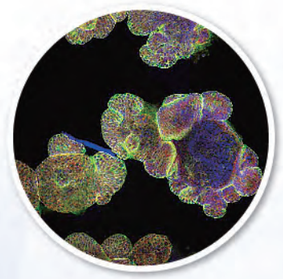
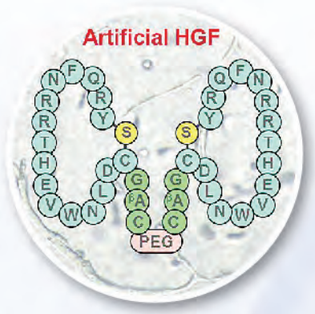
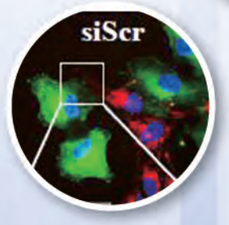
金沢大学
KANAZAWA UNIVERSITY

金沢大学がん進展制御研究所　年報　2016年







金沢大学
がん進展制御研究所
年報 2016年

Annual Report
Cancer Research Institute
Kanazawa University

2016

金沢大学がん進展制御研究所年報2016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/

巻頭言

国立大学の第3期中期目標・中期計画の初年度にあたる 2016 年は，がん進展制御研究所にとっても，第2期共同利用・共同研究拠点活動の初年度の年でもあり，これまでの研究拠点運営を再点検しながら，新たな取り組みにも着手しました。今期共同研究拠点の大きな方向性として，国際研究拠点としての発展を掲げており，2016 年には複数の海外研究機関と様々な交流活動を行いました。4月には，ソウル国立大学微小環境研究所（韓国）の研究者7名を本研究所に招聘し，人材および研究資源の交流を含む連携協定の締結，およびジョイントシンポジウムを開催しました。また，若手を含む本研究所教員を海外派遣して，DUKE-NUS 研究所（シンガポール），復旦大学がん研究所（中国），台湾国家衛生院癌研究所（台湾），韓国国立癌センター（韓国）のそれぞれの研究施設とのジョイントシンポジウムやワークショップ等を開催し，研究交流を深化させました。東アジアの知の拠点形成を目標とする金沢大学にあって，私達がん進展制御研究所も当該地域の重要ながん研究施設とのネットワークを一層強化し，国際研究拠点として発展に向けた基盤形成に繋げたいと考えています。国内においては，女性がん研究者フォーラム（金沢），国際シンポジウム（金沢），北海道大学遺伝子病制御研究所とのジョイントシンポジウム（札幌）開催の他，2017 年2月には初めての試みとして，2016 年度の共同研究課題採択研究グループ（53 件）の代表者全員が発表者として参加する，共同研究拠点シンポジウムを金沢で開催しました。以上の取組みにより，本共同研究拠点をハブとした国内がん研究者による横の繋がりが促進され，新たな共同研究が始まることを期待しています。

一方で，研究所内の取組みですが，2015 年に設置した先進がんモデル研究センターは，国内外から招聘した2名のリサーチプロフェッサーが主宰する研究分野を含めて本格的に稼働を始め，マウスモデルによるがん本態解明を目指す基礎研究の推進，および PDX や GDA などのプレクリニカル動物モデルの開発と応用研究をスタートさせました。さらに，2016 年から始まった卓越研究員制度により新規採用した助教も同センターに配属となり，がんモデル研究領域を代表する研究拠点へ発展させたいと考えています。また，金沢大学ではがん進展制御研究所が参加する，新研究科の設置計画を進めており，2018 年度より研究所教員が専任指導教員となる大学院が発足します。それに向けた準備も現在学内の調整を進めている所です。

以上の取組みにより，がん研究の発展に貢献する共同研究の推進と人材育成を通して国際共同研究拠点としての成長を目指していますが，それを推進する研究所の最も重要な基盤は，各所属研究員が推進する研究にあります。ここに，2016 年度の研究所各研究分野および若手 PI プロジェクトの活動について年報として報告致します。今後とも皆様方の変わらぬご支援を賜りたく，よろしくお願い申し上げます。

金沢大学がん進展制御研究所長　平尾　敦

金沢大学がん進展制御研究所年報２０１６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 …… 9

実験治療研究分野 ……17

上皮幹細胞研究分野……17

がん幹細胞研究プログラム

遺伝子・染色体構築研究分野 ……20

腫瘍分子生物学研究分野 ……25

分子生体応答研究分野 ……31

がん微小環境研究プログラム

細胞機能統御研究分野 ……38

免疫炎症制御研究分野 ……41

腫瘍動態制御研究分野 ……45

がん分子標的探索プログラム

シグナル伝達研究分野 ……52

腫瘍制御研究分野 ……56

機能ゲノミクス研究分野 ……63

がん分子標的医療開発プログラム

腫瘍内科研究分野 ……68

中央実験施設 ……82

新学術創成研究機構若手PI/卓越研究員

分子標的治療開発ユニット……88

上皮可塑性・炎症ユニット……91

ミトコンドリア動態ユニット……94

がん−免疫系相互作用ユニット ……96

がん治療標的探索ユニット……98

基礎統計・教育活動 …… 100

各種シンポジウム開催状況 …… 102

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３年）坂井　絵梨

大学院生（医学博士課程１年）Sauyee Kok

大学院生（医学博士課程１年）山本　大輔，辻　敏克（県立中央病院）

大学院生（自然科学研究科博士前期２年）青木　やよい

技能補佐員　　渡邊　真奈美，津田　理子，定免　由枝（RP 研究分野）

准教授　　Dominic Chih-Cheng Voon（新学術創成研究機構）

助教　　武田　はるな（卓越研究員）

【 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，実際の発がんには染色体不安定性や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。また，今年度から新たに，新学術創成研究機構および卓越研究員による胃がん研究プロジェクトが，当該研究分野と関連しながらスタートした。

＜2016 年の研究成果，進捗状況＞

（１）胃がん・胃炎発症における Nox1/ROS シグナルの役割（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 NF-κB が活性化し，さまざまなシグナルが活性化する。TNF-α依存的に誘導される遺伝子群から，RNAi スクリーニングにより Noxo1 を腫瘍促進因子として同定した。Noxo1 は NOX1 複合体の因子として，活性酸素（ROS）産生に重要な役割を果たす分子である。本課題では，Noxo1 発現が NF-κB に制御されること，また胃炎組織の過形成細胞で誘導され，TNF-α依存的な ROS 産生に必要なことを明らかにした。今後，NOX1/Noxo1 複合体が産生する ROS

による，胃炎にともなう過形成や化生病変形成およびマクロファージ浸潤誘導機構を明らかにする。

（２）miR-135b 発現誘導による炎症発がん促進（Han・Voon）
胃がん・胃炎モデルの解析により，炎症依存的に腫瘍細胞で発現変化する microRNA（miRNA）の中から，腫瘍促進因子の候補として miR-135b に着目して研究を推進している。これまでに，腫瘍細胞における miR-135b の発現がサイトカインに依存すること，それによりがん細胞遊走能が亢進し，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た他，炎症依存的な胃粘膜過形成に必須なことを遺伝学的に明らかにした。

（３）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発生すること，および p53 変異によりオルガノイドによる腺管構造が劇的に変化し，浸潤能力が亢進することを明らかにした。また，大腸がん発生と悪性化に関わる複数のドライバー遺伝子変異の導入により，免疫不全マウスへの移植後に自然転移する悪性オルガノイドの作製にも成功した。

（４）Stat3 による幹細胞再生および発がん促進の検証（大島浩）
Stat3 は IL-6 の下流で活性化する転写因子で，炎症発がんに重要な役割を果たすことが報告されている。そこで，腸上皮細胞の恒常性における Stat3 の作用を，オルガノイド培養により解析した結果，上皮幹細胞がクローナルに増殖する際に Stat3 が必須だが，幹細胞集団の生存・維持には関与しないことを明らかにした。さらに，腸管の adenoma 発生には Stat3 が関与しないことから，Stat3 による発がん促進機構については，再考する必要性が示された。

＜今後の計画＞
2016 年度は，マウスおよびヒト材料を用いたオルガノイド解析を進めながら，共同研究によりゲノム解析やイメージング解析などを進めた。遺伝子改変マウス（GEM）由来組織を免疫正常マウスに移植する，GEM-derived allograft（GDA）モデルはプレクリニカルモデルとしての有用性が認められており，今後は，ヒトの悪性化胃がん・大腸がんを再現するモデルを新たに作製し，それを用いた GDA 研究の推進を目指す。

【研究業績】

＜発表論文・著書＞

（腫瘍遺伝学研究分野　論文・著書）

1. Echizen K, Hirose O, Maeda Y, and Oshima M. Inflammation in gastric cancer: Interplay of the COX-2/prostaglandin E_2 and Toll-like receptor/MyD88 pathways. **Cancer Sci,** 107: 391-397, 2016.
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. Oshima H, Nakayama M, and Oshima M. The role of inflammation responses in mouse gastric tumorigenesis. ***Helicobacter pylori*** **Research**, Eds by Backert S, and Yamaoka Y. Springer, 325-338, 2016.
4. Oshima H, Echizen K, Maeda Y, and Oshima M. The role of chronic inflammation in the promotion of gastric tumorigenesis. **Chronic inflammation**, Eds by Miyasaka M, and Takatsu K. Springer, 173-186, 2016.

