐々木宗一郎，馬場智久，向田直史。　ケモカイン受容体 CCR5 阻害剤によるがん関連線維芽細胞を標的とした治療法の開発。　第 74 回日本癌学会学術集会。　2015 年 10 月 8 日～10 日。名古屋。
11. Sasaki S, Baba T, and Mukaida N. Tumor-derived CCL4 enhanced migration ability of mammary tumor cell lines to bone marrow in a paracrine manner. 第 44 回日本免疫学会総会・学術集会。　2015 年 11 月 18 日～20 日。　札幌。
12. Baba T and Mukaida N. Crucial involvement of MIP-1α/CCL3 in the crosstalk between normal and leukemic hematopoiesis in chronic myeloid leukemia. 第 44 回日本免疫学会総会・学術集会。　2015 年 11 月 18 日～20 日。　札幌。
13. 向田直史。ケモカインによる骨髄内がん病変成立過程の制御。（招待講演）第 36 回富山大学和漢医薬学総合研究所特別セミナー。2015 年 11 月 26 日。富山。

＜知的財産＞

無

＜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 2,500 千円，間接経費 750 千円）

2．二国間交流事業・オープンパートナーシップ共同研究（代表）
腸内細菌叢とケモカインとのクロストークによるがん病態制御機構の解明
（直接経費 2,250 千円）
3．次世代がん研究シーズ戦略的育成プログラム（代表）
骨髄微小環境内での，ケモカインを介する細胞競合を標的とした治療法の開発
（直接経費 16,670 千円，間接経費 1,667 千円）

馬場智久
１．科学研究費・基盤研究（C）（代表）
慢性骨髄性白血病発症における正常骨髄細胞との相互作用機構の解明
（直接経費 1,300 千円，間接経費 390 千円）
２．武田科学研究振興財団（医学系研究奨励）
幹細胞抑制因子 CCL3 を分子標的した慢性骨髄性白血病の新規治療法の確立
（2,000 千円）

佐々木宗一郎
1．科学研究費・若手研究（B）（代表）
CCL3-CCR5 を介したがん微小環境制御による，がん悪性化進展治療へ向けた研究
（直接経費 1,600 千円，間接経費 480 千円）

＜共同研究＞
学内
１．医薬保健研究域・医学系　飯田宗穂助教
　発がん過程と腸内細菌叢の相互作用の解析
２．医薬保健研究域・医学系　橋本真一教授
　骨転移能の高い乳がん細胞株の遺伝子発現の包括的検索
３．医薬保健研究域・医学系　太田嗣人准教授
　メタボリック症候群でのケモカインの病態生理学的役割の解析
４．理工研究域・数物系　中村健一准教授
　新たな抗がん治療法の，数理モデルを用いた基礎的検討

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．北陸大学・薬学部　村山次哉教授
　サイトメガロウイルス感染とケモカイン

４．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．福井大学・医学部　中本安成教授
　　ケモカインを標的としたがん免疫療法の開発
６．順天堂大学・医学部　小松則夫教授
　　骨髄増殖性疾患とケモカイン
７．富山大学・和漢医薬学総合研究所　早川芳弘准教授
　　がんの浸潤・転移過程におけるケモカイン
8．国立遺伝学研究所　池尾一穂准教授
　骨転移能の高い乳がん細胞株の遺伝子発現の包括的検索
9．米国国立がん研究所 Giorgio Trinchieri 博士
　　発がん過程と腸内細菌叢の相互作用の解析
10．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＞
向田直史
Associate Editor, Cytokine (Official Journal of International Cytokine Society)
2012 年 4 月～

# 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
研究協力員　Moustafa Sakr

## 【 研 究 概 要 】

膜型マトリックスメタロプロテアーゼ-1（MT1-MMP）は，我々が同定した最初の膜型 MMP であり，がん細胞・組織に特異的に発現し，浸潤・転移に重要な役割を果たしている。MT1-MMP は MMP-2 の活性化酵素として同定されたが，その後コラーゲンなどの細胞外マトリックス(extracellular matrix, ECM) 成分の分解によるがん微小環境の構築・再構築，膜タンパクのシェディングなどにより浸潤・転移・運動・増殖などのがん悪性化形質に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。したがって，その発現制御機構の解析はがん悪性化機構を理解する上で重要であり，Tip60 及びマイクロ RNA による転写制御機構を検討した。

古くから IV 型コラゲナーゼである MMP-2 と MMP-9 が浸潤・転移に重要であると信じられてきた。MMP-2 の関わりについては，その活性化酵素として MT1-MMP が同定されたことで科学的根拠が与えられた。一方，MMP-9 については未だにメッセージあるいはタンパクレベルの上昇を悪性化の根拠とする論文も多く，その生理的な活性化機構については不明のままである。細胞レベルで MMP-9 活性化システムを構築し，活性化型 MMP-9 の浸潤・転移への関与を検討する。

### ＜2015 年の研究成果，進捗状況と今後の計画＞

Tip60 による MT1-MMP の転写制御機構の解析：

ヒストンアセチルトランスフェラーゼ Tat-interacting protein 60 kDa (Tip60)は DNA 損傷のみならず転写，細胞運動，アポトーシスなどを制御する。今回，グリオーマ組織において Tip60 の発現は MT1-MMP 発現，がん悪性度と逆相関することを見出した。グリオーマ細胞株の Tip60 をノックダウンすると MT1-MMP の転写，細胞接着・伸展が亢進し結果として浸潤能が増強した。Tip60 による MT1-MMP の転写制御には NF κ

B の関与が示された。

miR-133a および miR-150-5p による MT1-MMPmRNA の制御：

miR-133a，miR-150-5p などのマイクロ RNA はしばしばオンコジーン，がん抑制因子的に働くことが報告されている。グリオーマ組織での miR-133a，miR-150-5p および MT1-MMP mRNA の発現を検討した。miR-133a，miR-150-5p は共にグリオーマ組織での発現が低く MT1-MMP mRNA 発現とは逆相関した。miR-133a，miR-150-5p は共に MT1-MMP mRNA の 3'-UTR と相補性があり，miR-133a，miR-150-5p mimics は MT1-MMP mRNA の発現を低下させたが, 3'-UTR に変異を導入した MT1-MMP mRNA には影響しなかった。MT1-MMP を発現するグリオーマ細胞株 U87，U251 細胞に miR-133a，miR-150-5p mimics を導入すると MT1-MMP 発現が低下し，増殖，運動・浸潤が抑制されたことから miR-133a，miR-150-5p は MT1-MMP mRNA を制御することによりがんの悪性化を抑制していることが示唆された。

細胞レベルでの MMP-9 活性化システムの構築：

これまでに MT1-MMP の MMP-2 活性化メカニズムとして，MT1-MMP の阻害因子である TIMP-2 が MT1-MMP と複合体を形成し，その複合体が潜在型 MMP-2 のレセプターとして機能することにより MT1-MMP による活性化が進行することを報告した（JBC, 1998）。次に，この活性化モデルを基に TIMP-2 のキメラタンパクを人工的な潜在型 MMP-2 レセプターとして構築することにより, MT1-MMP による MMP-2 の活性化が浸潤・転移に大きく貢献することを証明した (Cancer Res., 2008)。MMP-9 は試験管内では比較的高濃度のセリンプロテアーゼにより活性化されるが，培養細胞レベルで MMP-9 を効率よく活性化することはできなかった。今回，人工的な MMP-9 レセプターを構築し，培養細胞により MMP-9 を活性化することが可能となった。このシステムを用いて活性化型 MMP-9 の浸潤・転移における役割を検討する。

## 【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

原著論文

（研究室主体）

Takino T, Nakada M, Li Z, Yoshimoto T, Domoto T, Sato H

Tip60 regulates MT1-MMP transcription and invasion of glioblastoma cells through NF-κB pathway.　Clinical & Experimental Metastasis, in press. (DOI: 10.1007/s10585-015-9756-8)

（共同研究）

Oshima H, Nakayama M, Han TS, Naoi K, Ju X, Maeda Y, Robine S, Tsuchiya K, Sato T, Sato H, Taketo MM, Oshima M. Suppressing TGFβ signaling in regenerating epithelia in an inflammatory microenvironment is sufficient to cause invasive intestinal cancer. Cancer Res. 75, 766-776., 2015.

Chikano Y, Domoto T, Furuta T, Sabit H, Kitano-Tamura A, Ilya V. Pyko1,4, Takino T, Sai Y, Hayashi Y, Sato H, Miyamoto K, Nakada M, MinamotoT. Glycogen synthase kinase 3β sustains invasion of glioblastoma via the focal adhesion kinase, Rac1 and c-Jun N-terminal kinase-mediated pathway. Molecular Cancer Therapeutics. 14, 564-574, 2015.

＜総説＞
佐藤　博
「教えてエコ実験 RETURNS:　スケールダウンでコストダウン＆効率アップ」
実験医学　Vol.33，2652－2656，2015.

＜学会発表＞
平成 27 年
吉本泰祐，滝野隆久，堂本貴寛，川尻秀一，佐藤博
「Vinculin は MEK/ERK 経路を介した MT1-MMP の転写を不に制御する」
日本がん転移学会学術集会（平成 27 年 7 月 23 日　大阪）

堂本貴寛，滝野隆久，佐藤博，源利成
「GSK3b は FAK-Rac1-JNK 経路を介して膠芽腫細胞の浸潤を推進する」
日本がん転移学会学術集会（平成 27 年 7 月 23 日　大阪）

大島浩子，中山瑞穂，佐藤博，武藤誠，大島正伸
「炎症反応と TGFb シグナル抑制による大腸がん浸潤誘導」
第 74 回日本癌学会学術総会（平成 27 年 27 月 8 日　名古屋）

堂本貴寛，古田拓也，滝野隆久，佐藤博，中田光俊，源利成
「GSK3b は FAK/JNK 経路を介する MMPs の発現亢進によって膠芽腫細胞の浸潤を推進する」
第 74 回日本癌学会学術総会（平成 27 年 10 月 9 日　名古屋）

吉本泰祐，滝野隆久，堂本貴寛，川尻秀一，佐藤博
「Vinculin は MEK/ERK 経路を介した MT1-MMP の転写を不に制御する」
第 74 回日本癌学会学術総会（平成 27 年 10 月 9 日　名古屋）

滝野隆久，中田光俊，堂本貴寛，佐藤博
「Tip60 は NF-kB 経路を介して膠芽腫の MT1-MMP 発現と浸潤を制御する」
第 74 回日本癌学会学術総会（平成 27 年 10 月 9 日　名古屋）

＜外部資金＞

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

＜共同研究＞

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

# 免疫炎症制御研究分野

＜研究スタッフ＞

教　授　　須田　貴司
助　教　　木下　健　　助　教　　土屋　晃介
博士研究員　張　培培　　博士研究員　中嶋　伸介
大学院生（博士課程）　串山　裕子
大学院生（修士課程）　趙　天祥
技術補佐員　櫻井　真由美
技術補佐員　金戸　あつの（～2015 年 11 月）

## 【 研 究 概 要 】

これまで，細胞死はプログラム細胞死＝アポトーシスと非プログラム細胞死＝ネクローシスという二元論で説明されてきた。しかし，近年，ネクローシス様のプログラム細胞死など，様々な細胞死の様式が存在すること，死細胞からは炎症，組織再生，免疫など様々な生体応答を制御する因子が放出されることが明らかになってきた。細胞死の様式の違いは，死細胞から放出される生体制御因子の違いに反映され，その後の組織修復や免疫応答に影響すると予想される。がん組織においては，低酸素，低栄養，免疫応答，がん治療など様々な原因で細胞死が起きる。我々は，がん組織においても細胞死の様式の違いがその後のがんの消長や悪性化に影響すると考え，がん治療に最も有効な細胞死の様式とは何かを明らかにしたいと考えている。また，昨年に引き続き，ネクローシス様プログラム細胞死の一つであるパイロトーシスの分子機構の研究，ビタミン B6 の抗炎症作用の分子機構の研究などを行った。

### ＜2015 年の研究成果，進捗状況及び今後の計画＞

**1) がん微小環境におけるがん細胞死の役割の研究：**

アポトーシスはカスパーゼ 8 や 10 が引金を引く外因性経路とカスパーゼ 9 が引金を引く内因性経路に分類しうる。アポトーシスは一般に炎症を誘導しないと言われていたが，我々は外因性経路では種々の炎症性サイトカインの産生が誘導され，動物レベルでも炎症が惹起されることを示してきた。また，最近，カスパーゼ 1 はネクローシスに似た炎症誘導性プログラム細胞死＝パイロトーシスを誘導することが判明した。このようにカスパーゼはその種類によって性質の異なる細胞死を誘導する。そこで，我々は腫瘍細胞株 EG7 に誘導性に活性化

しうるカスパーゼ 1，8，または 9 を発現する細胞株を樹立した。その結果，予想通りカスパーゼ 1 を活性化するとパイロトーシス様の細胞死が，カスパーゼ 8 や 9 を活性化するとアポトーシス様の細胞死が誘導される事が確認された。現在，これらの腫瘍細胞株をマウスに移植し，生体内で異なるカスパーゼの活性化による腫瘍細胞死を誘導した場合に，その後の腫瘍の増殖，浸潤，転移，腫瘍免疫などにどのように影響するか検討している。

**2) パイロトーシスの分子機構の研究：**

我々は誘導性にパイロトーシスを起す NOMO-1 ヒト単球様白血病細胞株を樹立した。この細胞株に shRNA ライブラリーを導入後，パイロトーシス誘導刺激に抵抗性を示す細胞に濃縮される shRNA を同定する事で，パイロトーシスシグナル伝達因子（PYST）の遺伝子を網羅的に同定する事を試み，複数の候補遺伝子を得た。これらの内，PYST1 については shRNA ライブラリー内に存在する 7 つの独立した shRNA の内 5 つが有意に濃縮されていた。また，PYST1 の既知の阻害剤によりパイロトーシスが部分的に抑制された。さらに，PYST はカスパーゼ 1 と相互作用することが報告されており，HEK293 細胞を用いた過剰発現系ではあるが，我々の手でも結合を確認できた。しかし，PYST1 は発現を長時間抑制すると細胞の増殖が阻害されるため，PYST1 欠損細胞を樹立する事ができていない。現在，PYST1 とカスパーゼ 1 の相互作用領域を決定し，カスパーゼ 1 に結合できない PYST1 の変異体を作成することで PYST1 のパイロトーシスにおける機能を明らかにすることを目指して研究を進めている。