（共同研究による共著論文）

1. Madan B, Ke Z, Lei ZD, Oliver FA, Oshima M, Lee MA, Rozen S, and Virshup DM. NOTUM is a potential pharmacodynamic biomarker of Wnt pathway inhibition. **Oncotarget**, 7: 12386-12392, 2016.
2. 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, and Kim DK. The novel oral TGF-β signaling inhibitor EW-7197 eradicates chronic myelogenous leukemia-initiating cells. **Cancer Sci**, 107: 140-148, 2016.
3. Cao D, Jia Z, You L, Wu Y, Hou Z, Suo Y, Zhang H, Wen S, Tsukamoto T, Oshima M, Jiang J, Cao X. 18β-glycyrrhetinic acid suppresses gastric cancer by activation of miR-149-3p-Wnt signaling. **Oncotarget**, 2016 [Epub ahead of print]

（日本語総説）

1. 越前佳奈恵，大島正伸．がんの発生と悪性化を促進するマクロファージ．医学のあゆみ（医歯薬出版），258: 35-40, 2016.
2. 大島正伸．特集「発がん」企画．実験医学（羊土社），34: 2258-2306, 2016.
3. 大島浩子，越前佳奈恵，大島正伸．遺伝子変異と微小環境の相互作用による発がん．実験医学．（羊土社），34: 2294-2299, 2016.

＜学会発表＞

（国際学会・国際シンポジウム）

1. Oshima M. Invasive intestinal cancer by TGF-β suppression in an inflammatory microenvironment. AACR-JCA 10th Joint Conference.（2016 年 2 月 20 日，ハワイ，米国）
2. Oshima M. The roles of COX-2/PGE_2 and TLR/MyD88 pathways in inflammatory microenvironment of gastric cancer. Duke-NUS/Kanazaw Univ CRI Joint Symposium.（2016 年 2 月 25 日，DUKE-NUS, シンガポール）
3. Oshima M. The role of chronic inflammation in gastric cancer development. The 16th Annual Meeting of the Nitric Oxide Society of Japan.（2016 年 5 月 21 日，仙台）
4. Oshima M. Inflammatory microenvironment that accelerates gastrointestinal tumorigenesis. The 9th Annual Meeting of Singapore Gastric Cancer Consortium (SGCC).（2016 年 7 月 21 日，国立シンガポール大学, シンガポール）
5. Oshima M. Driver gene mutations and colon cancer malignant progression. IGM Hokkaido Univ/CRI Kanazawa Univ International Joint Symposium.（2016 年 11 月 21 日，札幌）
6. Oshima M. Interaction of driver gene mutations and inflammation in gastrointestinal cancer promotion. International Symposium of Cancer Center of Excellence-Innovative Research in Cancer Prevention and Treatment.（2016 年 11 月 28 日，台湾国立癌研究所，台北，台湾）
7. Oshima M. The role of chronic inflammation in gastric cancer development. Seoul International Gastric Cancer Forum.（2016 年 12 月 3 日，ソウル大学，ソウル，韓国）
8. Oshima M. Cooperation of driver mutations and microenvironment for colon cancer development. 21th Korea-Japan Cancer Research Workshop.（2016 年 12 月 23 日，国立がんセンター，ソウル，韓国）
9. Oshima H, Nakayama M, Oshima M. Inflammatory microenvironment induces invasive colon cancer in the TGF-β suppressed epithelia. The 19th Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience “Chronic Inflammation”.（2017 年 1 月 20 日，大阪）

（国内学会・シンポジウム）

1. 大島正伸．慢性炎症反応による発がん・進展促進機構．日本がん分子標的治療学会第 11 回トランスレーショナルリサーチワークショップ．（2016 年 1 月 15 日，東京）
2. 青木やよい, 越前佳奈恵, 堀内契吾, 大島浩子, 大島正伸．NF-κB 依存的な Noxo1/ROS シグナルにおける胃がん発生促進．平成 27 年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ．（2016 年 2 月 4 日，大津）【最優秀ポスター賞】
3. 坂井絵梨，中山瑞穂，大島浩子，武藤　誠，大島正伸．K-Ras 変異による大腸がん悪性化機構の解析．平成 27 年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ．（2016 年 2 月 4 日，大津）
4. 中山瑞穂．変異型 p53 の核局在が制御する大腸がんの浸潤・転移．金沢女性がん研究者フォーラム，（2016 年 6 月 21 日，金沢）

5. 大島正伸. 微小環境が促進する消化器がんの発生と悪性化進展. 第 40 回日本リンパ学会総会. (2016 年 6 月 25 日, 東京)
6. 越前佳奈恵, 大島浩子, 大島正伸. 炎症依存的な胃がん発生における Nox1 複合体/ROS の機能解析. 第 69 回日本酸化ストレス学会学術集会 (2016 年 8 月 30 日, 仙台)
7. 青木やよい, 越前佳奈恵, 堀内契吾, 大島浩子, 大島正伸. NF-κB 依存的な Noxo1/ROS シグナルにおける胃がん発生促進. 先端モデル動物支援プラットフォーム若手技術講習会. (2016 年 9 月 16 日, 蓼科)
8. 大島正伸. 慢性炎症反応による発がんと悪性化の誘導. 第 89 回日本生化学会大会 (2016 年 9 月 27 日, 仙台)
9. Oshima M. Interaction of genetic alterations and microenvironment during generation of tumor heterogeneity. 第 75 回日本癌学会学術総会 (コアシンポジウム), (2016 年 10 月 6 日, 横浜)
10. Echizen K, Oshima H, Oshima M. Functional and genetic analysis of Noxo1/ROS in inflammation-associated gastric tumor development. 第 75 回日本癌学会学術総会, ((2016 年 10 月 6 日, 横浜)
11. Nakayama M, Sakai E, Echizen K, Oshima H, Han TS, Ohki R, Ochiai A, Voon DC, Taketo M, Oshima M. Nuclear localized mutant p53 causes invasion and metastasis by drastic morphological changes of colorectal tumor gland. 第 75 回日本癌学会学術総会, (2016 年 10 月 6 日, 横浜)
12. Oshima H, Nakayama M, Oshima M. Chronic inflammation and Stat3 in intestinal tumorigenesis. 第 75 回日本癌学会学術総会 (シンポジウム), (2016 年 10 月 7 日, 横浜)
13. Han TS, Voon DC, Oshima H, Oshima M. MicroRNA-135b acts as node of convergence for multiple oncogenic pathways in gastrointestinal carcinogenesis. 第 75 回日本癌学会学術総会 (インターナショナルセッション), (2016 年 10 月 7 日, 横浜)
14. Sakai E, Nakayama M, Oshima H, Oshima M. Malignant progression of colon cancer cells by defined multiple driver gene mutations. 第 75 回日本癌学会学術総会, (2016 年 10 月 6 日, 横浜)
15. Oshima M. Cancer malignant progression and microenvironment. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会 (シンポジウム), (2016 年 10 月 25 日, 札幌)
16. 大島正伸, 中山瑞穂, 坂井絵梨, 大島浩子. ドライバー遺伝子変異によるがんの新規悪性化誘導機構. 第 39 回日本分子生物学会年会 (シンポジウム), (2016 年 12 月 2 日, 横浜)

＜海外セミナー＞

1. Oshima M. Inflammatory Microenvironment that accelerates gastrointestinal tumorigenesis. Cancer Science Institute of Singapore, (2016 年 2 月 24 日, シンガポール)
2. Oshima M. The role of inflammation in gastric and colon cancer development. 延辺大学医学部, (2016 年 7 月 25 日, 延吉, 中国)

3. Oshima M. How to get published your results in the best scientific journal. 復旦大学がん研究所,（2016 年 9 月 7 日，上海，中国）

＜平成 26 年度　外部資金＞

1. 革新的先端研究開発支援事業（AMED-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」　34,500 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」　8,000 千円
3. 基盤研究（C）［研究代表者　大島 浩子］
「新規胃がんモデルの開発による悪性化進展機構の研究」　1,400 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/ROS による胃がん発生機序の解明」
1,600 千円

＜共同研究＞

（海外）

1. Brendan Jenkins,（Hudson Institute for Medical Research, オーストラリア）
「Advanced model research for understanding the molecular pathogenesis of gastric cancer」
JSPS 外国人研究者招へい事業（短期）2016 年 10 月 28 日～12 月 8 日滞在

（国内：共同研究拠点採択課題）

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）
「大腸がんの肝転移を制御する微小環境の可視化」
4. 清末優子（理化学研究所　ライフサイエンス技術基盤研究センター）
「APC 癌抑制遺伝子変異における遺伝子型-表現型相関の分子機構の解析」
5. 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がん微小環境形成に伴う胃がん憎悪化」
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・悪性化における腫瘍血管内皮マーカー発現の時空間的解析」
7.大浜　剛（山口大学共同獣医学部　薬理学）
「胃癌の悪性化における Protein Phosphatase6 の役割の解明」

＜その他＞

1. 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 4 日，金沢）：市民 18 名参加
2. 文部科学省新学術領域研究 学術研究支援基盤形成「先端モデル動物支援プラットフォーム」若手支援技術講習会（平成 28 年 9 月 14 日～17 日，蓼科）主催：全国から大学院生含む若手研究者約 80 名参加
3. 日韓がん研究ワークショップ（平成 28 年 12 月 23 日～24 日，ソウル，韓国）開催（日本側オーガナイザー）：日本側から金沢大学がん進展制御研究所 4 名，国立がん研究センター研究所 5 名，韓国側と合計約 25 名参加

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
特任助教　　西村　建徳
技能補佐員　武　紀代子

＜大学院生＞

博士課程 3 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。先進がんモデル研究ユニットとしては，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。

＜2016 年の研究成果，進捗状況＞

1) セリン・グリシン代謝酵素 MTHFD2 は肺がん細胞の増殖，がん幹細胞の維持に重要であり，gefitinib 耐性がんの新規分子標的候補である

肺がんは，世界的に死亡数が最も多いがんである。一方，分子標的薬 gefitinib に代表されるように，肺がんの臨床は，個別化医療も進んでいる。しかし多くの場合，数年以内に治療に耐性となり不幸な転帰をとるため問題になっている。近年，腫瘍組織内に少数存在するがん幹細胞が，再発や治療抵抗性の原因になっていると考えられつつある。しかし，がん幹細胞を標的とした治療は未だ確立されていない。その原因はがん幹細胞が維持される分子機構が未だ不明な点が多いためと考えられる。特にがん幹細胞の代謝メカニズムは不明である。私たちは，葉酸代謝経路の下流，セリン・グリシン 1 炭素代謝経路に注目した。その中でも，ミトコンドリアに存在する酵素 MTHFD2 は，がん組織に強く発現し，予後の悪い症例の肺がん組織に強く発現している。MTHFD2 をノックダウンすると，肺がんの増殖のみならず，がん幹細胞の性質であるスフェロイド形成能や in vivo における tumor initiating activity が低下した。プリン生合成の過程で，セリン・グリシン 1 炭素代謝経路から 1 炭素が移動する。メタボロームとトランスクリプトーム統合解析により，MTHFD2 をノックダウンさせると，DNA，RNA の骨格であるプリンの量が著明に減少すると共に，セリン・グリシン 1

炭素代謝経路から 1 炭素が移動する反応の手前の前駆体が著明に蓄積していた。さらに, gefitinib に獲得耐性になった肺がん細胞内では MTHFD2 の発現が上昇し, MTHFD2 ノックダウンにより顕著に増殖が抑制され, MHTFD2 依存性になっていた。以上より, MTHFD2 はセリン・グリシン 1 炭素代謝経路内で, がん幹細胞及び薬剤抵抗性のがん細胞のプリン生合成に重要な役割を果たしていることが示唆された。MTHFD2 は, がん細胞とがん幹細胞共通の分子標的と考えられる。

2) Growth differentiation factor (GDF) 15 は乳がん幹細胞の維持に関与する

GDF15 は, TGF ファミリーメンバーの一つであり, がん細胞の増殖や維持に関わることはいくつか報告があるものの, がん幹細胞への関わりについては不明である。がん細胞の浮遊培養系であるスフェロイド形成能は, がん幹細胞の特徴の一つの指標である。私たちは, GDF15 が乳がん患者由来のがん細胞のスフェロイド形成を起こすことを見いだした。一方, TGF にはスフェロイド形成能はほとんど認められなかった。GDF15 は, がん幹細胞性を表す未分化マーカーの Nanog, Sox2, Oct3/4 の発現を蛋白レベルで誘導した。その分子機構を調べるために, GDF15 または TGF 刺激による Smad2/4 及び Smad1/5/8 のリン酸化を調べた。その結果, TGF は強く Smad2/4 のリン酸化を起こしたが, GDF15 による Smad2/4 のリン酸化は非常に弱かった。Smad1/5/8 のリン酸化は, いずれの刺激でも非常に弱かった。一方, GDF15 は強く ERK のリン酸化を起こし, 50 時間と長時間にわたって ERK のリン酸化は持続した。一方, TGF はほとんど ERK のリン酸化を起こさなかった。サイトカインアレイを用いて GDF15 刺激により活性化した ERK の下流で産生されるサイトカインを網羅的に調べたところ, GDF15 そのものの産生が誘導されることがわかった。乳がん組織を用いた GDF15 抗体による免疫染色から, がん組織中における GDF15 の発現パターンはがん組織により様々であり, 多くの症例では一部の細胞のみに限局的に発現していることがわかった。がん組織内を構成するがん細胞のうち, がん幹細胞はごく少数であると考えられていることから, GDF15 ががん幹細胞に強く発現している仮説を支持する結果である。更なる解析により, GDF15 は, オートクライン／パラクラインメカニズムにより, GDF15 を産生誘導し, がん幹細胞の維持に関わっていることが示唆された。

【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

原著論文

1. Miyo M, Konno M, Nishida N, Sueda T, Noguchi K, Matsui H, Colvin H, Kawamoto K, Koseki J, Haraguchi N, Nishimura J, Hata T, Gotoh N, Matsuda F, Satoh T, Mizushima T, Shimizu H, Doki Y, Mori M, Ishii H.: Metabolic Adaptation to Nutritional Stress in Human Colorectal Cancer. Sci Rep. 2016, Dec 7;6:38415. doi: 10.1038/srep38415.（共同研究）

2. Sagara A, Igarashi K, Otsuka M, Karasawa T, Gotoh N, Narita M, Kuzumaki N, Narita M, Kato Y.: Intrinsic resistance to 5-Fluorouracil in a brain metastatic variant of human breast cancer cell line, MDA-MB-231BR. PLoS One, on line publication 10 October 2016. （共同研究）

3. Hibiya S, Tsuchiya K, Hayashi R, Fukushima K, Horita N, Nishimura T, Gotoh N, Okamoto R, Nakamura T and Watanabe M.: Long-term inflammation transforms intestinal epithelial cells of colonic organoids. J Crohns Colitis, on line publication 11 October 2016. （共同研究）

4. Tominaga K, Shimamura T, Kimura N, Murayama T, Matsubara D, Kanauchi H, Niida A, Shimizu S, Nishioka K, Tsuji E, Yano M, Sugano S, Shimono Y, Ishii H, Saya H, Mori M, Akashi K, Tada K, Ogawa T, Tojo A, Miyano S, Gotoh N.: Addiction to the IGF2-ID1-IGF2 circuit for maintenance of the breast cancer stem-like cells. Oncogene, online publication 22 August 2016; doi: 10.1038/onc.2016.293 (分野主体)

5. Sasaki S, Baba T, Nishimura T, Hayakawa Y, Hashimoto S, Gotoh N, Mukaida N.: Intra-bone fibroblasts promote breast cancer bone metastasis by producing connective tissue growth factor/CCN2 under the influence of cancer cell-derived chemokine, CCL4. Cancer Lett, 378, 23-32, 2016. （共同研究）

6. 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, 76, 974-983, 2016. (分野主体)

＜学会発表＞

国際学会

Noriko Gotoh : “Growth factor signaling in cancer stem-like cells and their niche”

The 47th International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund：Current Status and Perspective of Cancer Stem Cell Research

2016 年 11 月　東京 (招待講演)

Noriko Gotoh : “Oncogenic fusion gene CD74-NRG1 confers cancer stem cell-like properties in lung cancer through a IGF2 autocrine/paracrine circuit.”

The international academic seminar of tumor basis and clinical translational medicine in Jinan university

2016 年 10 月　広州，中国 (招待講演)

Noriko Gotoh : “A serine-glycine metabolic enzyme MTHFD2 is a novel molecular target for overcoming resistance in lung cancer” 6th FUSCC-CRIKU Joint Symposium on Tumor Biology

2016 年 9 月　上海，中国 (招待講演)

Noriko Gotoh : “Critical roles of FRS2beta, a feedback inhibitor of ErbB-ERK signaling, for communication between cancer stem cells and their niche during mammary tumorigenesis”

AACR 2016 Annual meeting

2016年9月　ニューオーリンズ，米国

全国学会

後藤典子：”Dependence on the mitochondrial MTHFD2-mediated purine synthetic pathway in lung cancer” 第 39 回日本分子生物学会年会シンポジウム
「革新的技術の融合によるがん治療抵抗性にむけた新しいアプローチ」
2016 年 12 月　横浜 (招待講演)

後藤典子：”セリン・グリシン代謝経路 MTHFD2 による肺がん幹細胞の維持”
第10回メタボロームシンポジウム：疾患マルチオミクス
2016年10月　鶴岡 (招待講演)

後藤典子：”A serine-glycine metabolic enzyme MTHFD2 is a novel molecular target for overcoming resistance in lung cancer”
第 75 回日本癌学会学術総会シンポジウム：「代謝を標的としたがんの制御」
2016年10月　横浜 (招待講演)

後藤典子：”Novel therapeutic strategies to eradicate tumors by targeting cancer stem-like cells”
第 14 回日本臨床腫瘍学会学術集会シンポジウム：日本癌学会・日本臨床腫瘍学会合同シンポジウム
2016 年 7 月　神戸 (招待講演)

後藤典子：「グリシン-セリン代謝経路の創薬標的 MTHFD2」
第 4 回がんと代謝研究会セッション 9：創薬
2016 年 7 月　鹿児島　(招待講演)

後藤典子：「がん幹細胞を標的とするがん根治療法戦略」
第 15 回新規素材探索研究会：特別講演
2016 年 6 月　横浜　(招待講演)

後藤典子：「乳がん，肺がんのがん幹細胞様細胞の分子標的」
第 20 回日本がん分子標的治療学会学術集会ワークショップ：がん幹細胞を標的にした治療
2016 年 6 月　大分　(招待講演)