**3) ビタミン B6 の IL-1β 産生抑制作用の研究：**

ビタミン B6 はトランスアミナーゼなどの補酵素として働く水溶性ビタミンである。近年，炎症により血中の B6 が減少すること，B6 欠乏と大腸炎，リューマチ関節炎，心血管疾患との関連などが報告されている。また，最近，広島大学の加藤範久教授のグループが炎症誘導性大腸がんの動物モデルでビタミン B6 が発がん抑制効果を示すことを報告した。そこで我々は，加藤教授らと共同で，ビタミン B6 の炎症抑制作用の研究を行った。その結果，ビタミン B6 の内，ピリドキサールとピリドキサールリン酸がトル様受容体を介した NF-κB の活性化を抑制するとともに，NLRP3 インフラマソームの活性化を妨げ，マクロファージによる IL-1β などの炎症性サイトカインの産生を強く抑制することを見出した。また，マウスに致死量のリポポリサッカライドとともにピリドキサールやピリドキサールリン酸を投与すると，致死率が低下することを見出した。

## 【 研 究 業 績 】

＜論文発表＞

なし

＜学会発表＞

1. Peipei Zhang, Takeshi Kinoshita, Hiroko Kushiyama, Sofya Suidasari, Norihisa Kato, Takashi Suda: Vitamin B6 prevents IL1β production through inhibition of NLRP3 inflammasome activation. 12th Asian Congress of Nutrition, Yokohama, May 16, 2015
2. Peipei Zhang, Takeshi Kinoshita, Hiroko Kushiyama, Sofya Suidasari, Norihisa Kato, Takashi Suda: Vitamin B6 prevents IL1β production through inhibition of NLRP3 inflammasome activation. 1st Nature Immunology – Cellular & Molecular Immunology Joint Conference: Inflammation, Stress and Immune Homeostasis. Heifei, China, June 17-19, 2015
3. 趙天祥，中嶋伸介，土屋晃介，須田貴司：異なるイニシエーターカスパーゼにより誘導される腫瘍細胞死の特性の研究. 第 24 回日本 Cell Death 学会学術集会（大阪）2015 年 7 月 11 日
4. Peipei Zhang, Takeshi Kinoshita, Hiroko Kushiyama, Sofya Suidasari, Norihisa Kato, Takashi Suda: Novel anti-inflammatory function of vitamin B6 by inhibition of the NLRP3 pathway. Japan Australia Meeting on Cell Death. Melbourne, Australia, October 23, 2015
5. Shinsuke Nakajima, Kohsuke Tsuchiya, Takashi Suda: Analysis of the characteristics of the tumor cell death induced by different initiator caspases. 第 74 回日本癌学会学術総会（名古屋）2015 年 10 月 8 日
6. Miya Yoshino, Akihiko Murata, Mari Hikosaka, Takashi Suda, Shin-Ichi Hayashi: Analysis of the transport of skin self-antigens in Pynod-Ccr7-double knockout mice. 第 24 回日本免疫学会総会・学術集会（札幌）2015 年 11 月 20 日

＜外部資金＞

1. 須田貴司，科学研究費補助金　新学術領域研究「細胞死を起点とする生体制御ネットワークの解明」（代表）：パイロトーシスの分子機構と役割.　直接経費 17,100 千円
2. 須田貴司，科学研究費補助金　挑戦的萌芽研究「ビタミン B6 の新しい抗炎症作用の解明とその応用に向けた基礎研究」直接経費 2,800 千円

3. 土屋晃介，科学研究費補助金　基盤研究(C)「インフラマソーム構成タンパクを介した新たな感染防御機構の発見およびその機序の解明」直接経費 1,300 千円

＜共同研究＞

1. 九州大学生体防御医学研究所　山崎 晶 教授「死細胞が誘導する免疫賦活反応の分子機構の解明」
2. 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」
3. 鳥取大学医学部　林 眞一 教授，吉野 三也 准教授「PYNOD 遺伝子が獲得免疫反応に及ぼす影響の検討」
4. 理化学研究所　統合生命医科学研究センター　玉利 真由美 チームリーダー，広田 朝光 研究員「アレルギー疾患関連因子の研究」
5. 理化学研究所 袖岡有機合成化学研究室　袖岡幹子 主任研究員，闡闡 孝介 専任研究員「細胞死制御化合物に関する研究」
6. 山形大学農学部　及川 彰 准教授 「死細胞放出因子のメタボローム解析」
7. 九州大学大学院　薬学研究院　仲矢 道雄 准教授「PYNOD の役割に関する研究」
8. 東京大学大学院新領域創成科学研究科　鈴木　穣　教授「shRNA ライブラリーを用いたパイロトーシス関連遺伝子の網羅的同定」
9. 京都府立医科大学大学院医学研究科 鈴木孝禎 教授「HDAC 阻害剤の IL-1β 産生誘導機構の解析」

# 腫瘍動態制御研究分野

＜研究スタッフ＞

| | | | |
|---|---|---|---|
| 教　授 | 松本　邦夫 | | |
| 助　教 | 酒井　克也 | 助教 | 今村　龍 |
| 研究員 | 足立　恵理 | 研究協力員 | 桐山　恵介 |
| 大学院生 | Miao Wenyu | 大学院生 | Jangphattananont Nawaphat |
| 大学院生 | 広川卓也 | 大学院生 | 冨増　和暉 |
| 技術補佐員 | 丹保　智佳子 | 技能補佐員 | 端谷　泉 |

## 【 研 究 概 要 】

HGF は MET チロシンキナーゼを受容体とし，上皮細胞・組織の３次元（3-D）形態形成や生存，肝臓や神経系を含む組織の再生・保護を担う。一方，HGF はがん細胞の 3-D 浸潤やがん細胞の生存を促す生物活性が強く，がん転移，分子標的薬に対するがん細胞の生存・耐性獲得に関与する。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，がん悪性進展（浸潤・転移・薬剤耐性）における HGF−MET 系の機能，構造生物学を基盤とする HGF−MET 阻害剤ならびに人工 HGF の創薬研究などを進めるとともに，HGF による疾患治療への応用にも力を注いでいる。2015 年，HGF と同等の生物活性をもつ環状ペプチド性 MET アゴニスト（人工 HGF）の創製に成功するとともに，環状ペプチド技術を HGF 阻害分子創製と HGF−MET 相互作用の構造解明につなげる研究に展開している。

**＜2015 年の研究成果，進行状況＞**

1. 人工 HGF の創製

サイトカイン・細胞増殖因子に代表される生理活性タンパク質は，低分子化合物薬では置き換えられない際立った生理作用や薬効をもつことから，難治性疾患に対する組換えタンパク質バイオ医薬として応用されている。しかしながら，合成化合物に比べ製造コストが高い，生体内安定性が低いなどが難点である。分子サイズの小さなものに置き換える試みが長年にわたりされているがその手法は確立されていない。菅裕明教授（東京大学）と共同で，化学合成可能な人工 HGF の創製に成功した。RaPID 技術により MET 受容体に高親和性結合する環状ペプチドが取得され，続いて環状ペプチドに架橋連結によるダイマー化を施すことによって，MET 受容体に対するアゴニスト活性をもつ人工 HGF を取得した。人工 HGF は，増殖促進，遊走促進，管腔形成誘導など，MET 受容体を介した特徴的な生物活性を示すとともに，HGF と同等の活性を示した。本技術は人工サイトカイン/増殖因子を創製する普遍的な技術となると考えられる。HGF タンパク質に置き換わるペプチド性人工 HGF は，再生医療用医薬としての大きな可能性をもっている。

2. 構造生物学を基盤とする低分子 HGF−MET 系阻害剤創製研究

HGF と MET 受容体相互作用を阻害する低分子創薬研究を進めている。HGF−MET

系を標的分子として，RaPID 法によって HGF による MET 活性化を阻害する環状ペプチドを見出した。HGF 阻害ペプチドは HGF に高親和性に結合，分子内ドメインを用いた解析から，HGF 阻害ペプチドは HGF 分子内にある２カ所の MET 結合領域に結合しない一方, アロステリック形式に MET 受容体結合を阻害することがわかった。HGF 阻害ペプチドの HGF への結合構造に関する結晶構造解析を進めている。

3. 新たな MET 相互作用分子を介した生理機能の研究
最近，LECT2 が MET 受容体と相互作用し，MET 受容体を介したシグナルを阻害すること，MET 受容体の活性化はインスリン受容体を介したシグナル伝達を安定・増強することが報告された。一方，LECT2 はヘパトカインとして糖尿病患者におけるインスリン抵抗性に関与することも報告され，MET 受容体は，今まで知られていなかった MET 受容体相互作用分子を介して新たな生理活性をもつことが推定された。組換え LECT2 を調製し, HGF による MET 受容体活性化に対する影響を調べた結果, いずれの条件においても MET 阻害活性は認められなかったが，MET 活性化は弱いながら促進された。LECT2 は報告とは異なる未知のメカニズムで MET 制御や生理活性を示すことが示唆された。
4. 悪性黒色腫における MET 受容体発現の階層性と腫瘍形質制御の研究
悪性黒色腫は高転移性と抗がん剤耐性を特徴としている。高転移性マウスメラノーマ細胞を用いて，転移・薬剤耐性における MET 受容体の意義を調べた。細胞表面 MET 発現から B16F10 細胞には MET-low/MET-high 両ポピュレーションが混在し，MET-low は幹細胞性の遺伝子発現，抗がん剤耐性，マウス移植モデルでの活発な腫瘍成長能を示した。一方，MET-high はメラニン産生に関わる遺伝子発現，肺への高い転移能を特徴とし，MET の選択的発現抑制により肺転移が阻害された。両ポピュレーションの動態を調べた結果，MET-low 細胞からは MET-low と MET-high 細胞が生じるのに対して, MET-high からは MET-high 細胞のみが生じるとともに, MET-low から MET-high に転換により，腫瘍特性（腫瘍成長や転移）も変化した。以上より，MET-low→MET-high の動的な発現転換によってメラノーマ細胞集団内に MET 発現の多様性が生じるとともに，MET 発現の相違が，抗がん剤に対する耐性，腫瘍成長能，転移性において多様な細胞集団を生み出す要因の１つと考えられた。

＜今後の計画＞

1. 人工 HGF の創製: 人工 HGF が再生・治癒促進の薬効をもつか, 難治性疾患の１つ, 肺線維症モデルを用いて治癒・線維化改善を検証する。
2. 構造生物学を基盤とする低分子 HGF−MET 系阻害剤創製研究: HGF 全体，HGF 全体と MET 受容体相互作用の構造，いずれも未解明であり，これらの結晶構造解析を進め，HGF−MET 制御の構造基盤を明らかにする。また，HGF 阻害ペプチドのドッキング構造を明らかにし，HGF 阻害化合物の分子設計に活かす。
3. 新たな MET 相互作用分子を介した生理機能の研究: LECT2 による MET/インスリン受容体制御の解析，未知の MET 相互作用分子の探索，その相互作用を介した新たな生理機能の解析を進める。
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: 論文投稿を終了しており，追加データをまとめて再投稿の予定。

## 【 研 究 業 績 】

### ＜論文発表＞

原著

（研究室主体）

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

（共同研究）

1. Tada Y, Hiroshima K, Shimada H, Morishita N, Shirakawa T, Matsumoto K, Shingyoji M, Sekine I, Tatsumi K, Tagawa M. A clinical protocol to inhibit the HGF/c-Met pathway for malignant mesothelioma with an intrapleural injection of adenoviruses expressing the NK4 gene. ***SpringerPlus***, 4: 358.

2. Isozaki H, Ichihara E, Takigawa N, Ohashi K, Ochi N, Yasugi M, Ninomiya T, Yamane H, Hotta K, Sakai K, Matsumoto K, Hosokawa S, Bessho A, Sendo T, Tanimoto M, Kiura K. Non-small cell lung cancer cells acquire resistance to the ALK inhibitor alectinib by activating alternative receptor tyrosine kinases. ***Cancer Res***, in press.

総説

1. Sakai K, Aoki S, Matsumoto K. Hepatocyte growth factor and Met in drug discovery. ***J Biochem***, 157: 271-284, 2015.

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

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

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

### ＜学会発表＞

1. 松本邦夫, 酒井克也, 伊藤健一郎, 菅裕明: 特殊環状ペプチドによる人工 HGF の創製. 第 22 回肝細胞研究会, 2015 年 6 月 5 日（鳥取県米子市）

2. 松本邦夫, 酒井克也, 伊藤健一郎, 菅裕明: 特殊環状ペプチドによる Met/HGF 受容体アゴニストの創製. 第 80 回インターフェロン・サイトカイン学会, 2015 年 7 月 18 日（東京都目黒区大岡山）

3. 酒井克也, 伊藤健一郎, 菅裕明, 松本邦夫: 環状ペプチドによる人工 Met 受容体アゴニストの創製. 第 74 回日本癌学会学術総会, 2015 年 10 月 9 日（名古屋市）

4. 足立恵理, 酒井克也, 松本邦夫: 悪性黒色腫における Met 受容体の階層的発現に連動する腫瘍特性（薬剤耐性・転移性）制御. 第 74 回日本癌学会学術総会, 2015 年 10 月 10 日（名古屋市）

5. 海津正賢, 酒井克也, 小笠原諭, 加藤幸成, 松本邦夫, 高木淳一: HGF 蛋白質のエンジニアリングによる c-Met シグナリング機構の解明. 日本分子生物学会（神戸）

＜外部資金＞

1. 松本邦夫： 科学研究費補助金　挑戦的萌芽研究 「ヘテロ受容体カップリングのシグナル特性と人工リガンド創成の研究」　1,950 千円
2. 松本邦夫： 次世代がん研究シーズ戦略的育成プログラム「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」　5,140 千円
3. 松本邦夫： 産学連携共同研究 「核酸関連成分による遺伝子変異ならびに腫瘍の増殖に対する作用に関する研究」　5,000 千円
4. 酒井克也: 武田科学振興財団研究助成 「ペプチド性人工 HGF による再生医薬の開発」　2,000 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. 東京大学大学院理学系研究科 菅裕明教授: HGF-MET 系を制御する特殊環状ペプチドの創製と作用機作の研究
3. 神戸大学大学院医学系研究科 西田満准教授・南康博教授: 肺がん EGFR 阻害剤に対する耐性獲得における Ror-MET 系の意義とメカニズムの研究
4. 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 木浦勝行教授: HGF−MET 系活性化を介した肺がん分子標的薬薬剤耐性獲得の研究
5. 九州工業大学情報工学研究院 青木俊介准教授: HGF−MET タンパク質間相互作用を制御するための計算科学的な創薬基盤の確立
6. 千葉県がんセンター細胞治療開発研究部 田川雅敏教授: NK4 遺伝子治療による悪性中皮腫治療の研究
7. 熊本大学大学院生命科学研究部 若山友彦教授: 精巣機能における HGF−MET 系の役割についての研究