後藤典子：”Stem cells, progenitor cells and cancer stem cells in breast tissues”
第 89 回日本内分泌学会総会シンポジウム「内分泌器官の組織幹細胞と腫瘍幹細胞」
2016 年 4 月　京都　(招待講演)

後藤典子：「癌幹細胞の幹細胞性維持シグナルと創薬標的」
日本薬学会第 136 回年会シンポジウム：乳癌幹細胞の制御機構と治療への展開
2016 年 3 月　横浜　(招待講演)

中田飛鳥，西村達徳, 町田雪乃, 後藤典子: 第 39 回日本分子生物学会年会「肺腺癌における β カテニンの活性化は EGFR 阻害剤耐性に関与する」平成 28 年 12 月 2 日（横浜，パシフィコ横浜，学会期間：平成 28 年 11 月 31～ 12 月 2 日）(ポスター発表)

中田飛鳥，西村達徳, 町田雪乃, 後藤典子: 第 75 回日本癌学会学術総会 「肺腺癌における β カテニンの活性化は EGFR 阻害剤耐性に関与する」平成 28 年 10 月 6 日（横浜，パシフィコ横浜，学会期間：平成 28 年 10 月 6 ～ 8 日）　(口頭発表)

西村建徳：「新規分子標的，ミトコンドリア内代謝酵素 MTHFD2 の機能解析」第 39 回日本分子生物学会年会シンポジウム　2016 年 12 月　横浜　（ポスター発表）

西村建徳：「新規分子標的，ミトコンドリア内代謝酵素 MTHFD2 の機能解析」第 4 回がんと代謝研究会　2016 年 7 月　鹿児島　（ポスター発表）

西村建徳：「肺腺がんにおける葉酸代謝酵素 MTHFD2 の作用機序」
第 20 回日本がん分子標的治療学会学術集会　2016 年 6 月　大分　（ポスター発表）

＜外部資金＞

1. 後藤典子，基盤研究 B（一般），H27.4.1-29.3.31，代表，13,000 千円
2. 後藤典子，AMED 革新的がん医療実用化研究事業，H28.4.1-29.3.31，代表，26,000 千円
3. 後藤典子，AMED 次世代がん医療創生研究事業，H28.9.1-29.3.31，代表，12,000 千円
4. 後藤典子，基盤研究 B（一般），H28.4.1-29.3.31，分担，150 千円
5. 後藤典子，挑戦的萌芽研究，H26.4.1-28.3.31，代表，2,100 千円
6. 後藤典子，次世代がん研究シーズ戦略的育成プログラム，H26.12.25-28.3.31，代表，　11,730 千円
7. 中田飛鳥，若手研究 B（一般），H27.4.1-29.3.31，代表，3,200 千円

＜共同研究＞

1. 井上純一郎教授　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. 河野隆志分野長　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. 石井秀始教授，森正樹教授　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. 鈴木穣教授　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. Professor Anna Akhmanova,　Utrecht University, オランダ　「MICAL3 の乳がん幹細胞における役割」
6. 北林一生分野長（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. 東條有伸教授，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. Professor Mats Nilsson, Stockholm University, スエーデン，岡本康司分野長（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. Professor Yu Qiang, Genome Institute of Singapore
「Patient-derived in vitro culture system to study molecular mechanism underlying breast

cancer stemness and therapeutic resistance.」

11. 下野洋平准教授，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. 加藤良規准教授，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. 河野晋助教，高橋智聡教授，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」

14. 井上聡教授　（埼玉医科大学ゲノム医学研究センター)「乳がん CAFs 細胞解析」

Research Professor 主宰研究分野

がん進展制御研究所では，金沢大学の戦略的研究プログラム『超然プロジェクト』の支援を受けて，平成27年度より国内外からリサーチプロフェッサーを２名招聘し，「実験治療学研究分野」および「上皮幹細胞研究分野」の２分野を新設しました。それぞれの研究分野には実験室およびオフィススペースを措置し，助教，博士研究員，技術補佐員等を配置した他，競争的研究資金の他に本研究所からの研究費配分等により，平成 28 年度には実質的な研究活動が推進されています。また，それぞれの研究分野は，「先進がんモデル共同研究センター」に所属して，PDX および GEM，GDA などのマウスモデルを用いた基礎研究およびプレクリニカルな応用研究を計画しています。

新設した２研究分野の今年度の研究概要について次頁に報告します。

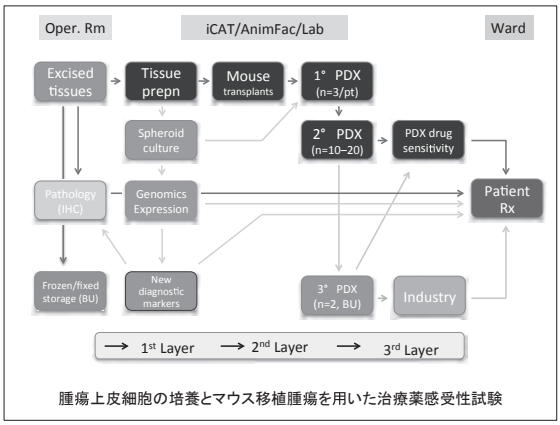
実験治療学研究分野

＜研究スタッフ＞

特任教授　　武藤　誠（京都大学国際高等教育院・特定教授）
特任助手　　北　賢二　　博士研究員　　Mohamed A.E. Ali
技術補佐員　　定免　由枝

【 研 究 概 要 】

固形がんの原発腫瘍の多くは手術で摘出できるが，再発や転移に伴い化学療法や免疫療法が必須になる．しかし多くの治療法の中から患者が感受性を示す有効な方法を予知することはしばしば困難で，新薬の有効性を予測する方法も待望されている。実験治療研究分野では，ヒトの手術摘出腫瘍から培養細胞とマウスへの異種移植の系を確立し，それらを用いて患者の予後を予測し，治療薬への感受性を試験して，得られる情報を直接患者に還元できるシステムの開発を目指している。



腫瘍上皮細胞の培養とマウス移植腫瘍を用いた治療薬感受性試験

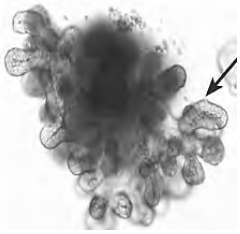
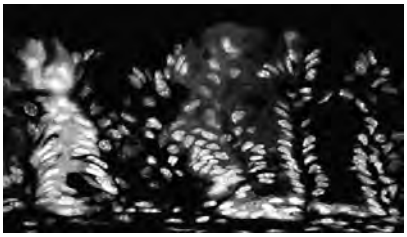
上皮幹細胞研究分野

＜研究スタッフ＞

特任教授　　Nicholas Barker（シンガポール A-STAR 研究所・主任研究員）
助教　　村上 和弘　　特任助手　　北　賢二
技術補佐員　　定免　由枝

【 研 究 概 要 】

生体内の細胞系譜トレーシング法やオルガノイド培養法の研究開発により，Lgr5 を発現する上皮幹細胞の自己複製能や，胃がん，卵巣がん，乳がん幹細胞の制御機構の解明を目指す。この研究を通して，将来は組織幹細胞の再生能力を生かした再生医療や，Lgr5 陽性幹細胞によるがん促進機構の抑制による新しいがんの予防・治療法の開発へと展開したい。

オルガノイド培養法（左）や生体内の細胞系譜追跡（右）技術を開発し，組織幹細胞の本態解明や，正常および疾患における上皮細胞の動態制御を目指した研究を推進している。

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　(H28. 10 より琉球大学へ転出），伊藤千秋（学振 PD）

大学院生

[医薬保健総合研究科博士課程]　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がん未分化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。

＜2016 年の研究成果，進行状況＞

1）栄養センサーシグナルを介したがん悪性化制御機構の解明と治療法の開発

（1）白血病幹細胞の未分化性・治療耐性制御機構の解明

mTOR 複合体 1(mTORC1)は，栄養シグナルに反応し活性化し，蛋白合成やエネルギー代謝調節によってがん細胞の増殖を支える，いわゆる同化促進シグナルである。我々は，以前に Raptor 欠損や FOXO 欠損マウスを用いた研究により，骨髄性白血病における白血病幹細胞は，mTORC1 非依存的に自己複製し，逆に，栄養飢餓によって活性化される異化シグナル分子に依存して未分化性を維持していることを見いだした。そこで, 異化シグナル分子としての FOXO に焦点を当て, ヒト骨髄性白血病(AML)細胞株の CRISPR/Cas9 による FOXO ファミリー（FOXO1, 3, 4）の遺伝子破壊および患者由来白血病幹細胞の FOXO 活性阻害剤による表現型解析を実施した。その結果，FOXO ファミリーは，相互に協調して白血病の生存・増殖に必須の役割を果たしていること，解糖系を中心とした代謝変動が細胞分化に密接に関連していることを見いだした。今後，特定のファミリー分子の組み合わせを考慮しながら，代謝産物と遺伝子機能解析を行い，未分化性制御因子の特定を進める。

一方，Rictor 欠損マウスを用いた解析では，mTORC2 の活性が特定の白血病治療の感受性や悪性化機転において極めて重要な役割を果たしていることを見いだした。さらに，本シグナルの下流分子を対象に CRISPR/CAS9 ライブラリーを作製し，機能分子スクリーニング法を実施した。その結果，メチオニン代謝や脂質代謝制御分子が候補として得られた。本知見は，脳腫瘍をはじめとした他の固形腫瘍にも適応できることが期待され，今後も探索を進める予定である。

（２）悪性脳腫瘍（膠芽腫）の未分化性・治療耐性制御機構の解明

脳腫瘍においては, mTORC1 の負の制御因子である TSC1 欠損膠芽腫モデルを用いて，mTORC1 と悪性化の関連を検討した。その結果，mTORC1 の活性亢進は，①解糖系の亢進，②ミトコンドリア機能の活性化（mitoDNA 増加，OCR 亢進，ATP 増加）とともに，スフィア形成能や同所移植による腫瘍発症能の亢進など，膠芽腫の悪性進展を亢進させることを見いだした。本モデルを用い、1,300 種類の既存薬の効果を解析したところ，13 種の化合物においては，mTOR 活性化細胞に対して、抗腫瘍効果が増強していることを見いだした。その中の 5 化合物では，ミトコンドリア膜電位の変化，酸素消費量の異常，ATP 産生量の減弱が観察されたことから，ミトコンドリア活性阻害が主作用として働いていることを見いだした。この中には，EMT を伴うがん未分化性獲得に寄与する薬剤(nigericin)も含まれていること, 悪性膠芽腫患者由来サンプルにおいて顕著な治療効果を示す薬剤が含まれており，さらに本スクリーニングを継続することにより，新規の抗がん剤の開発につながる可能性が示唆された(Hegazy, AM, JBC, 2016)。

２）造血幹細胞の自己複製調節と発がんの関連について

造血幹細胞の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。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，加齢や炎症など様々なストレスに反応して上昇し，幹細胞機能を抑制することを見いだした。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明らかにした。また，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違いを見いだしたいと考えている。その他，昨年に引き続き，mTORC1 の組織特異的な役割と発がん制御，栄養センサーシグナルとしてのオートファジーに関するプロジェクトを進め，自己複製制御メカニズムの解明に取り組んでいる。

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

悪性神経膠腫の悪性進展制御機構に関わる分子を特定する目的でがんモデルの構築に取り組んだ。ゲノム編集にてヒトアストロサイトに数種類の主なドライバー遺伝子の変異を導入したところ，不死化や増殖能の亢進は観察されたものの，ヒト患者検体由来脳腫瘍細胞と同様な未分化形質や生体内での顕著な造腫瘍能を示すには至らなかった。そこで，膠芽腫幹細胞で高発現を示す約 50 の転写因子を対象に PiggyBac による Tet 誘導的発現システムを構築した。これらの候補分子の中で, スフィア形成, CD133 などの幹細胞マーカー発現，マウス個体での腫瘍形成能を指標に，未分化性形質維持に寄与する分子の特定を進めている。本研究により，脳腫瘍の悪性化メカニズムの必須の分子を特定することにより，将来の新規治療法の開発につなげたい。

【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

（研究室主体）

1. Hegazy AM, Yamada D, Kobayashi M, Kohno S, Ueno M, Ali MA, Ohta K, Tadokoro Y, Ino Y, Todo T, Soga T, Takahashi C, Hirao A. Therapeutic strategy for targeting aggressive malignant gliomas by disrupting their energy balance. ***J Biol Chem.*** 291:21496-21509 (2016)

（共同研究）

2. Baba T, Tanabe Y, Yoshikawa S, Yamanishi Y, Morishita S, Komatsu N, Karasuyama H, Hirao A, Mukaida N. MIP-1 α /CCL3-expressing basophil-lineage cells drive the leukemic hematopoiesis of chronic myeloid leukemia in mice. ***Blood.*** 127:2607-17 (2016).
3. Matsushita T, Le Huu D, Kobayashi T, Hamaguchi Y, Hasegawa M, Naka K, Hirao A, Muramatsu M, Takehara K, Fujimoto M. A novel splenic B1 regulatory cell subset suppresses allergic disease through phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway activation. ***J Allergy Clin Immunol.*** 138:1170-1182 (2016)
4. 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. Novel oral transforming growth factor-β signaling inhibitor EW-7197 eradicates CML-initiating cells. ***Cancer Sci.*** 107:140-8 (2016)

（総説）

1. Naka K., Hirao A: Regulation of Hematopoiesis and Hematological Disease by TGF-b Family Signaling Molecules. Cold Spring Harbor Laboratory Press (2016)
2. Hirao A. Cooperative networks for stem cell homeostasis in normal and malignant hematopoiesis: from metabolism to epigenetics. Int J Hematol. 103:605-6 (2016)
3. 平尾　敦：造血器腫瘍治療薬としてのキナーゼ阻害剤とその耐性機構　日本臨牀 74(8)（通巻 1108 号）366 (2016)
4. 平尾　敦：白血病幹細胞を支える栄養・エネルギー代謝調節シグナル　血液内科 73, 461-466 (2016)

＜学会発表＞

1. Hirao A: Molecular mechanism linking hematopoietic stem cell aging and leukemogenesis. JSPS-NUS SYMPOSIUM, Jan. 14, 2016, Singapore
2. Hirao A: Molecular mechanism linking stem cell aging and tumorigenesis in hematopoiesis. Duke NUS-Kanazawa University Symposium. Feb.25, 2016, Singapore
3. Hirao A: Molecular mechanism linking hematopoietic stem cell aging and leukemogenesis. Fifth JCA-AACR Special Joint Conference on the Latest Advances in Hematological Cancer Research July.13-15, 2016, Urayasu, Japan

4. Hirao A: Molecular mechanism regulating stem cell properties mediated by nutrient signals. 46th International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund Nov.8, 2016, Tokyo
5. Hirao A: Regulation of stem cell properties by nutrient signals in hematopoietic neoplasms. 21st Japan-Korea Cancer Research Workshop Dec.23, 2016, Goyang, Korea
6. 平尾敦：幹細胞の代謝リプログラミングと恒常性～新規創薬ターゲットの発見に向けて～. BIO tech 2016, 平成 28 年 5 月 13 日，東京
7. 平尾敦：がん幹細胞の代謝制御　第74回日本がん分子標的治療学会，平成28年5月31日，別府
8. 平尾敦：幹細胞　第 9 回研修医のための血液学セミナー 平成 28 年 7 月 8 日，大津
9. 平尾敦 : 造血幹細胞の発生・分化におけるオートファジーの役割　第 10 回オートファジー研究会・第 4 回新学術「オートファジー」班会議　平成 28 年 11 月 15 日，越後湯沢
10. 平尾敦：栄養シグナルと幹細胞制御　第 39 回日本分子生物学会年会 平成 28 年 12 月 3 日，横浜
11. 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
12. 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
13. 田所優子：アクチン重合調節を介した幹細胞の自己複製制御機構と発がん, 金沢女性がん研究者フォーラム, 平成 28 年 6 月 21 日, 金沢
14. Tadokoro Y, Hirao A : Self-renewal control and tumorigenesis of hematopoietic stem cells by regulation of actin polymerization. 第 39 回日本分子生物学会年会, 平成 28 年 11 月 30 日- 12 月 2 日, 横浜
15. 小林昌彦, Hegazy Ahmed M, 山田大祐, 平尾敦: 細胞のエネルギーバランスの傷害によるグリオーマの悪性化形質を標的とした治療法開発，第 4 回がんと代謝研究会，平成 28 年 7 月 7-8 日，鹿児島
16. Kobayashi M, Hegazy AM, Yamada D, Kohno S, Soga T, Takahashi C, Hirao A: Efficient targeting malignant phenotypes of glioma by disrupting their energy balance, 第 75 回日本癌学会学術総会，平成 28 年 10 月 6-8 日，横浜

＜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」8,0 00 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：新学術領域「オートファジーの集学的研究」（公募）　H28～H29 年度

「幹細胞発生・分化におけるオートファジーチェックポイント機構」3,500 千円
4. 平尾敦：次世代がん医療創生研究事業　H28～H30 年度「代謝シグナルによる未分化性制御機構を標的とした新規がん治療法の開発」27,692 千円
5. 平尾敦：ブリストル・マイヤーズ スクイブ株式会社　教育・研究助成　H28 年度「栄養シグナルによる白血病幹細胞未分化性制御の分子基盤」7,000 千円
6. 平尾敦：藤井節郎記念大阪基礎医学研究奨励会研究助成金　H28 年度 2,000 千円
7. 田所 優子：基盤研究（C）（H28～H30年度）「アクチン重合調節を介した造血幹細胞の自己複製制御機構の解析」1,200千円
8. 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」1,400千 円
9. 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
10. 伊藤千秋：若手研究（B）H28～H30年度「ニトロcGMPのがん幹細胞制御における機能と分子機構の解明」1,100千 円
11. 伊藤千秋：特別研究員奨励費　H28～H30年度「選択的オートファジーによる白血病幹細胞制御機構の解明」900千 円

＜共同研究＞

学内
1. 脳腫瘍幹細胞解析：脳神経外科　中田光俊
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
7. 代謝産物解析：慶應義塾大学　曽我朋義
8. 白血病幹細胞解析：佐賀大学　血液内科　小島研介

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
特任助教　　河野　晋,　　岡田　宣宏(4 月～)
大学院生（博士課程）
村中　勇人, 吉田　晶代, 西本　裕希, 李　鳳凱 (4 月～), Paing Linn（10 月～）
Kulathnga Liyana Arachchillage Nilakshi（4 月～研究生、10 月～正規生）
大学院生（修士課程）
近藤　篤志（～3 月：卒業）, 万　沅松, Nguyen Thi Kem, 鈴木　美砂（4 月～）
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きた。また、本年よりは、がん特異的なゲノム異常に着目し、特定のがんにおいて合成致死性を示す代謝関連遺伝子群を特定することによって新しい創薬標的を見出す試みを開始した。