他

# がん分子標的探索プログラム

# 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（～H27.9.30）
博士研究員　中里　亮太
大学院生（博士課程）　石川　桃絵　　大学院生（博士課程）　李　蓉
大学院生（博士課程）　I Ketut Gunarta　　大学院生（博士課程）　Dewi Yuliana
大学院生（博士課程）　Jambaldoj Boldbaatar（H27.10～）
大学院生（修士課程）　関　斉　　大学院生（修士課程）　高橋　佑斗
大学院生（修士課程）　Purvee Erdenebaatar　　大学院生（修士課程）　鈴木　隆介
大学院生（修士課程）　孫　夢嬌
技術補佐員　猪谷　久世

## 【 研 究 概 要 】

MAP キナーゼ（MAPK）経路の足場タンパク質は，細胞内シグナル伝達の特異性規定因子として機能することが知られている。我々のグループは哺乳類 JNK MAPK 経路の新規足場タンパク質（JSAP1 と命名）を同定し，そのことが契機となって足場タンパク質研究を始めた。一方，JSAP1（別名 JIP3）及び JSAP2（別名 JLP, SPAG9）は kinesin-1（重鎖２本と軽鎖２本からなる二量体）結合タンパク質として再発見され，JSAP はアダプター分子（kinesin-1 モーターと積み荷の連結）や kinesin-1 モーターの制御因子としても機能することが分かった。また近年，JSAP2 は前立腺癌，乳癌，大腸癌など，様々ながんにおいて発現亢進が認められ，新規腫瘍マーカーとして注目されている。さらに，肝細胞癌や非小細胞肺癌では，JSAP2 発現亢進と予後不良との関連も報告されている。このような研究背景のもと，当研究室では，JSAP による細胞内輸送制御とその破綻という観点から研究を進めており，最終的にはがんの発生・進展における JSAP の役割とその分子機構の解明を目指している。また最近，ヘッジホッグ経路とがん転移に焦点を当てた研究に着手した。

### ＜2015 年の研究成果，進捗状況＞

１．JSAP による細胞内輸送制御とその分子メカニズム

Cre-loxP システムにより JSAP1,2 二重欠損が可能な海馬由来の初代培養系を構築し，分子細胞生物学的手法・免疫染色法などを用いて詳細に解析した。また，野生型および変異型（kinesin-1 重鎖あるいは軽鎖との結合能を欠く）JSAP によるレスキュー実験を行った。その結果，JSAP タンパク質は kinesin-1 依存的な物質輸送の制御因子で

あり，その破綻は神経細胞死を引き起こすことを見出した（*Cell Death Differ*, 2015）。

２．細胞内輸送制御の破綻がもたらす細胞死の分子メカニズム

細胞内輸送障害が，どのようにして細胞死を誘導するのか，その分子メカニズムについて，初代培養系（上記１）を用いて解析した。その結果，JSAP 機能喪失は JNK とカルパインの活性を亢進させ，それらが協調的に働いて神経細胞死が引き起こされることを明らかにした（*Cell Death Differ,* 2015）。また，小脳プルキンエ細胞特異的 JSAP1,2 二重欠損マウスの作出・解析を行い，JSAP 欠失によりプルキンエ細胞死が誘導されることを見出すとともに，上述と同様の機序によってその細胞死が起こることを示唆する結果を得た（*FEBS Lett,* 2015）。

３．染色体分配における JSAP の役割

JSAP は非分裂細胞のみならず，分裂細胞の輸送システムにおいても重要な役割を担っており，JSAP 機能喪失は細胞質分裂障害を引き起こすことを昨年報告した（*Genes Cells*, 2014）。そこで，分裂細胞における JSAP タンパク質の細胞内局在を調べるために，JSAP1（あるいは JSAP2）発現ベクターを HeLa 細胞に導入した。解析の結果，野生型 JSAP の強制発現により，間期では多核や小核などの核形態異常を示す細胞，また，分裂期（M 期）では娘細胞への染色体分配の遅延を示す細胞が高頻度に認められる，という予想外の知見を得た（未発表）。しかし，kinesin-1 重鎖結合ドメインを欠く変異型 JSAP の場合には，特に異常は認められなかった。以上の結果から，JSAP は染色体分配に関わる重要な因子であり，JSAP 発現亢進による染色体分配異常の誘発は，細胞内輸送制御の破綻に起因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 Gli ががんの転移に関与することは知られているが，その詳細については不明な点が多い。我々は，マウスメラノーマ由来の B16-F10 細胞を用いて，Gli1 ノックダウン細胞の作製・解析を行っている。本年は，*in vitro* 浸潤アッセイ，及びマウス尾静脈への注入による転移アッセイを行った。その結果, Gli1 は B16-F10 細胞の浸潤・転移に重要な因子であることが強く示唆された。

＜今後の計画＞

１．JNK とカルパインの協調的な働きによって誘導される神経細胞死の鍵分子を探索・同定する。

２．JSAP 発現亢進によって引き起こされる染色体分配異常の分子機構を明らかにする。また，娘細胞への染色体の均等分配に本質的な役割を担う中心体について，JSAP 発現亢進が過剰複製を引き起こす可能性を検討する。

３．B16-F10 細胞の浸潤・転移に関与する Gli1 の標的遺伝子を探索・同定する。

## 【 研 究 業 績 】

### ＜発表論文＞

（研究室主体）

1. Sato T, Ishikawa M, Mochizuki M, Ohta M, Ohkura M, Nakai J, Takamatsu N, and Yoshioka K. JSAP1/JIP3 and JLP regulate kinesin-1-dependent axonal transport to prevent neuronal degeneration. ***Cell Death Differ.*** 22: 1260-1274, 2015.
2. Sato T, Ishikawa M, Yoshihara T, Nakazato R, Higashida H, Asano M, and Yoshioka K. Critical role of JSAP1 and JLP in axonal transport in the cerebellar Purkinje cells of mice. ***FEBS Lett.*** 589: 2805-2811, 2015.

（共同研究）

1. Wang HM, Yan Q, Yang T, Cheng H, Du J, Yoshioka K, Kung SK, and Ding GH. Scaffold protein JLP is critical for CD40 signaling in B lymphocytes. ***J Biol Chem.*** 290: 5256-5266, 2015.

（日本語総説・著書）

１．佐藤時春，石川桃絵，善岡克次
JSAP1 と JLP による軸索輸送の制御とその破綻がもたらす神経変性の分子機構
**BioMed サーカス**，第 42 回，2015.

### ＜学会発表＞

１．Gunarta IK, Yoshioka K.
Functional role of Gli1 transcription factor in metastasis of melanoma.
第 10 回研究所ネットワークシンポジウム、2015 年 7 月 23 日，札幌

２．Ishikawa M, Sato T, Ohta M, Li R, Yuliana D, Yoshioka K.
Critical role of the scaffold proteins JSAP1 and JLP in Purkinje cells.
第 38 回日本神経科学大会，2015 年 7 月 30 日，神戸

３．Purvee E, Sato T, Ishikawa M, Yoshioka K.
Essential role of the scaffold proteins JSAP1 and JLP in axonal transport.
第 38 回日本神経科学大会，2015 年 7 月 30 日，神戸

４．中里亮太，佐藤時春，善岡克次
足場タンパク質 JSAP による細胞分裂制御機構
第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会 合同大会，2015 年 12 月 1 日，神戸

### ＜外部資金＞

１．三谷研究開発支援財団（研究代表者：善岡 克次）「JSAP1,2 遺伝子改変による新規神経変性疾患モデルマウスの開発研究」1,000 千円

２．日本学術振興会・研究拠点形成事業　アジア・アフリカ学術基盤形成型（研究分

担者：善岡 克次）「東アジア地域における B 型肝炎ウイルス関連肝疾患の撲滅を目指した医学系人材の育成」6,800 千円

３．科学研究費補助金　研究活動スタート支援（研究代表者：中里 亮太）「足場タンパク質 JSAP による細胞のがん化と細胞分裂制御機構」1,100 千円

＜学内外との共同研究＞

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

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

３．共同研究者：高松 信彦（北里大学）
「足場タンパク質 JSAP 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

＜研究室スタッフ＞(2015 年現在)　　※研究指導

教授: 源 利成;　助教(TT): 堂本貴寛
博士研究員: Ilia V. Pyko, 石井裕子(6 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),
阿部健作(本学整形外科学), 竹中 哲(本学消化器・腫瘍・再生外科学)
大学院修士課程: 佐々木規雄(保健学系), 上原将大(医学系;4 月～)
技能補佐員: 浅香敦子;　技能補佐員(ヒトがん組織バンク): 阿部尚子
共同研究員: 小竹優範(厚生連高岡病院消化器外科)

## 【研究概要】

当研究分野は 1998 年に遺伝子診断の旧称で開設されてから一貫して, 消化器がんを中心にがんの多様な生物病態と腫瘍外科学的特性について, 基礎と臨床を密接に関係づける方向で研究を続けている. そして, その成果を難治がんや希少がんの病態解明と制御に応用することを検討している. 大腸がんの分子病理学的特性は組織バンク資源をもとに外科系大学院の学位研究課題として継続している(後述).

### 1. Wnt 経路に関わる新しい分子細胞機構の検討

Wnt 経路固有のがん化シグナルを理解する目的で, 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. とくに β-カテニンが転写誘導する CRD-BP(coding region determinant-binding protein)に着目し, 大腸がん病態との関連を検討している. がんにおける β-カテニン活性化の仕組みについて, その分解複合体構成因子やユビキチン経路の調節異常を明らかにしてきた. β-カテニンの核移入はその活性化に必須であるが, 核局在構造を持たない β-カテニンが細胞質と核を往来する仕組みは明らかではない. 本学 Wong 教授とともに, 核-細胞質間分子移送を担う核膜孔複合体因子(nucleoporins: Nups)の検索を始めた. これまでに, 大腸がんではある種の Nup が β-カテニンや Tcf7L2(Tcf-4)の核内発現を調節していることを見出した.

この課題は大腸がんの Wnt 経路の病理作用の理解と, 個体発生や分化など多様な生命現象の研究へ応用が期待される. これまでの研究経過を振り返ると, 一連の成果は国際的評価が高い科学誌に掲載されてきた. しかし, その引用回数(インパクト)は低く, 臨床応用には程遠い状況であり, 今後の研究継続の是非や方向性を慎重に検討している.

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

大腸がんにおける Wnt/β-カテニン経路の研究過程で思いがけず, 同経路の抑制因子としてひろく認識されていた GSK3β が固有の分子経路を誘導して, がん細胞の生存, 不死化,

増殖を推進することを発見した. そして, GSK3β 阻害の強力で特異的ながん治療効果を細胞レベルと非臨床試験で実証した. 大腸がん研究と並行して, 本学脳神経外科学, 整形外科学, 消化器・腫瘍・再生外科, 金沢医科大学腫瘍内科学, 総合医学研究所などと連携し, GSK3β の「がん促進作用」は膵がんや膠芽腫, 骨軟部肉腫などの難治, 希少がんにも観察され, 腫瘍細胞に高度の浸潤性と治療(抗がん剤, 放射線)不応性などの悪性形質を賦与することを見出した. そして, GSK3β 阻害医薬品の転用(repurposing/repositioning)と抗がん剤を併用するがん治療法を共同開発し, 再発膠芽腫(本学附属病院脳神経外科)と進行膵がん(金沢医科大学病院)を対象とする医師主導型臨床研究によりその安全性と抗腫瘍効果を試験している(UMIN000005111, UMIN000005095).

がんにおける GSK3β の生物学を理解するため, がん固有のエネルギー代謝(Warburg 効果)に関わる代謝酵素や自食作用(オートファジー)に着目して機能解析を進め, 新しい知見が得られつつある. また, 遅ればせながら, 抗がん剤耐性化膵がんや原発膠芽腫スフェアを対象に, GSK3β によるがん幹細胞形質の制御について研究を開始した. 消化器がんの臨床に即した課題として, 内視鏡的にヨード不染で認識される食道発がん初期病巣(前がん病変)の発生機構に関して, がん代謝の視点から今後アプローチしたい.

GSK3β 阻害によるがん治療法開発の基盤として, 国内製薬企業が保有する阻害剤や GSK3β 制御性 micro-RNA の配列をもとに東工大生命理工学科と共同開発するアンチセンスオリゴ核酸のがん治療効果の解析, cell-based ELISA による新規阻害剤スクリーニング技術の開発などの準備を進めている.

### 3. エピジェネティクスを指標にするがん診断・治療法の開発

大腸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に, 本学外科学大学院生と共同研究員が継続している.

### 4. ヒト消化管がん組織検体資源化プロジェクト

がんの生物学的解析から観察される現象を実際の病巣で検証してはじめて, がんの臨床に橋渡しできる. この目的で, 消化管がん研究や臨床研究の基礎資源として 2008 年から本事業を開始し, 2010 年にこの事業を当研究所ヒトがん組織バンクに継承し, 現在に至っている. この組織資源をもとに国内外の機関と共同研究により, 胃がんや大腸がんにおける Wnt 経路の分子病理特性(Nature 2006, Cancer Res 2009)やレトロポゾン, トレフォイル因子, RUNX3 などを対象にエピジェネティック変化の解析による発がん, 進行の分子機構を明らかにしてきた(J Clin Invest 修正投稿中, Oncogene 2015, Gastroenterology 2011, Clin Cancer Res 2010, Gastroenterology 2010). これらの研究に加えて 2014 年より, 山梨大学が開発した大気圧イオン化法−質量分析装置を用いて, 大腸組織検体のマススペクトルデータベースをもとに統計解析手法により非がん/がんの判別(診断)システムを構築し, 生体分子の発現量を解析することでがん病態解明の基盤を構築することを目的に, 同大解剖学を主体に本学消化器・腫瘍・再生外科学と共同研究を始めた.

## 【研究業績】

[註] 下線は研究室メンバー，在籍者，研究協力員および共同研究員

### ＜論文発表＞

#### 原著

1. Chikano Y, Domoto T, Furuta T, Sabit H, Kitano-Tamura A, Pyko IV, Takino T, Sai Y, Hayashi Y, Sato H, Miyamoto KI, Nakada M, Minamoto T. Glycogen synthase kinase 3β sustains invasion of glioblastoma via the focal adhesion kinase, Rac1 and c-Jun N-terminal kinase-mediated pathway. *Mol Cancer Ther* 14 (2): 564-74, 2015.
2. Kurklu B, Whitehead RH, Ong EK, Minamoto T, Fox JG, Mann JR, Judd LM, Giraud AS, Menheniott TR. Lineage-specific RUNX3 hypomethylation marks the preneoplastic immune component of gastric cancer. *Oncogene* 34 (22): 2856-66, 2015.
3. Takino T, Nakada M, Li Z, Yoshimoto T, Domoto T, Sato H. Tip60 regulates MT1-MMP transcription and invasion of glioblastoma cells through NF-κB pathway. *Clin Exp Metastasis* 2015 Oct 13. [Epub ahead of print]

#### 著書・総説

なし

### ＜学会発表＞

#### 国際学会

1. Toshinari Minamoto. Biological basis of cancer treatment by GSK3β inhibition. 2015 Kanazawa University Cancer Research Institute and Fudan University Shanghai Cancer Center Joint Symposium/International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa, September 11, 2015, Kanazawa University School of Medicine Memorial Hall, Kanazawa, Japan.