＜2016 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・ケモカイン発現誘導を介する微小環境への影響であった。

悪性進展モデルの構築と解析

西本らの開発した *p53*$^{-/-}$; *Rb*$^{flox/flox}$ 乳腺培養系を用い、Rb 不活性化によって誘導される乳腺細胞の自己複製亢進というコンテクストにおける RNA-seq 及び lipidomics シグナチャー（マルチオミクス）を決定した。その結果、phospholipid の合成に関わる Kennedy cycle 及び Lands cycle の亢進を示すデータの取得とその原因となる RB 標的の同定に成功した（西本、小野薬品工業との共同研究）。

RB-PGAM 機軸による分化・未分化性制御

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(MEF2A,D, C/EBPα,β, KDM5A)を明らかにした。PGAM1,2 が RB による分化性制御を媒介することの証拠も得た。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、Linn, 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）（村中 submitted)。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去勢抵抗性にどのように関わるのかを解明しつつある（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おり、その POC を得る努力を継続している（河野、第一三共との共同研究)。

RB- IL-6, CCL2 機軸による腫瘍微小環境制御

軟部腫瘍・乳がん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, CCL2 等を同定した。未分化な乳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 re-revised version in prep、李投稿準備中、吉田 revised version submitted)。

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進行している（西本、Kem, 岡田、北海道大との共同研究)。

乳がん腫瘍内不均一性

乳癌は、悪性化に伴い複数のサブクローンが混在する不均一な癌組織を形成する。この不均一性は、薬剤・治療抵抗性を高めることが示唆されており、乳癌治療を困難にしている。我々は、NFYA が上皮間葉転換（EMT）依存的にスプライシングバリアントの発現パターンを変え、サブクローン転換を段階的に制御していることを明らかにした。現在、マウスモデルを用い、サブクローン転換による腫瘍内不均一性形成の解明を目指している（岡田)。

【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

原著論文

（研究室主体）

1. 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,*** 55:1974-1989, 2016.

（共同研究）

1. Hegazy AM, Yamada D, Kobayashi M, Kohno S, Ueno M, Ali MA, Ohta K, Tadokoro Y, Ino Y, Todo T, Soga T, Takahashi C and Hirao A. Therapeutic strategy for targeting aggressive malignant gliomas by disrupting their energy balance. ***J Bio Chem***, 2016 Aug 12. [Epub ahead of print]

（著書・総説）

1. 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***, 8:170-184, 2016.
2. 西本裕希、髙橋智聡. 生体の科学 特集『細胞の社会学―細胞間で繰り広げられる協調と競争』「13. がん細胞社会のなかの多様性・多層性」Vol.67 No. 2 p151-154, 2016 藤田恭之編,松田道行監修 医学書院刊
3. 河野晋. 実験医学 News and Hot Paper Digest 「Nanog がつなぐ脂肪酸代謝と未分化性の関係」Vol.34 No.6 p914-915, 2016 福田真嗣編, 羊土社刊
4. 河野晋、北嶋俊輔、佐々木信成、髙橋智聡. 生化学 『代謝変化とエピジェテックス制御』「RB がん抑制遺伝子産物による細胞未分化性制御」88 巻 3 号 p335-341, 2016.
5. 河野晋. 実験医学 News and Hot Paper Digest「巻き込まれ欠損によって出現した“アキレス腱”は新たな治療標的になる？」Vol.34 No. 16 p2684-2685, 2016 福田真嗣編, 羊土社刊

＜学会発表＞

1. 髙橋智聡. RB がん抑制遺伝子による代謝制御. 金沢大学新学術創成研究機構 がん進展制御研究コアシンポジウム 2016 年 2 月 15 日（金沢/金沢東急ホテル）
2. Kohno S, Kitajima S and Takahashi C. RB function in controlling glycolysis. Keystone Symposia 2016 年 2 月 24 日（Banff, Canada/Fairmont Banff Springs）
3. Muranaka H, Tada H, Hayashi A, Minami K, Kitajima S, Tange S, Suzuki T, Matsuzaka T, Shimano H and Takahashi C. Cooperative roles of Rb and SREBP-1 in controlling fatty acid metabolism and carcinogenesis. Keystone Symposia 2016 年 2 月 23 日（Banff, Canada/Fairmont Banff Springs）
4. 西本裕希, Nguyen T K, 北嶋俊輔, 髙橋智聡. がん抑制遺伝子 RB による細胞

競合制御. 第 5 回細胞競合コロキウム 2016 年 3 月 17 日（札幌/北海道大学医学部学友会館フラテ）

5. Kohno S, Okahashi N, Kitajima S Suzuki S, Tanaka T, Matsuda F, Shimizu H and Takahashi C. Metabolic rewiring in Rb deficient cells during cancer progression. AACR Annual Meeting 2016 2016 年 4 月 17 日（New Orleans USA/Ernest N. Morial Convention Center）
6. 髙橋智聡, 北嶋俊輔, 河野晋. RB がん抑制遺伝子による代謝制御と細胞未分化性. 第68回日本細胞生物学会大会 2016年6月16日（京都/京都テルサ）
7. 河野さん, 髙橋智聡. RB の中心炭素代謝制御機能. 第 4 回がんと代謝 2016 年 7 月 7 日（鹿児島/かごしま県民交流センター）
8. 小林昌彦, Hegazy M A, 山田大祐, 河野晋, 曽我朋義, 髙橋智聡, 平尾敦. mTOR 活性化グリオーマモデルを用いたエネルギー代謝調節制御の解析と新規治療法の開発. 第 4 回がんと代謝 2016 年 7 月 8 日（鹿児島/かごしま県民交流センター）
9. 西村建徳, 中田飛鳥, 堀家慎一, 河野晋, 高橋智聡, 曽我朋義, 東條有伸, 後藤典子. グリシンーセリン代謝経路の創薬標的MTHFD2. 第4回がんと代謝 2016 年 7 月 8 日（鹿児島/かごしま県民交流センター）
10. 西村建徳, 中田飛鳥, 堀家慎一, 河野晋, 高橋智聡, 曽我朋義, 東條有伸, 後藤典子. 新規分子標的､ミトコンドリア内代謝酵素 MTHFD2 の機能解析. 第 4 回がんと代謝 2016 年 7 月 8 日（鹿児島/かごしま県民交流センター）
11. Okada N, Shimazaki M, Yoshikawa K. NFYA is required for cancer heterogeneity. 第 41 回内藤コンファレンス 2016 年 7 月 7 日（札幌/シャトレーゼ ガトーキングダム サッポロ）
12. Muranaka H, Hayashi A, Minami K, Kitajima S, Nishimoto Y, Tange S, Matsuzaka T, Shimano H, Tada H, Takahashi C. Lipidomic profiling of *Rb*-deficient cells identifies new functions of pRb in lipid metabolism. 第 11 回スフィンゴテラピィ研究会 2016 年 7 月 14 日（加賀/ホテルアローレ）
13. Kohno S and Takahashi C. Phosphoglyceratemutases (PGAMs) mediate RB function to control differentiation. Fourth International Rb Meeting 2016 年 9 月 26 日（Hilton Columbus Downtown /コロンバス　オハイオ州）
14. Nishimoto Y, Kitajima S and Takahashi C. The Metabolic Bases for Inflammatory Phenotype Associated with RB-deficiency in Mammary Cells. Fourth International Rb Meeting 2016 年 9 月 26 日（Hilton Columbus Downtown /コロンバス　オハイオ州）
15. 髙橋智聡. RB がん抑制遺伝子による代謝制御. 第 75 回日本癌学会学術総会 2016 年 10 月 6 日（横浜/パシフィコ横浜）
16. 岡田宣宏, 髙橋智聡. NFYA は癌の不均一性構築過程を多段階的に制御する. 第 75 回日本癌学会学術総会 2016 年 10 月 6 日（横浜/パシフィコ横浜）
17. Kobayashi M, Hegazy M A, Yamada D, Kohno S, Soga, T Takahashi C and Hirao A. Efficient targeting malignant phenotypes of glioma by disrupting their energy balance. 第 75 回日本癌学会学術総会 2016 年 10 月 6 日（横浜/パシフィコ横浜）
18. 後藤典子, 西村建徳, 中田飛鳥, 河野晋, 高橋智聡, 曽我朋義, 東條有伸. 肺

がんの耐性克服を目指した新規分指標的：セリン・グリシン代謝酵素 MTHFD2. 第 75 回日本癌学会学術総会 2016 年 10 月 6 日（横浜/パシフィコ横浜）