#### 国内学会

2. Takahiro Domoto, Yuri Chikano, Takuya Furuta, Hemragul Sabit, Ilya V. Pyko, Takahisa Takino, Yutaka Hayashi, Hiroshi Sato, Mitsutoshi Nakada, Toshinari Minamoto. Glycogen synthase kinase 3β sustains invasion of glioblastoma via the focal adhesion kinase, Rac1 and JNK-mediated pathway. 日本癌学会シンポジウム／共同利用・共同研究拠点シンポジウム「がん幹細胞・微小環境・分子標的～がん進展制御への挑戦」，2015 年 1 月 21 日（水），22 日（木），石川県立音楽堂，金沢.
3. Ilya V. Pyko, Mitsutoshi Nakada, Hemragul Sabit, Lei Teng, Natsuki Furuyama, Yutaka Hayashi, Kazuyuki Kawakami, Toshinari Minamoto, Aliaksandr S. Fedulau, Jun-ichiro Hamada. Glycogen synthase kinase 3β inhibition sensitizes human glioblastoma cells to temozolomide by affecting $O^6$-methylguanine DNA methyltransferase promoter methylation via c-Myc signaling. 日本癌学会シンポジウム／共同利用・共同研究拠点シンポジウム「がん幹細胞・微小環境・分子標的～がん進展制御への挑戦」，2015 年 1 月 21 日（水），22 日（木），石川県立音楽堂，金沢.

4. 佐々木規雄, 堂本貴寛, 米村圭祐, 森脇美優, Ilia V. Pyko, 中村慶史, 太田哲生, 河原 栄, 源 利成. 大腸がんにおける GSK3β制御性 miRNA の発現と病態との関連. 日本癌学会シンポジウム／共同利用・共同研究拠点シンポジウム「がん幹細胞・微小環境・分子標的～がん進展制御への挑戦」, 2015 年 1 月 21 日（水）, 22 日（木）, 石川県立音楽堂, 金沢.

5. Takeo Shimasaki, Satoko Yamamoto, Yoshie Yoshida, Naohisa Tomosugi, Toshinari Minamoto. Identification of secretory protein responsible for GEM-induced EMT in pancreatic cancer cells. 日本癌学会シンポジウム／共同利用・共同研究拠点シンポジウム「がん幹細胞・微小環境・分子標的～がん進展制御への挑戦」, 2015 年 1 月 21 日（水）, 22 日（木）, 石川県立音楽堂, 金沢.

6. 松田陽子, 石渡俊行, 吉村久志, 源 利成, 新井富生. 膵がんにおけるリン酸化 nestin の役割りと抑制効果. 日本癌学会シンポジウム／共同利用・共同研究拠点シンポジウム「がん幹細胞・微小環境・分子標的～がん進展制御への挑戦」, 2015 年 1 月 21 日（水）, 22 日（木）, 石川県立音楽堂, 金沢.

7. 島崎猛夫, 元雄良治, 源 利成, 友杉直久. 抗癌剤により膵癌細胞に誘導される EMT 促進因子の同定と機能解析:GSK3β 阻害による制御. 第 46 回日本膵臓学会大会. シンポジウム2:膵疾患の分子病態 －Basics and Applications－, 2015 年 6 月 19 日（金）, 20 日（土）, 名古屋国際会議場, 名古屋.

8. 堂本貴寛, 紙健次郎, 廣瀬まゆみ, Ilya V. Pyko, 土原一哉, 曽我朋義, 江角浩安, 源 利成. 大腸がん糖代謝特性における GSK3β の役割. 第 3 回がんと代謝研究会, 2015 年 7 月 16 日（木）, 17 日（金）, 石川県立音楽堂, 金沢.

9. 堂本貴寛, 滝野隆久, 佐藤 博, 源 利成. GSK3β は FAK-Rac1-JNK 経路を介して膠芽腫細胞の浸潤を推進する. GSK3β sustains invasion of glioblastoma via the FAK, Rac1 and JNK-mediated pathway. 第 24 回日本がん転移学会学術集会・総会, 2015 年 7 月 23 日（木）, 24 日（金）, シティプラザ大阪, 大阪.

10. 吉本 泰祐, 滝野 隆久, 堂本 貴寛, 川尻 秀一, 佐藤 博. Vinculin は MEK/ERK 経路を介した MT1-MMP の転写を負に制御する. 第 24 回日本がん転移学会学術集会・総会, 2015 年 7 月 23 日（木）, 24 日（金）, シティプラザ大阪, 大阪.

11. 古田拓也, 淑瑠ヘムラサビット, 董 宇, 宮下勝吉, 木下雅史, 内山尚之, 林 康彦, 林 裕, 源 利成, 中田光俊. 既存薬転用を応用した膠芽腫に対する GSK3β 標的治療. 第 16 回日本分子脳神経外科学会, 2015 年 08 月 28 日（金）, 29 日（土）, アクトシティ浜松コングレスセンター, 浜松.

12. 堂本貴寛, 古田拓也, 滝野隆久, 佐藤 博, 中田光俊, 源 利成. GSK3β は FAK/Rac1/JNK 経路を介する MMPs の発現亢進によって膠芽腫細胞の浸潤を推進する. Takahiro Domoto, Takuya Furuta, Takahisa Takino, Hiroshi Sato, Mitsutoshi Nakada, Toshinari Minamoto. GSK3β sustains invasion of glioblastoma by expression of MMPs via the FAK, Rac1 and JNK-mediated pathway. 第 74 回日本癌学会学術総会, 2015 年 10 月 8 日（木）～10 日（土）, 名古屋国際会議場, 名古屋.

13. 島崎猛夫, 山本聡子, 堂本貴寛, 有沢富康, 友杉直久, 源 利成. ゲムシタビンにより膵癌細胞に誘導される EMT 促進因子の同定と機能解析:GSK3β 阻害による制御. Takeo Shimasakai, Satoko Yamamoto, Takahiro Domoto, Tomiyasu Arisawa, Naohisa Tomosugi, Toshinari Minamoto. Identification and analysis of EMT-inducible factor by

gemcitabine in pancreatic cancer cells. 第 74 回日本癌学会学術総会, 2015 年 10 月 8 日(木)～10 日(土), 名古屋国際会議場, 名古屋.

14. 滝野隆久, 中田光俊, 堂本貴寛, 佐藤博. Tip60 は NF-κB 経路を介して膠芽腫の MT1-MMP 発現と浸潤を制御する. Takahisa Takino, Mitsutoshi Nakada, Takahiro Domoto, Hiroshi Sato. Tip60 regulates MT1-MMP transcription and invasion of glioblastoma cells through NF-kappaB pathway. 第 74 回日本癌学会学術総会, 2015 年 10 月 8 日(木)～10 日(土), 名古屋国際会議場, 名古屋.

15. 吉本泰祐, 滝野隆久, 堂本貴寛, 川尻秀一, 佐藤博. Vinculin は MEK/ERK 経路を介した MT1-MMP の転写を負に制御する. Taisuke Yoshimoto, Takahisa Takino, Takahiro Domoto, Syuichi Kawashiri, Hiroshi Sato. Vinculin negatively regulates transcription of MT1-MMP through MEK/ERK pathway. 第 74 回日本癌学会学術総会, 2015 年 10 月 8 日(木)～10 日(土), 名古屋国際会議場, 名古屋.

16. 山本聡子, 島崎猛夫, 有沢富康, 源 利成, 友杉直久. エクソソームを介する癌細胞間相互作用:新しい培養プレートによる解析. Satoko Yamamoto, Takeo Shimasaki, Tomiyasu, Arisawa, Toshinari Minamoto, Naohisa Tomosugi. Investigation of intercellular communication in cancer via exosomes with a new special device NIKO-1. 第 74 回日本癌学会学術総会, 2015 年 10 月 8 日(木)～10 日(土), 名古屋国際会議場, 名古屋.

17. 下崎真吾, 山本憲男, 林 克洋, 木村浩明, 武内章彦, 三輪真嗣, 稲谷弘幸, 青木 裕, 樋口貴史, 阿部健作, 堂本貴寛, 大塚隆信, 源 利成, 土屋弘行. GSK3β 阻害薬を用いた骨肉腫への分子標的治療. Shingo Shimozaki, Norio Yamamoto, Katsuhiro Hayashi, Hiroaki Kimura, Akihiko Takeuchi, Shinji Miwa, Hiroyuki Inatani, Yu Aoki, Takashi Higuchi, Kensaku Abe, Takahiro Domoto, Takanobu Otsuka, Toshinari Minamoto, Hiroyuki Tsuchiya. Therapeutic effect of GSK3β against osteosarcoma via β-catenin activation. 第 53 回日本癌治療学会学術集会, 2015 年 10 月 29 日(木)～31 日(土), 国立京都国際会館, 京都.

18. 島崎猛夫, 山本聡子, 源 利成. 抗がん剤により膵がん細胞に誘導される分子とエクソソームを介した細胞間相互作用の解析. 第 26 回日本消化器癌発生学会総会. シンポジウム 4:消化器癌組織の微小環境の分子機構. 2015 年 11 月 19 日(木), 20 日(金), 米子全日空ホテル, 米子.

＜講演, その他＞

19. 源 利成. がんのエネルギー代謝ーがんは甘いもの好きー. 石川県立金沢泉丘高等学校 SSH 模擬講義, 2015 年 1 月 23 日(金), 金沢医科大学, 河北郡内灘町.

20. 源 利成. GSK3β 阻害によるがん悪性形質の制御とがん治療法の開発・臨床応用. 金沢医科大学大学院医学研究セミナー, 2015 年 11 月 27 日(金), 金沢医科大学医学教育棟 4 階 E41 講義室, 河北郡内灘町.

＜学術集会開催＞

21. 第 121 回日本消化器病学会北陸支部例会, 第 34 回教育講演会, 第 10 回専門医セミナー. 2015 年 11 月 8 日, 石川県地場産業振興センター新館, 金沢.

＜外部資金＞（2015 年度が含まれる課題）

1. 2014－2015 年度 科学研究費補助金（研究活動スタート支援）課題番号 26893096
ピコ イリア（代表）
課題：Development of combined cellular and molecular target-directed therapies for glioblastoma
研究経費：2,300,000 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：3,770,000 円

3. 2014－2016 年度 科学研究費補助金（基盤研究B）課題番号 26293322
中田光俊（代表），源 利成（連携）
課題：ドラッグリポジショニングによる悪性グリオーマに対する新規化学療法の基盤構築
研究経費：12,160,000 円

4. 2015－2017 年度 科学研究費補助金（基盤研究B）：課題番号 15H04928
源 利成（代表），宮下知治（分担），太田哲生，曽我朋義，清尾康志（連携）
課題：GSK3β 経路を標的とする大腸がんの病態解明と治療法開発の基盤形成
研究経費：12,800,000 円

5. 2015－2016 年度 科学研究費補助金（挑戦的萌芽）：課題番号 15K15493
源 利成（代表），Wong Richard，石垣靖人，太田哲生，宮下知治（連携）
課題：大腸がんにおける β-カテニン核移送に作用する核膜孔複合体因子の探索と機能解析
研究経費：2,700,000 円

6. 2015－2018 年度 科学研究費補助金（基盤研究A）：課題番号 15H04928
大島正伸（代表），ほか（分担），源 利成（連携）
課題：大腸がん自然転移・再発モデルの開発による悪性化進展機構の研究
研究経費：41,000,000 円

7. 2015－2017 年度 科学研究費補助金（基盤研究C）：課題番号 15K09051
島崎猛夫（代表），石垣靖人（分担），源 利成（連携）
課題：抗がん剤による膵がん細胞の浸潤形質獲得の分子機構の解明とがん治療への応用
研究経費：4,810,000 円

＜奨学寄附金＞

8. 2015 年 3 月　財団法人石川県予防医学協会　800,000 円

9. 2015 年 3 月　財団法人石川県予防医学協会　400,000 円

10. 2015 年 3 月　株式会社アルプ　384,571 円

## 共同研究

1. 2015 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
   小坂健夫（代表：金沢医科大学），富田泰斗，源 利成，ほか（分担）
   課題：大腸がんにおける β-カテニン/Tcf の転写標的 CRD-BP の分子病理学的特性と病態の解明
   研究経費：500,000 円

2. 2015 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
   島崎猛夫（代表：金沢医科大学），源 利成，ほか（分担）
   課題：GSK3β を標的とする新規核酸医薬の機能解析
   研究経費：400,000 円

3. 2015 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（代表：東京都健康長寿医療センター），源 利成，ほか（分担）
   課題：膵幹細胞の加齢と発癌機序の解明
   研究経費：400,000 円

4. 2015 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
   吉村健太郎（代表：山梨大学），源 利成，ほか（分担）
   課題：大気圧イオン化法-質量分析を用いた大腸がん診断システムの確立および病態解明
   研究経費：400,000 円

5. 2015 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
   山本憲男（代表：金沢大学整形外科学），堂本貴寛，源 利成，ほか（分担）
   課題：軟部肉腫の GSK3β を標的とする新規治療法の開発と分子メカニズム
   研究経費：200,000 円

6. 2015 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
   Richard Wong（代表：金沢大学システム生物学），源 利成，ほか（分担）
   課題：大腸癌進行に関与する核膜孔複合体蛋白の同定および機能解析
   研究経費：200,000 円

7. 2015 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
   宮下知治（代表：金沢大学消化器・腫瘍・移植再生外科），源 利成，ほか（分担）
   課題：GSK3β 阻害による食道発癌の予防とその機序の解明
   研究経費：200,000 円

8. 2015 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
   古田拓也（代表：金沢大学脳神経外科），宮下勝吉，源 利成，ほか（分担）
   課題：既存薬転用による膠芽腫に対する GSK3β 標的療法の開発
   研究経費：200,000 円

9. 2015 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）

Xi Cheng（代表：復旦大学上海がんセンター），源 利成，ほか（分担）
課題：The relationship between GSK3β expression and chemoresistance in ovarian clear cell carcinoma
研究経費：90,000 円

＜特許出願＞

なし

＜報　道＞

該当なし

# 機能ゲノミクス研究分野

＜研究スタッフ＞

教授：　鈴木健之　　助教：　石村昭彦

助教：　寺島農　　事務補佐員：　小田原敦子

大学院生（博士課程）：　Dulamsuren Oktyabri

大学院生（修士課程）：　松本晃汰

## 【 研 究 概 要 】

ヒストンの翻訳後修飾などエピジェネティックな制御の異常は，ヒトの様々ながんで高頻度に検出されており，その可逆的な性質から次世代のがん治療の標的として注目される。当研究分野では，レトロウイルス感染発がんモデルマウスを用いて，ウイルス挿入を目印に，新規がん関連遺伝子の探索を進めてきた。その結果，ヒストンのメチル化修飾に関わる酵素の多くが同定された。これまでの解析から，これらの酵素は，がん細胞の増殖だけでなく，細胞の運動・浸潤，上皮･間葉転換（EMT），薬剤耐性獲得，低酸素応答など，がんの悪性進展のさまざまな過程にも関与することが示されており，酵素の新しい役割を明らかにするため，機能解析を進めている。

＜今年度の研究成果，進行状況と今後の計画＞

１）上皮-間葉転換（EMT）におけるヒストン H3 のメチル化制御酵素の役割

これまでの解析から，ヒストン H3 の 4 番目の Lys（H3K4）の脱メチル化酵素のうち，KDM5B, LSD1, FBXL10 は，それぞれ異なる分子メカニズムで，がん細胞の上皮･間葉転換（EMT）の促進に作用することが明らかになった。複数の酵素が重複した機能を担うため，これらの酵素をそれぞれノックダウンし発現を阻害しても，TGF-βなど外部刺激による EMT の誘導は阻害できなかった。そこで，EMT の誘導の初期において, H3K4 と同様にメチル化状態が変化する H3K27 のメチル化制御に関わる酵素に注目した。PRC2（Polycomb repressive complex-2）は，H3K27 のメチル化を担う唯一の酵素複合体であり，EZH2 メチル化酵素および SUZ12，EED，RBBP4/7 のコアコンポーネントから構成される。私達は，H3K27me3 修飾を認識する EED と，PRC2 複合体をクロマチンにリクルートする役割を担うアクセサリー因子 JARID2 が，TGF-β刺激による EMT プロセスで顕著に発現誘導されることを見いだした。これらの発現をノックダウンすると，TGF-βによる EMT 誘導がブロックされることから，PRC2 による H3K27 のメチル化制御が，TGF-β誘導 EMT に極めて重要であることが明らかになった。また，細胞内で JARID2 を強制発現させただけでは，PRC2 の標的遺伝子への

リクルートや EMT の誘導が起こらないことから，TGF-β刺激によって誘導・活性化される何らかの因子が PRC2 の機能に必要であることが示唆された。このガイド役の有力な候補として，最近，EMT に伴って発現誘導される長鎖非コード RNA を同定しており，その機能を詳細に調べている。

２）がん関連遺伝子候補 JMJD5 の胚発生および乳がんにおける機能

候補遺伝子のひとつ JMJD5 の生理機能やがん発症における役割を解明するために，Jmjd5 欠損マウスを作製して解析してきた。Jmjd5$^{-/-}$胚では，がん抑制遺伝子 p53 の主な下流標的遺伝子（p21，Noxa，Mdm2 など）の発現が亢進するが，p53 遺伝子の転写・翻訳レベルの発現誘導は観察されない。クロマチン免疫沈降実験から，標的遺伝子座への p53 タンパク質のリクルートが有意に上昇すること，免疫沈降実験から，p53 タンパク質が JMJD5 タンパク質と相互作用することが示された。すなわち，JMJD5 は p53 シグナルを負に制御する新しい「p53 制御因子」として，細胞増殖に関与することがわかった（論文１）。また，JMJD5 は悪性度の高い乳がんとして知られるトリプルネガティブ型乳がんで顕著に発現が低下することや，低酸素刺激後の乳がん細胞株において発現抑制が起きることを見いだした。さらに，乳がん細胞株において JMJD5 の発現をノックダウンすると，がん幹細胞様の性質を有するスフィアの形成能が有意に上昇することがわかった。こうした結果をふまえて，乳がんの悪性進展過程における JMJD5 の役割と分子レベルでの作用機序について解析を進行中である。

３）乳がん細胞の悪性進展における H3K79 メチル化酵素 DOT1L の機能

DOT1L ヒストンメチル化酵素は，染色体転座を伴う白血病で，MLL タンパク質との融合タンパク質を形成し，白血病発症に関与することで有名である。しかし，固形がんにおける役割はあまり報告されていない。私達は，DOT1L が乳がん，特にトリプルネガティブ型乳がんで，高発現していることを見いだした。また，DOT1L の大量発現は，乳がん細胞株のスフィア形成能や細胞運動能を上昇させること，一方，DOT1L のノックダウンは，それらを低下させることがわかった（論文 2）。DOT1L によって発現制御される標的遺伝子のうち，分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素 BCAT1 は，乳がんにおいて DOT1L と同様の発現様式を示した。BCAT1 の大量発現あるいはノックダウンによって，DOT1L によるスフィア形成能や細胞運動能の変化を打ち消すことができることから，BCAT1 が DOT1L の下流で作用する重要なエフェクター分子であることが示唆された。さらに，DOT1L 酵素活性阻害剤 EPZ-5676 や BCAT1 阻害剤 gabapentin が，乳がん細胞株の悪性形質に阻害的効果を示したことから，これらの阻害剤のがん治療への有用性をさらに検討する計画である。

## 【 研 究 業 績 】

### ＜発表論文＞

原著

（研究室主体）

1. Ishimura A, Terashima M, Tange S and Suzuki T. Jmjd5 functions as a regulator of p53 signaling during mouse embryogenesis. Cell Tissue Res., Sep. 3, Epub ahead of print, 2015.
2. Oktyabri D, Ishimura A, Tange S, Terashima M and Suzuki T. DOT1L histone methyltransferase regulates the expression of BCAT1 and is involved in sphere formation and cell migration of breast cancer cell lines. Biochimie, in press, 2016.

### ＜学会発表＞

国際学会

1. Suzuki T, Tange S, Oktyabri D, Terashima M and Ishimura A. Involvement of histone methyl-modifying enzymes in cancer development identified by retroviral insertional mutagenesis. The 10th International Symposium of Institute Network (札幌 2015 年 7 月)

国内学会

1. Tange S, Oktyabri D, Terashima M, Ishimura A and Suzuki T.　JARID2は，肺がん細胞株へのTGF-β処理によって誘導される上皮間葉転換に関与する．　第9回エピジェネティクス研究会年会（東京2015年5月）
2. Oktyabri D, Ishimura A, Terashima M and Suzuki T.　DOT1Lは乳がん細胞の細胞運動性とスフィア形成を制御する．　第9回エピジェネティクス研究会年会（東京2015年5月）
3. Tange S, Oktyabri D, Terashima M, Ishimura A and Suzuki T.　EED regulates epithelial-mesenchymal transition of cancer cells induced by TGF-beta.　第74回日本癌学会学術総会（横浜2015年10月）
4. Ishimura A, Tange S, Terashima M and Suzuki T.　Identification of JmjC family genes involved in breast cancer malignancies.　第74回日本癌学会学術総会（横浜2015年10月）
5. Suzuki T, Tange S, Terashima M and Ishimura A.　Functional analysis of histone methyl-modifying enzymes in epithelial-mesenchymal transition of cancer cells.　第74回日本癌学会学術総会（横浜2015年10月）

6. Ishimura A, Terashima M, Tange S and Suzuki T.　JmjCドメイン蛋白質Jmjd5は，マウス胚発生期のp53シグナルを負に制御する．第38回日本分子生物学会年会（神戸2015年12月）
7. Terashima M, Tange S, Oktyabri D, Ishimura A and Suzuki T.　JARID2 is involved in TGF-beta-induced epithelial-mesenchymal transition of cancer cells. 第38回日本分子生物学会年会（神戸2015年12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,　1,500 千円
研究課題名「挿入変異法で同定されたエピジェネティック制御因子による疾患発症メカニズムの解析」

2. 文部科学省科学研究費補助金, 基盤研究（C）, 研究代表者　石村昭彦,　1,100 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」

3. 文部科学省科学研究費補助金, 研究活動スタート支援, 研究代表者　寺島農, 1,000 千円
研究課題名「がん発症，悪性化における non-coding RNA の新しい役割」

＜共同研究＞

1.　木村　宏　教授　東京工業大学大学院生命理工学研究科　がん細胞の上皮･間葉転換におけるヒストンメチル化修飾の解析

2.　藤澤　順一　教授　関西医科大学微生物学講座　ATL 発症モデルマウスにおけるエピゲノム変化の解析

3.　仙波　憲太郎　教授　早稲田大学理工学術院先進理工学部　乳がんの発症と悪性化に伴うエピゲノム変化の解析

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

# 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 | 臨床教授 | 毛利　久継 |
| 助　教 | 山下　要 | 助　教 | 山田　忠明 |
| 助　教 | 竹内　伸司 | | （H27 年 8 月から） |
| 助　教 | 衣斐　寛倫 | 助　教 | 南條　成輝 |
| 助　教 | 西山　明宏 | | （H27 年 7 月まで） |
| 特任助教 | 渡邉　一孝 | 医　員 | 小谷　浩 |
| 医　員 | 谷本　梓 | 医　員 | 北井　秀典 |
| 医　員 | 谷口　寛和 | 医　員 | 足立　雄太 |
| 特任助手 | 北　賢二 | 博士研究員 | 福田　康二 |
| 修士研究員 | 新井　祥子 | 客員教授 | 王　偉（H27 年 7 月～10 月） |
| 事務補佐員 | 岡本　恵子 | 事務補佐員 | 堂林　淳子 |
| 事務補佐員 | 高瀬　裕美子 | | |

## 【 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，肺がんや膵がんをはじめとする難治性固形がんについて，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，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の克服を目的にヒストン脱アセチル化酵素（HDAC）阻害薬併用による医師主導治験を継続するとともに，RET 融合遺伝子陽性肺がんをアレクチニブで治療する医師主導治験を新たに立ち上げた。基礎研究としても，肺扁平上皮がんや中皮腫の新たな分子標的を同定するとともに，種々の肺がん転移 *in vivo* イメージングモデルを確立し，多臓器転移の制御法を明らかにした。

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。

### ＜2015 年の研究成果，進捗状況＞

1. BIM 遺伝子多型に起因する EGFR 変異肺がんの EGFR-TKI 耐性をボリノスタット併用で克服する研究：EGFR 変異肺がんから BIM 多型陽性症例をスクリーニングする研究として PEOPLE-J 試験（21 施設の多施設共同研究）を実施しており，平成 27 年 11 月末現在で 423 例を登録し 54 例の BIM 多型陽性症例を同定した。さらに，BIM 多型陽性 EGFR 変異肺がんを対象にゲフィチニブと HDAC 阻害薬（ボリノスタット）併用の安全性を検討する多施設共同第 I 相試験（VICTORY-J）を医師主導治験として平成 26 年 6 月から開始しており，平成 27 年 11 月 30 日現在レベル 1（ボリノスタット 200mg/日）とレベル 2（同 300mg/日）の治療を完了し，最終用量であるレベル 3（同 400mg/日）の 5 例の治療を残すのみとなっている。（竹内，南條，谷本，西山，山田，矢野）

2. RET 融合遺伝子陽性肺がんに対するアレクチニブの有効性を明らかにする研究：

RET 融合遺伝子を有する肺がん（RET 肺がん）に対しアレクチニブの適応拡大を目指す医師主導治験（第 I/II 相試験）を実施するために，1）RET 肺がんに対する抗腫瘍効果を高める目的で，アレクチニブの投与量を 600mg bid（ALK 肺がんにおける国内承認量は 300mg bid）に変更し，PMDA の対面助言を受け，上記変更は可能との見解を得た。（平成 27 年 9 月 17 日），2）治験事務局を金沢大学附属病院・先端医療開発センターにおき，スタディマネージメント，統計解析，モニタリング，データマネージメントを含む治験実施体制の構築を行った。（竹内，南條，谷本，西山，山田，矢野）

3. 胸膜中皮腫の分子標的の同定：PKA/CREB 活性を介した Aki1 の制御が胸膜中皮腫の抗腫瘍効果に重要であることを明らかにした。同所移植モデルにおける Aki1-siRNA の胸腔内への直接投与が局所制御に有効であること，臨床検体でも Aki1 および CREB リン酸化は高発現していることから，Aki1-CREB シグナル制御が悪性胸膜中皮腫における新たな分子標的として有望であることを報告した。（山田，福田，竹内，矢野）

4. FGFR1 遺伝子増幅陽性肺がんに対する新規治療戦略：FGFR1 遺伝子増幅は肺扁平上皮がんの 10%前後に認められるが，治験における FGFR 阻害薬の効果は十分ではない。FGFR1 増幅を有する細胞株・臨床検体を用いた検討で，1）FGFR1 遺伝子増幅と蛋白発現に乖離が認められること，2）FGFR1 蛋白発現が低い腫瘍では別のドラーバーが存在することを明らかにし，FGFR1 増幅に加え，タンパク発現・別ドライバー遺伝子変異の探索を含めた新たな治療戦略を提唱した。（衣斐，小谷，南條，北，矢野）

5. 化学療法抵抗性小細胞肺がんの多臓器転移の制御：化学療法抵抗性の小細胞肺がん株の多臓器転移モデルにおいて，1）Hsp90 阻害薬は肝内ではがん細胞の c-Raf 発現を抑制して肝転移を抑制するが，骨内では骨芽細胞を活性化して骨転移を促進すること，2）ゾレドロン酸と Hsp90 阻害薬を併用することで，多臓器転移を制御しうることを明らかにした。（竹内，福田，新井，南條，北，山田，矢野）

6. EML4-ALK 肺がんの多臓器転移モデル：日本人から樹立された EML4-ALK 肺がん細胞株を用い，*in vivo* イメージングが可能な骨転移モデル，脳転移モデル，がん性胸膜炎モデルを作成した。（南條，竹内，福田，北，矢野）

＜今後の計画＞

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

2. RET 肺がんに対しアレクチニブの適応拡大を目指す医師主導治験（第 I/II 相試験）を開始する。

3. 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。

4. 肺がんの *in vivo* イメージングモデル（脳転移，骨転移，がん性胸膜炎，髄膜がん腫症など）を用いて，その分子機構解析を進め治療法を開発する。

5. 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. Tanimoto A, Takeuchi S, Yaegashi H, Kotani H, Kitai H, Nanjo S, Ebi H, Yamashita K, Mouri H, Ohtsubo K, Ikeda H, Yano S. Recurrence of renal cell carcinoma diagnosed using contralateral adrenal biopsy with endoscopic ultrasound‐guided fine‐needle aspiration. **Mol Clin Oncol** in press.

2. Nanjo S, Ebi H, Arai S, Takeuchi S, Yamada T, Mochizuki S, Okada Y, Nakada M, Yano S. High efficacy of third generation EGFR inhibitor AZD9291 in a leptomeningeal carcinomatosis model with EGFR-mutant lung cancer cells. **Oncotarget** in press.