19. Kohno S, Takahashi C. CONTROL OF GLUCOSE METABOLISM BY RB. Translational research in cancer cell metabolism 2016 年 10 月 5 日（Palacio Euskalduna Jauregia /ビルバオ スペイン）
20. Kohno S, Nakata A, Gotoh N, Kohno T, Hirao A, Kasahara A. MITOCHONDRIAL DYNAMICS AND FUNCTIONS IN LUNG ADENOCARCINOMA CELLS. Translational research in cancer cell metabolism 2016 年 10 月 5 日（Palacio Euskalduna Jauregia /ビルバオ スペイン）
21. Takahashi C. Metabolic regulation by RB tumor suppressor gene. 日仏交流セミナー「癌・疾病における細胞・個体老化」 2016 年 11 月 1 日（京都/コープイン京都）
22. Takahashi C. Metabolic regulation by RB tumor suppressor gene. 2016 International Symposium of Cancer Center of Excellence-Innovative Research in Cancer Prevention and Treatment 2016 年 11 月 28 日（CHANG YUNG-FA FOUNDATION International Convention Center/台北）
23. Nguyen T K, 西本裕希, 髙橋智聡. RB tumor suppressor gene regulates cell competition in mammary epithelial cells. 第 39 回日本分子生物学会年会 2016 年 12 月 2 日（横浜/パシフィコ横浜）
24. Takahashi C. Metabolic regulation by RB tumor suppressor gene. The 1st Tufts University-Kanazawa University Joint Symposumu on Structure and Function of Molecules, Tissues, and Organisms 2016 年 12 月 12 日（Tufts University Medford, /MA, USA）

＜外部資金＞ (2016 年度が含まれる課題)

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. 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
3. 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」　7,000 千円
4. 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」　900 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」1,400 千円
2. 第 8 回北陸銀行若手研究者助成金 H28 年度「RB による代謝リワイヤリングを介した悪性進展制御機構の解明」　850 万円

岡田宣宏
1. 学術研究助成基金助成金　若手研究（B）H27～H28 年度「Cancer heterogeneity 獲得・維持機構における NFYA の機能解明」　1,500 千円

村中勇人
1. 笹川科学研究助成 H28 年度「がん抑制遺伝子 Rb による脂肪酸の質の制御機構及びその役割の解明」　700 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. 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「脂肪酸鎖長の制御による脂質代謝制御機構とその臨床的意義の解明」
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「IRSp53 のがん形成におけるシグナル伝達および代謝における役割」
6. 東京医科歯科大学 味岡逸樹 博士「Rb が制御するニューロン代謝経路の解析」
7. 千葉大学 田中 知明 博士「変異 p53 や p53-Rb/GATA3 ネットワークによる乳癌がん未分化性に関わるメバロン代謝経路の制御機構の解明」
8. 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」
9. 大阪市立大学 山野 荘太郎 博士「Rb/Akt 経路を基軸とした新規多臓器 NET 発がんマウスモデルの開発」

分子生体応答研究分野

＜研究スタッフ＞

教授：向田直史
助教：馬場智久，　佐々木宗一郎
研究補助員：南邦子
大学院生：　田辺和（医薬保健学総合研究科・博士課程）
大学院生：　野阪拓人（福井大・医・大学院生）

【 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。

＜2016 年の成果＞

１）マウス慢性骨髄性白血病（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。このことに基づき，放射線照射後の骨髄移植と CCL3 阻害とを組み合わせた，CML に対する新たな治療法の開発のための基礎的検討を行った。この検討の際に，移植した正常ドナー骨髄由来白血球が，新たに BCR-ABL 遺伝子を発現し，末梢血に増加する，いわゆるドナー細胞由来白血病に類似した病態を示すマウスが出現することを見出した。

２）マウス乳がん細胞株 4T1.3 クローンによる骨転移過程では，ケモカイン CCL4 の作用で，骨内にて増加した線維芽細胞によって産生された結合組織由来増殖因子（CTGF）が，骨内での腫瘍細胞の生存を促進する可能性を明らかにした。さらに，骨内で増加している線維芽細胞が CTGF 以外にも種々の増殖因子を産生することで，骨内の腫瘍細胞の生存維持に働いている可能性を示唆する結果が得られた。

３）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おいて，肺胞マクロファージが増加するとともに，肺の腫瘍内に集積することを明らかにした。さらに，クロドロネートリポソーム気管内投与による，選択的に肺胞マクロファージの枯渇によって，肺転移巣の増大が抑制された。さらに，５－LOX を始めとするアラキドン酸関連代謝酵素の発現が，肺胞マクロファージで選択的に高いことを見出した。

４）マウス乳がん細胞株 4T1 株を乳腺脂肪組織に接種し，腫瘍形成後に切除した時に，5-フルオロウラシルを投与すると，肺における好中球浸潤とともに転移巣の数・

大きさの増大が認められた。抗好中球抗体で好中球を枯渇させると，肺転移巣の増大が抑制されたことから，5-フルオロウラシル投与にて肺内へ浸潤する好中球が転移巣形成過程に密接に関与していることが示唆された。

＜今後の研究計画＞

１）今回認められたドナー細胞由来白血病発症過程について，細胞ならびに分子レベルで解析し，現在ほとんど解析がなされていないドナー細胞由来白血病発症過程の細胞・分子機構を明らかにする。さらに，数物系・中村准教授ならびに北海道大学・長山教授との共同で，数理モデルを利用し，放射線照射後の骨髄移植と CCL3 抑制を組み合わせた治療法の基盤的知見を得る。

２）4T1.3 クローンを骨内に接種時に増加する線維芽細胞での遺伝子発現パターンを，医学系の橋本真一教授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）慶應義塾大学・有田教授との共同で行っているマウス肺転移過程でのアラキドン酸代謝産物の包括的解析を通して，肺転移過程でのアラキドン酸代謝経路の役割を解明する。

４）5-フルオロウラシル投与後の肺転移巣の増大過程の細胞・分子機構を，好中球活性化に焦点を当てて明らかにする。

【 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. Baba T, Tanabe Y, Yoshikawa S, Yamanishi Y, Morishita S, Komatsu N, Karasuyama H, Hirao A, and Mukaida N. MIP-1α/CCL3-expressing basophil-lineage cells drive the leukemic hematopoiesis of chronic myeloid leukemia in mice. *Blood* 2016, 127 (21): 2607-2617. DOI: 10.1182/blood-2015-10-673087
2. Sasaki S, Baba T, Nishimura T, Hayakawa Y, Hashimoto S, Gotoh N, and Mukaida N. Essential roles of the interaction between cancer cell-derived chemokine, CCL4, and intra-bone CCR5-expressing fibroblasts in breast cancer bone metastasis. *Cancer Lett* 2016, 378 (1): 23-32. DOI: 10.1016/j.canlet.2016.05.005.
3. Tanabe Y, Sasaki S, Mukaida N, and Baba T. Blockade of the chemokine receptor, CCR5, reduces the growth of orthotopically injected colon cancer cells via limiting cancer-associated fibroblast accumulation. *Oncotarget* 2016, 7 (30): 48335-48345. DOI: 10.18632/oncotarget.10227.
4. Song Y, Baba T, and Mukaida N. Gemcitabine induces cell senescence in human pancreatic cancer cell line. *Biochem Biophys Res Commun* 2016, 477: 515-519. DOI:

10.1016/j.bbrc.2016.06.063 .

5. Mukaida N and Sasaki S. Fibroblasts - an inconspicuous but essential player in colon cancer development and progression. *World J Gastroenterol* 2016, 22 (23): 5301-5316. DOI: 10.3748/wjg.v22.i23.5301.
6. Mukaida N. CCR5 antagonist, an ally to fight against metastatic colorectal cancer. *Transl Cancer Res* 2016, 5 (S2): S309-312. DOI: 10.21037/tcr.2016.06.36.

他の研究室との共同研究

7. Zhuge F, Ni Y, NagashimadaM, Nagata N, Xu L, Mukaida N, Kaneko S, and Ota T. DPP4-4 inhibition by linagliptin attenuates obesity-related inflammation and insulin resistance by regulating M1/M2 macrophage polarization. *Diabetes* 2016 Oct, 65 (10): 2966-2979. DOI: 10.2337/db16-0317.

＜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-CCR5 interactions have pivotal roles in survival of a breast cancer cell line in osseous environment of mice. 10th AACR-JCA Joint Conference on Breakthroughs in Cancer Research: From Biology to Therapeutics. Feb. 16-20, 2016, Maui, Hawaii.
2. Baba T. CCL3-expressing basophil-like leukemia cells drive the pathogenesis of chronic myeloid leukemia International symposium on tumor biology in Kanazawa Memorial Hall, School of medicine, Kanazawa University, Kanazawa, Ishikawa April 4, 2016
3. Baba T, Tanabe Y, and Mukaida N. CCL3-expressing basophil-like leukemia cells conduct leukemic hematopoiesis in chronic myeloid leukemia. The 5th JCA-AACR special joint conference. July 13-15, 2016, Urayasu, Chiba.
4. Mukaida N, Tanabe Y, and Baba T. Basophil-lineage cells drive the leukemic hematopoiesis of chronic myeloid leukemia in mice by constitutive CCL3 expression. 4th Annual Meeting of the International Cytokine and Interferon Society. Oct. 16 to 19, 2016, San Franscisco.
5. 佐々木宗一郎，馬場智久，向田直史。マウス乳がん細胞の同種同所移植モデルによって明らかとなった，骨転移過程における腫瘍由来 CCL4 の重要性。平成 27 年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ。2016 年 2 月 3 日～4 日。大津。
6. 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方法の開発。平成 27 年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ。2016 年 2 月 3 日～4 日。大津。
7. 向田直史，田辺和，佐々木宗一郎。　がん関連線維芽細胞（CAF）を標的とする治療法の可能性。　第 20 回日本がん分子標的治療学会学術集会。2016 年 5 月 30 日～6 月 1 日。別府。