3. Kotani H, Ebi H, Kitai H, Nanjo S, Kita K, Huynh TG, Ooi A, Faber AC, Mino-Kenudson M, Yano S. Co-active receptor tyrosine kinases mitigate the effect of FGFR inhibitors in FGFR1-amplified lung cancers with low FGFR1 protein expression. **Oncogene** 2015; [Epub ahead of print]

4. Takeuchi S, Fukuda K, Arai S, Nanjo S, Kita K, Yamada T, Hara E, Nishihara H, Uehara H, Yano S. Organ-specific efficacy of HSP90 inhibitor in multiple-organ metastasis model of chemorefractory small cell lung cancer. **Int J Cancer** 2015; [Epub ahead of print]

5. Yamada T, Amann JM, Fukuda K, Takeuchi S, Fujita N, Uehara H, Iwakiri S, Itoi K, Shilo K, Yano S, Carbone DP. Akt kinase-interacting protein 1 signals through CREB to drive diffuse malignant mesothelioma. **Cancer Res** 2015; 75(19): 4188-97.

6. Ebi H, Oze I, Nakagawa T, Ito H, Hosono S, Matsuda F, Takahashi M, Takeuchi S, Sakao Y, Hida T, Faber AC, Tanaka H, Yatabe Y, Mitsudomi T, Yano S, Matsuo K. Lack of association between the BIM deletion polymorphism and the risk of lung cancer with and without EGFR mutations. **J Thorac Oncol** 2015; 10(1): 59-66.

7. Li Q, Wang W, Machino Y, Yamada T, Kita K, Oshima M, Sekido Y, Tsuchiya M, Suzuki Y, Nan-Ya K, Iida S, Nakamura K, Iwakiri S, Itoi K, Yano S. Therapeutic activity of glycoengineered anti-GM2 antibodies against malignant pleural mesothelioma. **Cancer Sci** 2015; 106(1): 102-7.

8. Nanjo S, Nakagawa T, Takeuchi S, Kita K, Fukuda K, Nakada M, Uehara H, Nishihara H, Hara E, Uramoto H, Tanaka F, Yano S. *In vivo* imaging models of bone and brain

metastases and pleural carcinomatosis with a novel human EML4-ALK lung cancer cell line. **Cancer Sci** 2015; 106(3): 244-52.

9. 大坪公士郎, 毛利久継, 山下　要, 安本和生, 井上　大, 蒲田敏文, 池田博子, 渡邊弘之, 矢野聖二. 自己免疫性膵炎の診断におけるEUS−FNAの有用性に関する検討. **ENDOSCOPIC FORUM for digestive disease** 2015; 31(2): 125-34.

（共同研究）

1. Mitsuhashi A, Goto H, Saijo A, Trung VT, Aono Y, Ogino H, Kuramoto T, Tabata S, Uehara H, Izumi K, Yoshida M, Kobayashi H, Takahashi H, Gotoh M, Kakiuchi S, Hanibuchi M, Yano S, Yokomise H, Sakiyama S, Nishioka Y. Fibrocyte-like cells mediate acquired resistance to anti-angiogenic therapy with bevacizumab. **Nat Commun** 2015; 6: 8792.

2. Zhou Y, Yamada N, Tanaka T, Hori T, Yokoyama S, Hayakawa Y, Yano S, Fukuoka J, Koizumi K, Saiki I, Sakurai H. Crucial roles of RSK in cell motility by catalysing serine phosphorylation of EphA2. **Nat Commun** 2015; 6: 7679.

3. Kuriyama S, Yoshida M, Yano S, Aiba N, Kohno T, Minamiya Y, Goto A, Tanaka M. LPP inhibits collective cell migration during lung cancer dissemination. **Oncogene** 2015; [Epub ahead of print]

4. Taniguchi H, Yamazaki K, Yoshino T, Muro K, Yatabe Y, Watanabe T, Ebi H, Ochiai A, Baba E, Tsuchihara K; Japanese Society of Medical Oncology. Japanese Society of Medical Oncology Clinical Guidelines: RAS (KRAS/NRAS) mutation testing in colorectal cancer patients. **Cancer Sci** 2015; 106(3): 324-7.

5. Faber AC, Farago AF, Costa C, Dastur A, Gomez-Caraballo M, Robbins R, Wagner BL, Rideout WM 3rd, Jakubik CT, Ham J, Edelman EJ, Ebi H, Yeo AT, Hata AN, Song Y, Patel NU, March RJ, Tam AT, Milano RJ, Boisvert JL, Hicks MA, Elmiligy S, Malstrom SE, Rivera MN, Harada H, Windle BE, Ramaswamy S, Benes CH, Jacks T, Engelman JA. Assessment of ABT-263 activity across a cancer cell line collection leads to a potent combination therapy for small-cell lung cancer. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2015; 112(11): E1288-96.

6. Costa C, Ebi H, Martini M, Beausoleil SA, Faber AC, Jakubik CT, Huang A, Wang Y, Nishtala M, Hall B, Rikova K, Zhao J, Hirsch E, Benes CH, Engelman JA. Measurement of PIP3 levels reveals an unexpected role for p110β in early adaptive responses to p110α-specific inhibitors in luminal breast cancer. **Cancer Cell** 2015; 27(1): 97-108.

総説

1. 矢野聖二. 骨転移モデルによる病態解明と新規治療戦略. **Surgery Frontier** 22(1): 12-7, 2015

2. 矢野聖二. がん微小環境を標的とした治療の現状および今後の展望. **実験医学** 33(5): 820-1, 2015

3. 筒井朱美, 大坪公士郎, 中沼安二. 内視鏡下生検病理学および胆汁細胞診 A 具体的な手技および基本観察. **胆道疾患を診る医師のための胆道病理テキスト** 262-4, 2015

4. 竹内伸司. 【非小細胞肺癌に対する新規薬剤の開発・導入の現場から】 チロシンキナーゼ阻害薬耐性の克服 HDAC と HSP90. **日本胸部臨床** 74(6): 627-37, 2015

5. 竹内伸司. BIM 遺伝子多型に起因する EGFR-TKI 耐性の治療法開発の現状. **肺癌** 55(6): 941-7, 2015

6. 衣斐寛倫. KRAS 遺伝子変異肺がんに対する治療開発. **最新医学** 70(12): 2506-511, 2015

7. 衣斐寛倫. EGFR 変異肺がんにおける EGFR-TKI 耐性機序と治療戦略. **医学のあゆみ** 252(7): 783-7, 2015

8. 衣斐寛倫. BRAF, KRAS 変異腫瘍に対する戦略，特集：非小細胞肺癌に対する新規薬剤の開発・導入の現場から. **日本胸部臨床** 74(6): 638-47, 2015

9. 衣斐寛倫. 肺がんにおける血管新生阻害療法，がん微小環境と標的治療実験，がん幹細胞ニッチ，間質，血管・リンパ管新生の理解に基づく 21 世紀の新たながん治療. **実験医学増刊** 33(5): 168-73, 2015

10. 谷本梓, 矢野聖二. 抗がん剤の副作用と支持療法 ALK 阻害薬. **日本臨牀** 73(増刊 2): 256-60, 2015

＜学会発表・国内＞

1. 日本癌学会シンポジウム 矢野聖二. 肺がんの分子標的薬耐性とその克服. 2015 年 1 月 金沢

2. 第 25 回日本頭頸部外科学会 矢野聖二. 分子標的薬によるがん治療ー最新の動

向一. 2015 年 1 月　大阪

3. 第 112 回日本内科学会講演会　毛利久継, 谷本　梓, 小谷　浩, 南條成輝, 竹内伸司, 衣斐寛倫, 大坪公士郎, 矢野聖二. 当院における外来化学療法の現況. 2015 年 4 月　京都

4. 第 112 回日本内科学会講演会　北井秀典, 谷本　梓, 小谷　浩, 南條成輝, 竹内伸司, 衣斐寛倫, 毛利久継, 大坪公士郎, 矢野聖二. 当院の外来化学療法室における過敏症と infusion reaction の発言頻度と実態. 2015 年 4 月　京都

5. 第 55 回日本呼吸器学会学術講演会　竹内伸司, 矢野聖二. 発光イメージング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. 2015 年 4 月　東京

6. 第 55 回日本呼吸器学会学術講演会　衣斐寛倫. Treatment strategy to maximize efficacy of FGFR tyrosine kinase inhibitor for lung cancer cells harboring FGFR1 amplification. 2015 年 4 月　東京

7. 第 55 回日本呼吸器学会学術講演会　南條成輝, 矢野聖二. EML4-ALK 融合遺伝子肺癌株の癌性胸水・脳転移・骨転移の *in vivo* イメージングモデル. 2015 年 4 月　東京

8. 第 55 回日本呼吸器学会学術講演会　谷本　梓, 山田忠明, 南條成輝, 竹内伸司, 衣斐寛倫, 矢野聖二. BIM 遺伝子多型を有する EGFR 遺伝子変異肺癌に対する次世代 EGFR 阻害薬の効果と HDAC 阻害薬の有用性. 2015 年 4 月　東京

9. 第 101 回日本消化器病学会総会　大坪公士郎, 毛利久継, 矢野聖二. 非アルコール性早期慢性膵炎における画像診断と予後に関する検討. 2014 年 4 月　仙台

10. 第 101 回日本消化器病学会総会　毛利久継, 大坪公士郎, 山下　要, 安本和生, 矢野聖二. 当科における切除不能進行膵癌に対する FOLFIRINOX 療法の検討. 2014 年 4 月　仙台

11. 第 19 回日本がん分子標的治療学会学術集会　矢野聖二. 分子標的薬の耐性機構. 2015 年 6 月　松山

12. 第 19 回日本がん分子標的治療学会学術集会　谷本　梓, 山田忠明, 南條成輝, 竹内伸司, 衣斐寛倫, 矢野聖二. BIM 遺伝子多型を有する EGFR 遺伝子変異肺癌に対する次世代 EGFR 阻害薬の効果と HDAC 阻害薬の有用性. 2015 年 6 月　松山

13. 第 46 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. EUS-FNA 検体を用いた膵癌における上皮間葉転換（EMT）マーカーに関する検討. 2015 年 6 月　名古屋

14. 第 30 回日本肺癌学会ワークショップ　矢野聖二. 肺がんのバイオマーカー. 2015 年 6 月　沖縄

15. 第 13 回日本臨床腫瘍学会学術集会　矢野聖二. Circumvention of TKI resistance with HDAC inhibitors in lung cancer. 2015 年 7 月　札幌

16. 第 13 回日本臨床腫瘍学会学術集会　衣斐寛倫. Lack of association between the BIM delection polymorphism and the risk of lung cancer with and without EGFR mutations. 2015 年 7 月　札幌

17. 第 13 回日本臨床腫瘍学会学術集会　南條成輝, 矢野聖二. EGFR-TKI 治療における初期耐性，獲得耐性のバイオマーカーとしての血液中 HGF 測定の有用性(多施設共同前向き観察研究). 2015 年 7 月　札幌

18. 第 13 回日本臨床腫瘍学会学術集会　北井秀典, 谷本　梓, 小谷　浩, 南條成輝, 竹内伸司, 衣斐寛倫, 毛利久継, 大坪公士郎, 矢野聖二. 肝腫瘍生検により診断した膠芽腫遠隔転移再発の一例. 2015 年 7 月　札幌

19. 第 74 回日本癌学会学術総会　山田忠明, 藤田直也, 矢野聖二. CREB シグナルを介した Aki1 を標的とする悪性胸膜中皮腫の制御. 2015 年 10 月　名古屋

20. 第 74 回日本癌学会学術総会　衣斐寛倫. 分子標的治療に初期耐性を示す腫瘍に対する原因の解析と新たな治療開発. 2015 年 10 月　名古屋

21. 第 90 回日本消化器内視鏡学会総会　大坪公士郎, 毛利久継, 山下　要, 安本和生, 池田博子, 矢野聖二. 膵癌における EUS－FNA を用いた上皮間葉転換（EMT)マーカーに関する検討. 2015 年 10 月　東京

22. 第 53 回日本癌治療学会学術集会　山下　要, 小谷　浩, 衣斐寛倫, 谷本　梓, 足立雄太, 谷口寛和, 北井秀典, 西山明宏, 渡辺一孝, 南條成輝, 竹内伸司, 毛利久継, 大坪公士郎, 矢野聖二. Cisplatin/Irinotecan 併用療法が有効であった盲腸原発神経内分泌癌多発肝転移の３例. 2015 年 10 月　京都

23. 第 53 回日本癌治療学会学術集会　毛利久継, 大坪公士郎, 山下　要, 谷口寛和, 足立雄太, 谷本　梓, 北井秀典, 小谷　浩, 西山明宏, 渡邉一孝, 南條成輝, 竹内伸司, 衣斐 寛倫, 山田忠明, 矢野聖二. 当科における切除不能進行膵癌に対する FORFIRINOX 療法の検討. 2015 年 10 月　京都

24. 第 56 回日本肺癌学会総会　山田忠明, 矢野聖二. 呼吸器がんにおける新規標的

分子 Aki1 の制御法開発．2015 年 11 月　横浜

25. 第 56 回日本肺癌学会総会　南條成輝, 片上信之, 竹内伸司, 衣斐寛倫, 望月早月, 岡田保典, 矢野聖二.　EGFR 変異肺癌の髄膜癌腫症モデルにおける新世代 EGFR-TKI AZD 9291 の有用性．2015 年 11 月　横浜

＜学会発表・国際＞

1. Joint International Symposium on TGF-β Family and Cancer. Yano S. Bone microenvironment confers Hsp90 inhibitor resistance in the metastatic small cell lung cancer. 2015 年 1 月 Tsukuba, Japan

2. The AACR Annual Meeting 2015. Yamada T, Amann JM, Shilo K, Fujita N, Yano S, Carbone DP. Akt kinase-interacting protein1 as a potential therapeutics target in CREB1 signaling in diffuse malignant mesothelioma. 2015 年 4 月 Philadelphia, USA

3. The 16th World Conference on Lung Cancer. (WCLC 2015) Yano S. HDAC inhibitors overcome new generation EGFR-TKI-resistance caused by homozygous BIM polymorphism in EGFR mutant lung cancer. 2015 年 9 月 Denver, USA

4. The 16th World Conference on Lung Cancer. (WCLC 2015) Yamada T, Amann JM, Fukuda K, Takeuchi S, Fujita N, Uehara H, Iwakiri S, Itoi K, Shilo K, Yano S, Carbone DP. Aki1 as a potential therapeutics target in CREB1 signaling in malignant mesothelioma. 2015 年 9 月 Denver, USA

5. The 20th JFCR-International Symposium on Cancer Chemotherapy. (JFCR-ISCC) Ebi H. Combinatorial approach targeting KRAS mutant cancers. 2015 年 12 月 Tokyo, Japan

＜外部資金＞

1. 日本医療研究開発機構　次世代がん研究シーズ戦略的育成プログラム
矢野聖二　研究代表者
分子プロファイリングによる新規標的同定を通じた難治がん治療法開発
（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）　21,000千円

2. 日本医療研究開発機構　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　43,914千円

3. 日本医療研究開発機構　革新的がん医療実用化研究事業
矢野聖二　研究代表者
BIM遺伝子多型陽性癌におけるHDAC阻害薬の耐性克服効果を最適化する薬力学的効果の指標を探索する研究　31,069千円

4. 日本医療研究開発機構　革新的がん医療実用化研究事業
矢野聖二　研究代表者
RET融合遺伝子陽性肺癌に対するアレクチニブの有効性を明らかにする研究
180,000千円

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

6. 日本医療研究開発機構　革新がん医療実用化研究事業
竹内伸司　研究分担者
BIM遺伝子多型に起因する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　1,000千円

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

8. 日本医療研究開発機構　革新的がん医療実用化研究事業
竹内伸司　研究分担者
RET融合遺伝子陽性肺癌に対するアレクチニブの有効性を明らかにする研究
4,000千円

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

10. 若手研究（B）日本学術振興会
福田康二　研究代表者

EGFR変異肺癌のEMTに起因する変異型EGFR選択的TKI耐性克服治療の開発
900千円

11. 共同研究　第一三共株式会社
矢野聖二　研究代表者
胸膜中皮腫に対するAXL阻害薬の治療効果の検討　2,618千円

12. アストラゼネカ研究助成金
矢野聖二
ホモ接合型 BIM 遺伝子多型の EGFR-TKI 耐性克服の開発に関する基礎研究
1,000 千円

13. 中外製薬研究活動助成金
矢野聖二
EGFR 変異肺がんのがん性髄膜炎の治療法確立に向けた基礎的研究活動
1,000 千円

14. 内視鏡医学研究振興財団研究助成金
大坪公士郎
超音波内視鏡下穿刺生検法（EUS-FNA）を用いた膵癌における上皮間葉転換（EMT）の検討と臨床病理学的因子との対比　500 千円

15. 日本イーライリリー株式会社研究助成金
毛利久継
膵癌細胞株における PD-L1 発現　500 千円

16. 金沢大学附属病院臨床研究助成金
衣斐寛倫
KRAS変異肺がんに対するFGFR阻害剤とMEK阻害剤の併用療法　3,500千円

17. 日本イーライリリー株式会社研究助成金
山田忠明
KRAS 変異肺がんにおける分子標的薬耐性の克服を目指した研究　500 千円

18. 第 29 回北國がん基金助成金
竹内伸司
肺がんのアポトーシス抵抗性に起因する分子標的薬耐性克服治療の開発
500 千円

19. 平成 27 年度（第 44 回）かなえ医薬振興財団助成金
竹内伸司
BIM 遺伝子多型に起因する次世代型 EGFR-TKI 耐性克服治療の開発
1,000 千円

＜共同研究＞

1. 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
がん研究会がん化学療法センター 基礎研究部　藤田直也
金沢医科大学病理学Ⅰ　清川悦子
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（PEOPLE-J, VICTORY-J）」および「BIM 遺伝子多型陽性癌における HDAC 阻害薬の耐性克服効果を最適化する薬力学的効果の指標を探索する研究（PhD Study）」

2. 国立がん研究センター東病院呼吸器内科　後藤功一
公益財団法人がん研究会有明病院呼吸器内科　西尾誠人
名古屋大学呼吸器内科　長谷川好規
兵庫県立がんセンター呼吸器内科　里内美弥子
国立病院機構九州がんセンター呼吸器腫瘍科　瀬戸貴司
公益財団法人がん研究会がん化学療法センター　片山量平
金沢大学附属病院臨床開発部　村山敏典
金沢大学附属病院先端医療開発センター　今井康人
金沢大学附属病院先端医療開発センター　吉村健一
金沢大学附属病院先端医療開発センター　長瀬克彦
「RET 融合遺伝子陽性肺がんに対するアレクチニブの有効性を明らかにする研究」

3. 北海道大学病院呼吸器内科　大泉聡史
順天堂大学浦安病院呼吸器内科　佐々木信一
大阪府立成人病センター呼吸器内科　熊谷　融
神戸市立医療センター中央市民病院呼吸器内科　片上信之，富井啓介
先端医療センター総合腫瘍科　片上信之
兵庫県立がんセンター呼吸器内科　里内美弥子
名古屋医療センター呼吸器科・臨床腫瘍科　小暮啓人
東京医科大学茨城医療センター呼吸器内科　中村博幸
水戸済生会総合病院呼吸器内科　橋本俊夫
徳島大学病院呼吸器・膠原病内科　西岡安彦
松山赤十字病院呼吸器内科　兼松貴則
久留米大学病院内科学講座 呼吸器・神経・膠原病内科　星野友昭
東京大学大学院医学系研究科ゲノム医学講座　間野博行，曽田　学
「肺がん分子標的薬耐性の分子機構を明らかにする研究」

4. 富山大学大学院医学薬学研究部がん細胞生物学　櫻井宏明
「肺がん細胞の EGFR 阻害剤に対する耐性機構における RSK-EphA2 シグナルの果たす役割」

5. 公益財団法人がん研究会がん化学療法センター　片山量平
「融合遺伝子陽性肺がんにおける Bim 多型と分子標的薬感受性の解析」

6. 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
「肺がん・中皮腫における血管新生阻害薬耐性機構の解析」

7. 北海道大学大学院医学科研究科探索病理学講座　西原広史
金沢大学医薬保健研究域医学系 脳・脊髄機能制御学　中田光俊
「転移性脳腫瘍を制御する研究」

8. Duke-NUS Graduate Medical School Singapore　Associate Professor　Sin Tiong Ong
「Circumvention of targeted drug resistance associated with BIM deletion polymorphism.」

# 中央実験施設

# 中央実験施設

＜研究スタッフ＞

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

## 【 研 究 概 要 】

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

### ＜2015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レセプターNTCPの関与も含めたHBV感染の分子メカニズム解明のため，ツールとしての新規HBVベクターの構築とHBV感染培養細胞系の樹立を進めている。本年は新規に多数樹立したiPS細胞について，これらの中から肝細胞への分化に適しHBV感染効率のよいクローンを得た。このうちのひとつKU3細胞株の肝細胞への分化誘導過程の解析からHBVレセプターNTCPはアルブミンなどの肝細胞特異的遺伝子より早い時期にすでに発現していることがわかった。HBVの感染がより後期で起こることからHBV感染に関わる因子がこの後期に発現する分子であると思われる。今後この系を用いて感染メカニズムの解明およびHBV感染・増殖を阻止する化合物の探索と創薬をめざす。

**5-ALAを用いる光線力学的療法の新たな応用**（遠藤）

低侵襲性のがんの治療法の一つである光線力学的治療（PDT）は最近，その有用性が見直されつつあり，特に腫瘍細胞内でプロトポルフィリンIX（PpIX）に代謝され，光感受性物質として活性化される５-アミノレブリン酸（以下ALA）は新世代の光増感剤として注目を集めている。ALAを用いる光線力学的療法では異なる励起光を照射することでがんの治療（630 nm付近，ALA-PDT）とがん組織の可視化と診断（405-410

nm，ALA-PDD）に使い分けることが可能であり，本邦では ALA は悪性神経膠腫の術中診断に用いることで承認されている。我々は卵巣がん，膵がん，胃がん，大腸がん，虫垂腫瘍等の腹膜播種組織においては ALA や PpIX の膜輸送に関与するトランスポーターである PEPT1 や ABCG2 の発現が蛍光診断の成否に深く関連していることを明らかにした。また，徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部との共同研究により進めている ALA-PDT 効果増強の開発研究ではシッフ塩基 TX-816 の関連化合物を用いた構造活性相関に関する検討結果を基に分子設計を行い有望な誘導体を見出している。今後も多様ながん腫の診断や治療に広く応用可能な ALA を用いる光線力学的療法を確立すべく，さらなる誘導体展開を実施し，より有用なリード化合物の創出を目指す。

**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を発症するだけでなく，排卵過程，卵胞生育過程における卵胞構造の構築などにも異常を示す。一方，BALB/c 遺伝子背景の ADAMTS-1$^{-/-}$マウスは分娩異常を示すが，同マウスの子宮平滑筋ではオキシトシン，プロスタグランジン等に対する収縮応答性や，オキシトシン受容体遺伝子群等の発現が低下していることを見い出している。今回，ADAMTS-1$^{-/-}$マウスにおける分娩異常の原因を明らかにするため，プロスタグランジン合成に関わる COX-2 遺伝子の発現について解析を行った。その結果，妊娠 19 日目分娩前の ADAMTS-1$^{-/-}$子宮組織における COX-2 mRNA 発現量は，野生型マウスと比較して有意に低下していることがわかった。今回の結果から，分娩開始過程において，オキシトシン受容体，Connexin43，COX-2 の一連の収縮調節関連遺伝子群の発現が誘導される過程に，ADAMTS-1 が関わることが示唆された。今後，ADAMTS-1 による分娩時の子宮平滑筋の活性化調節のメカニズムの解明，子宮頚管熟化における役割の解析を行い，ADAMTS-1 の分娩過程全般における役割を明らかにするとともに，ADAMTS-1 によるがん微小環境の制御について解析を行う。

## 【 研 究 業 績 】

### ＜発表論文＞

（共同研究）

1. Yutaka Yonemura, Yoshio Endo, Emel Canbay, Yang Liu, Haruaki Ishibashi, Kazuyoshi Takeshita, Akiyoshi Mizumoto, Masamitu Hirano, Nobuyuki Takao, Masumi Ichinose Yan Li, Shun-ichirou Ogura: Selection of Patients by Membrane Transporter Expressions for Aminolevulinic Acid (ALA)-Guided Photodynamic Detection of Peritoneal Metastases. International Journal of Sciences [ijSciences] Volume 4 – September 2015 (09) DOI: 10.18483/ijSci.802; Online ISSN: 2305-3925; Print ISSN: 2410-4477
2. Matsumoto K, Hagiya Y, Endo Y, Nakajima M, Ishizuka M, Tanaka T, Ogura SI: Effects of plasma membrane ABCB6 on 5-aminolevulinic acid (ALA)-induced porphyrin accumulation in vitro: Tumor cell response to hypoxia. Photodiagnosis Photodiagnosis Photodyn Ther. 2015 Mar;12(1):45-51. doi: 10.1016/j.pdpdt.2014.12.008.

### ＜学会発表＞

1. 黒木和之，志村瞳：iPS 細胞より分化誘導した肝細胞と HBV 感染　第 63 回日本ウイルス学会学術集会　2015 年 11 月 22 日－24 日（福岡，福岡国際会議場）
2. Yoshihiro Uto, Ikkyu Shiba, Yoshio Endo, Hiroshi Sato: Development of antimetastatic hypoxic cytotoxin TX-2282 targeting for Akt/protein kinase B based on TX-2137　日本癌学会シンポジウム / 共同利用・共同研究拠点シンポジウム　2015 年 1 月 21 日（1 月 21 日-22 日）（金沢，石川県立音楽堂交流ホール）
3. 遠藤良夫, 宇都義浩, 安部千秋, 芝一休, 小倉俊一郎, 米村豊：シッフ塩基化合物 TX-816 による 5-アミノレブリン酸を用いるがん光線力学的療法の効果増強　日本薬学会第 135 年会　2015 年 3 月 27 日（3 月 25 日－28 日）（神戸，デザイン・クリエイティブセンター神戸）
4. 國安翔太, 野口智帆, 福島孝士朗, 遠藤良夫, 富永正英, 福本修一, 宇都義浩: 発育鶏卵によるニムフェオール類を含有するオオバギ葉抽出物の放射線防護活性の評価　日本薬学会第 135 年会　2015 年 3 月 27 日（3 月 25 日－28 日）（神戸，デザイン・クリエイティブセンター神戸）
5. 水木佑輔, 玉谷大, 河井智仁, 國安翔太, 遠藤良夫, 大崎智弘, 中島元夫, 石塚昌宏, 田中徹,中馬篤, 山中信康, 宇都義浩：乳腺がんの発育鶏卵およびマウス移植モデルにおける ALA+SDT の抗腫瘍効果の評価　日本薬学会第 135 年会　2015 年 3 月 27 日（3 月 25 日－28 日）（神戸，デザイン・クリエイティブセンター神

戸)

6. 島村義樹, 玉谷大, 水木佑輔, 國安翔太, 遠藤良夫, 大久保敬, 中西郁夫, 久保健太郎, 口池大輔, 乾利夫, 宇都義浩:マウス乳腺がん細胞に対するポルフィリン化合物の超音波増感活性と作用機序の解析 日本薬学会第135年会　2015年3月27日（3月25日－28日）（神戸, デザイン・クリエイティブセンター神戸）
7. 宇都義浩, 玉谷　大, 國安翔太, 水木佑輔, 鈴木拓磨, 島村義樹, 山田久嗣, 遠藤良夫, 大崎智弘, 石塚昌宏, 田中徹, 中馬篤, 山中信康：乳がん移植鶏卵およびマウスモデルを用いたALA+SDTの抗腫瘍作用の評価　第5回ポルフィリンALA学会年会　2015年4月25日（土）－26日（日）（東京, 早稲田大学　西早稲田キャンパス　理工学部・55号館1F大会議室）
8. Yoshio Endo, Uto Yoshihiro, Chiaki Abe, Shun-ichiro Ogura, Yutaka Yonemura, Masashi Kimura : Schiff base derivative TX-816 enhances the effect of photodynamic therapy using 5-aminolevulinic acid　第74回日本癌学会学術総会 2015年10月8日（木）－10日（土）　（名古屋, 名古屋国際会議場）
9. Yoshihiro Uto, Yoshio Endo, Motowo Nakajima : Evaluation of the Sonosensitizing Activities of 5-Aminolevulinic Acid in Breast Tumor-Bearing Chick Embryos and Mice Model　第74回日本癌学会学術総会 2015年10月8日（木）－10日（土）　（名古屋, 名古屋国際会議場）
10. Yutaka Yonemura, Shun-ichiro Ogura, Yoshio Endo, Akiyoshi Mizumoto, Haruaki Ishibashi, Kazuyoshi Takeshita: Detection of peritoneal metastasis by photodynamic diagnosis using aminolevulinic acid　第74回日本癌学会学術総会 2015年10月8日（木）－10日（土）　（名古屋, 名古屋国際会議場）
11. Atsunori Oga, Hideaki Ito, Tomoko Kondo-Furuya, Yoshio Endo, Yutaka Yonemura, Hiroshi Itoh:　Immunohistochemistry, DNA ploidy, and microRNAs in pseudomyxoma peritonei 第74回日本癌学会学術総会 2015年10月8日（木）－10日（土）　（名古屋, 名古屋国際会議場）
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)「マウス分娩過程におけるADAMTS-1の役割の解析」第38回日本分子生物学会年会（2015年12月, 神戸）

＜外部資金＞

1. AMED　肝炎等克服実用化等研究事業 分担：黒木和之
   直接経費：7,600千円
2. 科学研究費補助金（挑戦的萌芽研究）代表：黒木和之
   直接経費：1,200千円

3. 科学研究費補助金（基盤研究Ｃ）代表：遠藤良夫
直接経費：1,400千円

＜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. ヒトがん細胞を用いた低酸素選択的 Akt/MMP 阻害性抗転移剤の開発（徳島大・ソシオテクノサイエンス研究部）（遠藤良夫）
4. 腹膜偽粘液腫の本邦における発生頻度・病態の解明・治療法の開発（NPO 腹膜播種治療支援機構，山口大・大学院・分子病理）（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 23 年度 | 平成 24 年度 | 平成 25 年度 | 平成 26 年度 | 平成 27 年度 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 運営費交付金 | | 564, 308 | 624, 321 | 567, 178 | 589, 380 | 603, 234 |
| 内　訳 | 人件費 | 411, 774 | 475, 998 | 382, 253 | 464, 514 | 433, 247 |
| | 物件費等 | 152, 534 | 148, 323 | 184, 925 | 124, 866 | 169, 987 |

## 科学研究費補助金（間接経費を含む）

（単位：千円）

| 年度 / 研究種目 | 平成 23 年度 | | 平成 24 年度 | | 平成 25 年度 | | 平成 26 年度 | | 平成 27 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 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 新学術領域研究 | 5 | 65, 520 | 5 | 60, 710 | 4 | 41, 600 | 5 | 87, 710 | 3 | 33, 670 |
| 基盤研究（A） | 1 | 14, 560 | 1 | 26, 910 | 1 | 15, 210 | 1 | 14, 560 | 2 | 23, 140 |
| 基盤研究（B） | 7 | 43, 290 | 7 | 35, 620 | 4 | 35, 620 | 5 | 28, 560 | 3 | 19, 110 |
| 基盤研究（C） | 9 | 15, 210 | 9 | 17, 745 | 15 | 25, 805 | 13 | 21, 450 | 12 | 20, 410 |
| 挑戦的萌芽研究 | 4 | 8, 840 | 4 | 4, 810 | 4 | 5, 590 | 6 | 11, 650 | 6 | 12, 090 |
| 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） | 9 | 20, 800 | 9 | 16, 640 | 7 | 15, 210 | 8 | 15, 080 | 8 | 15, 340 |
| 研究活動スタート支援 | 1 | 1, 508 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2, 860 | 3 | 4, 290 |
| 特別研究員奨励費 | 1 | 900 | 1 | 900 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 国際共同研究加速基金 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 14, 300 |
| 最先端・次世代研究開発支援プログラム | 2 | 149, 500 | 2 | 78, 390 | 2 | 75, 390 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 合　計 | 39 | 320, 128 | 38 | 241, 725 | 37 | 214, 425 | 40 | 181, 870 | 38 | 142, 350 |

## 外部資金（間接経費を含む）

（単位：千円）

| 年度 / 研究種目 | 平成 23 年度 | | 平成 24 年度 | | 平成 25 年度 | | 平成 26 年度 | | 平成 27 年度 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 件数 | 金額 | 件数 | 金額 | 件数 | 金額 | 件数 | 金額 | 件数 | 金額 |
| 受託研究 | 7 | 82, 343 | 7 | 123, 460 | 9 | 155, 459 | 10 | 181, 827 | 10 | 367, 280 |
| 受託事業経費 | 2 | 17, 668 | 1 | 16, 600 | 0 | 0 | 2 | 2, 965 | 1 | 2, 500 |
| 補助金 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 14, 500 | 2 | 22, 240 | 1 | 19, 070 |
| 民間等との共同研究 | 5 | 8, 285 | 3 | 6, 570 | 5 | 24, 650 | 7 | 36, 256 | 3 | 10, 240 |
| 寄附金 | 22 | 30, 018 | 16 | 24, 774 | 23 | 32, 635 | 14 | 18, 774 | 18 | 17, 752 |
| 合　計 | 36 | 138, 314 | 27 | 171, 404 | 39 | 227, 244 | 40 | 262, 062 | 38 | 416, 842 |

## 土地・建物

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

# 教 育 活 動

## 大学院生・研究生数

平成 28 年 5 月 1 日現在

| | | | | 先進がんモデル共同研究センター | がん幹細胞研究プログラム | がん微小環境研究プログラム | がん分子標的探索プログラム | がん分子標的医療開発プログラム | 合計（人） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 大学院生 | 医薬保健学総合研究科 | 修士課程 | Ⅰ | | | 1 | | | 24 |
| | | | Ⅱ | | 1 | | 1 | | |
| | | 博士課程 | Ⅰ | | 1 | | | | |
| | | | Ⅱ | | 3 | 2 | 1 | 1 | |
| | | | Ⅲ | 1 | 2 | | 1 | | |
| | | | Ⅳ | 1 | 2 | 2 | 1 | | |
| | 医学系研究科 | 博士課程 | Ⅰ | | | | | | |
| | | | Ⅱ | | | | | | |
| | | | Ⅲ | | | | | | |
| | | | Ⅳ | | 2 | 1 | | | |
| | 自然科学研究科 | 前期課程 | Ⅰ | | 1 | | 2 | | 9 |
| | | | Ⅱ | 1 | 1 | | 2 | | |
| | | 後期課程 | Ⅰ | | | | | | |
| | | | Ⅱ | | | | | | |
| | | | Ⅲ | | 1 | | 1 | | |
| 研究生（特別研究学生含む） | | | | | 2 | | 1 | 2 | 5 |

※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 28 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） |
| | モンゴル科学アカデミー | モンゴル（ウランバートル） |
| | モンゴル国立医科大学 | モンゴル（ウランバートル） |
| | モンゴル国立がんセンター | 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） |
| | 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） |
| | ソウル大学がん微小環境研究センター | 韓国（ソウル） |

# 各種シンポジウム開催状況

## 1. 第3回がんと代謝研究会/共同利用・共同研究拠点ジンポジウム

The 3rd Cancer and metabolism meeting for the study & Joint Usage/Research Center Symposium

**目　　的：**未来のがん治療開発に関する議論を深めることを企図し、共同利用・共同研究拠点の活動の一環として毎年開催している「拠点シンポジウム」を、平成27年度はがんと代謝研究会として共同開催。がん研究者コミュニティの活性化を主要な目的とする。

**日　　時：平成27年7月16日(木)・17日(金)**

**場　　所：石川県立音楽堂交流ホール**

**来場者数：556名（2日間延べ）**

**プログラム：**

**セッション1：中心炭素代謝**
サンペトラ　オルテア（慶應義塾大学医学部）
田沼　延公（宮城県立がんセンター研究所）

**セッション2：低酸素**
原田　　浩（京都大学大学院医学研究科）
山本　雄広（慶應義塾大学医学部）

**セッション3：活性酸素**
西田　基宏（岡崎統合バイオサイエンスセンター生理学研究所）
久下　周佐（東北薬科大学環境衛生学系）

**セッション4：オートファジー**
小松　雅明（新潟大学大学院医歯学総合研究科）
池上　恒雄（東京大学医科学研究所）

**■特別企画**
谷内江　望（東京大学先端科学技術研究センター）
佐々木敦朗（University of Cincinnati, College of Medicine）

**セッション5：最新技術を用いた代謝解析**
曽我　朋義（慶應義塾大学先端生命科学研究所）
松本　雅記（九州大学生体防御医学研究所）
大澤　　毅（東京大学先端科学技術研究センター）

**セッション6：脂質・炎症メディエーター**
大島　正伸（金沢大学がん進展制御研究所）
青木　友浩（京都大学医学部CRESTプロジェクト）

**スイーツセミナー**
杉本　昌弘（慶応義塾大学先端生命研究所）

**■特別講演1**
小川　誠司（京都大学大学院医学研究科）

**ポスターセッション**

**セッション7：発がん・がん抑制シグナルと代謝**
田中　知明（千葉大学大学院医学研究院）
小野寺康仁（北海道大学大学院医学研究科）
藤田　恭之（北海道大学遺伝子病制御研究所）

**セッション8：エピジェネティクス/幹細胞制御**
上田　　潤（中部大学実験動物教育研究センター）
本田　浩章（広島大学原爆放射線医科学研究所）
小出　周平（千葉大学大学院）

**■特別講演2**
末松　　誠（慶應義塾大学医学部）

**ランチョンセミナー**
姜　　文一（HMT）

**セッション9：治療標的**
齋藤　祐介（Baylor College of Medicine）
石井　秀始（大阪大学大学院最先端医療イノベーションセンター）
岡本　康司（国立がん研究センター研究所）

**■指定講演**
佐谷　秀行（慶應義塾大学医学部先端医科学研究所）

## 2. 金沢国際がん生物学シンポジウム

International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa

**目　　的：**金沢大学のみならず北陸におけるがんの基礎的ならびに臨床的研究の一層の発展を図ることを目的とし、がんの分子標的、がんゲノミクス、がんの代謝・栄養をテーマにDuke-NUS Graduate Medical School Singapore から、世界でもトップレベルにあるがん研究者をシンポジストとして迎え開催

**日　　時：**平成27年4月8日(水)
9：30～18：00

**場　　所：**金沢大学附属病院宝ホール

**来場者数：**161名

**プログラム：**

① **セッションⅠ**

David Virshup (Duke-NUS Graduate Medical School, Singapore)

大島　正伸（金沢大学がん進展制御研究所）

Sang Hyun Lee (Duke-NUS Graduate Medical School Singapore)

水腰英四郎（金沢大学医薬保健研究域医学系）

② **セッションⅡ**

Patrick Tan (Duke-NUS Graduate Medical School Singapore)

田嶋　　敦（金沢大学医薬保健研究域医学系）

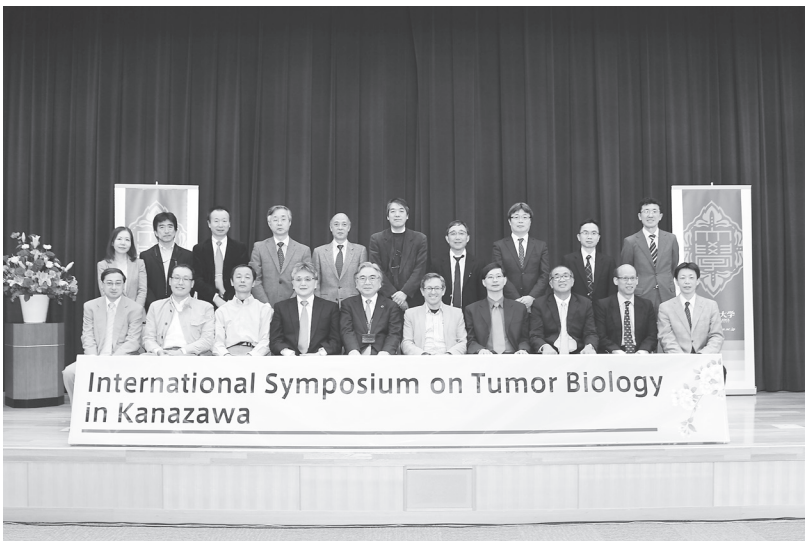
Bin Tean The (Duke-NUS Graduate Medical School Singapore)

③ **セッションⅢ**

平尾　　敦（金沢大学がん進展制御研究所）

板鼻　康至（Duke-NUS Graduate Medical School Singapore）

髙橋　智聡（金沢大学がん進展制御研究所）



## 3. がん進展制御研究所 共同利用・共同研究拠点研究成果報告会

Joint Usage/Research Center Research results report meeting

**目　　的：**共同利用・共同研究拠点としての機能強化および共同研究活動活性化のため、当該年度に採択された共同研究課題の研究代表者数名を招へいし、研究成果報告会を開催するもの。平成27年度は、本研究所拠点事業である「がんの転移・薬剤耐性に関わる先導的共同研究拠点」に関する研究成果を報告。

**日　　時：**平成27年12月7日(月)
13：00～17：20

**場　　所：**金沢大学自然科学系図書館棟
G1階　AVホール

**来場者数：**約80名

**プログラム：**

①「がん抑制遺伝子p53機能喪失を伴った新規悪性胃がん病態モデルの作製と解析」
大木理恵子（国立がん研究センター研究所）

②「がん幹細胞特異的代謝フラックスの解明」
清水　　浩（大阪大学大学院情報科学研究科）

③「転移乳がん幹細胞の制御機構のパスウエイ解析」
下野　洋平（神戸大学大学院医学研究科）

④「抗ガン免疫応答におけるケモカイン受容体XCR1発現樹状細胞およびXCR1の機能的意義の解明」
改正　恒康（和歌山県立医科大学先端医学研究所）

⑤「抗炎症・抗腫瘍化合物の実験動物モデルにおける検証」
永瀬　浩喜（千葉県がんセンター研究所）

⑥「未分化リンパ腫リン酸化酵素阻害薬Alectinibの獲得耐性機序」
木浦　勝行（岡山大学病院）

⑦「ナチュラルキラー細胞によるがん細胞増殖促進に関わる炎症制御機構の解明」
早川　芳弘（富山大学和漢医薬学総合研究所）

## 4. 金沢大学・国立がん研究センター連携協定締結記念キックオフシンポジウム

Kick-off Symposium in Commemoration of the Conclusion of Partnership Agreement between Kanazawa University and National Cancer Center

**目　　的：**本学と国立がん研究センターとの連携協定を記念したキックオフシンポジウムを開催

**日　　時：**平成27年7月2日(木)
14：30～16：30

**場　　所：**石川県政記念しいのき迎賓館2階
(ガーデンルーム)

**来場者数：**約70名

**プログラム：**

① 金沢大学がん進展制御研究所―overview―
大島　正伸（金沢大学がん進展制御研究所　所長）

② 肺がんの新たな分子標的治療開発の試み
矢野　聖二（金沢大学がん進展制御研究所　教授）

③ 臨床応用から予防まで境界を越えた基盤となるゲノム研究
柴田　龍弘（東京大学医科学研究所　教授/国立がん研究センター研究所　分野長）

④ 個々人に適したゲノム医療の実現に向けて
中釜　　斉（国立がん研究センター　理事/研究所長）

⑤ 大腸がんの肝転移機構の解明と、臨床応用の可能性
武藤　　誠（京都大学国際高等教育院　特定教授/金沢大学がん進展制御研究所　特任教授）

金沢大学
KANAZAWA UNIVERSITY

# 金沢大学がん進展制御研究所年報2015年

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