8. 佐々木宗一郎，馬場智久，向田直史。　乳がんの骨転移過程におけるケモカイン CCL4 と線維芽細胞の関与。　第 25 回日本がん転移学会学術集会・総会。2016 年 7 月 21 日～22 日。米子。
9. 田辺和，馬場智久，向田直史。慢性骨髄性白血病における好塩基球の病態生理学的役割の解明。第 12 回血液学若手研究者勉強会(麒麟塾)。2016 年 7 月 2 日。東京。
10. Sasaki S, Baba T, and Mukaida N. Breast cancer cells derived inflammatory chemokine, CCL4, drive the bone metastasis in a paracrine manner. 第 75 回日本癌学会学術総会。2016 年 10 月 6 日～8 日。横浜。
11. Tanabe Y, Sasaki S, Baba T, and Mukaida N. Blockade of a chemokine receptor, CCR5, reduces colon cancer growth by inhibiting cancer-associated fibroblasts. 第 75 回日本癌学会学術総会。2016 年 10 月 6 日～8 日。横浜。
12. Nosaka T, Baba T, Sasaki S, Nakamoto Y, and Mukaida N. Alveolar macrophages have a crucial role in the lung metastasis.　第 75 回日本癌学会学術総会。2016 年 10 月 6 日～8 日。横浜。
13. Baba T, Tanabe Y, and Mukaida N. CCL3-expressing basophil-like leukemia cells drive leukemia-tropic hematopoiesis in chronic myeloid leukemia.　第 75 回日本癌学会学術総会。2016 年 10 月 6 日～8 日。横浜。
14. 佐々木宗一郎，馬場智久，向田直史。乳癌骨転移における腫瘍由来 CCL4 と骨内 CCR5 発現線維芽細胞の相互作用。第 19 回癌と骨病変研究会。2016 年 11 月 11 日。東京。
15. Mukaida N, Tanabe Y, and Baba T.　Basophil-lineage cell-derived CCL3 drives the leukemic hematopoiesis of chronic myeloid leukemia.　第 45 回日本免疫学会総会・学術集会。　2016 年 12 月 5 日～7 日。那覇。

＜知的財産＞

発明者：馬場智久，向田直史
発明の名称：慢性骨髄性白血病治療剤及び該治療剤をスクリーニングする方法
特願2016-25365　平成28年2月12日

＜外部資金＞

向田直史
1. 三谷研究開発支援財団・研究助成
乳がん骨転移制御分子の同定
（直接経費 1,000 千円）

馬場智久
１．科学研究費・基盤研究（C）（代表）

慢性骨髄性白血病における炎症性ケモカイン CCL3 の病態生理学的役割の解明
（直接経費 1,200 千円，間接経費 360 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 1,700 千円，間接経費 510 千円）

＜共同研究＞
学内
１．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
２．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
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．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

学外
1．北海道大学・電子科学研究所　長山雅晴教授
　新たな抗がん治療法の，数理モデルを用いた基礎的検討
2．慶応義塾大学・薬学部　有田誠教授
　肺転移巣でのアラキドン酸代謝産物の包括的検索
3．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
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．北陸大学・薬学部　村山次哉教授
　膠芽腫細胞でのサイトメガロウイルス感染とケモカイン
6．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
7．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
8．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
9．岡山大学・医歯薬学総合研究科　吉村禎造准教授
　発がん過程におけるケモカインの役割の解析

10．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
11．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　（国際基幹教育院）
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）　佐藤　友美

【 研 究 概 要 】

MMP-2 および MMP-9 は共に IV 型コラゲナーゼ/ゼラチナーゼとしてがんの浸潤・転移に重要な役割を果たすと強く信じられている。膜型マトリックスメタロプロテアーゼ-1（MT1-MMP）は MMP-2 の活性化酵素として同定された。その活性化機構は MMP 阻害因子である TIMP (Tissue Inhibitor of MMP) が関与する極めて複雑・特殊なものであることが明らかとなっている。一方，MMP-9 については，生化学的な解析ではセリンプロテアーゼ，MMP-2，MMP-3 などにより活性化が可能であるが，生理的条件下で細胞レベルで活性化を実現することができなかった。また，潜在型 MMP-9 と TIMP-1 との強固な結合の生理的意義も不明であった。今回，MMP-9 が TIMP-2 を介した MMP-2 活性化とよく似たメカニズムで MT1-MMP/MMP-2 系により活性化されることを明らかにした。

＜2016 年の研究成果，進捗状況と今後の計画＞

MMP-9 活性化メカニズムの解析：

MMP-2，MMP-9 は共に酵素活性を有しない前駆体（潜在型）として正常組織，血液中に豊富に存在する。TIMP は本来 N 末端側ループ構造を介して活性化型 MMP に結合することによりその活性を阻害する。正常組織中の潜在型 MMP-2，MMP-9 は各々 TIMP-２および TIMP-1 と C 末端側ループ構造を介して強く複合体を形成して存在している。この潜在型 MMP と TIMP との複合体形成の生理的意義は長らく不明であったが，MMP-2/TIMP-2 複合体が MT1-MMP と３分子複合体を形成することにより MMP-2 活性化が進行することを見出した（JBC, 1998, Cancer Res. 2008）。潜在型 MMP-9 は TIMP-1 と複合体を形成することから TIMP-1 を含む含む潜在型 MMP-9 受容体を仮定して MMP-9 活性化システムを構築することに成功した。siRNA を用いた解析の結果，ADAM10/ TIMP-1 複合体が潜在型 MMP-9 の受容体となり，この受容体に結合した潜在型 MMP-9 を MT1-MMP/ MMP-2 axis が活性化することを見出した。

また，MMP-9 活性化はコラーゲン分解，転移を亢進することを確認した (Cancer Science, in press)。

JIP3 は Arg と協調して細胞運動を制御することによりがん悪性化に関与する：

c-Jun N-terminal kinase interacting protein 3 (JIP3) (JNK/stress-activated protein kinase-associated protein 1; JSAP1) は MAPK カスケイドの足場タンパクとして c-Src/FAK 複合体と相互作用する。また，ARF6 を介して MT1-MMP の細胞内トラフィッキングにも関与している。JIP3 の浸潤における役割を検討する過程で c-Abl と Abl-related gene(Arg)が JIP3 をチロシンリン酸化することを見出した。リン酸化は c-Abl および Arg の阻害剤 Nilotinib によって阻害された。c-Abl および Arg はがん細胞の浸潤・増殖制御に関わっていることから，JIP3 はこれらの分子と協調して悪政化に関与することが示唆された。

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

マイクロ RNA miR-133a, miR-150-5p のグリオーマ組織での発現を検討し, 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。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結果を得，報告した。（脳外科　中田，Sabit 先生との共同研究）

【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

原著論文

（研究室主体）

Li Z, Takino T, Endo Y, Sato H. Activation of Matrix Metalloproteinase (MMP)-9 by Membrane-Type-1 Matrix Metalloproteinase/MMP-2 axis Stimulates Tumor Metastasis. Cancer Science, in press.

Sakr M, Takino T, Sabit H, Nakada M, Li Z, Sato H. miR-150-5p and miR-133a suppress glioma cell proliferation and migration through targeting membrane-type-1 matrix metalloproteinase. Gene. 587, 155-62. 2016.

（共同研究）

Hirai N, Wakisaka N, Kondo S, Aga M, Moriyama-Kita M, Ueno T, Nakanishi Y, Endo K, Sugimoto H, Murono S, Sato H, Yoshizaki T. Potential Interest in Circulating miR-BART17-5p As a Post-Treatment Biomarker for Prediction of Recurrence in Epstein-Barr Virus-Related Nasopharyngeal Carcinoma. PLoS One. 11(9):e0163609. doi: 10.1371/journal.pone., 2016

＜著書＞

佐藤　博

「エコ実験」羊土社　120-128 頁，2016 年

＜学会発表＞

平成 28 年

佐藤博，滝野隆久

「MMP-9 活性化による浸潤・転移促進」

日本がん転移学会学術集会（平成 28 年 7 月 21 日　米子市）

滝野隆久，堂本貴寛，吉本泰祐，川尻秀一，遠藤良夫，佐藤博

「Jip3 は c-Abl と Arg の基質である」

第 7５回日本癌学会学術総会（平成 28 年 10 月 6 日　横浜）

＜外部資金＞

該当なし

＜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. 下田　将之　（慶應義塾大学医学部病理）
   「腫瘍形成に関わる間質細胞由来メタロテアーゼの機能解析　」
3. 東 昌市（横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科）
   「個々の MMP 活性を選択的に制御する分子の創出とがん悪性進展抑制法の開発」
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低酸素選択的 Akt/MMP 阻害性抗転移剤の開発」
5. 長谷川　正午　（筑波大学医学医療系顎口腔外科学）
   「口腔癌細胞における microRNA-205 の MT1-MMP 制御機構の解明」

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
博士研究員　甄　紅敏
大学院生（博士課程）　Mahib, Muhammad Mamunur Rashid
技術補佐員　櫻井　真由美
技術補佐員　串山　裕子
技術補佐員　細島　祥子（2016 年 11 月～）

【 研 究 概 要 】

近年，アポトーシスとは異なる様々なプログラム細胞死の様式が存在することが明らかになり、その分子機構の解明が進みつつある。我々はカスパーゼ 1 依存性のネクローシス様プログラム細胞死であるパイロトーシスに着目して、その分子機構を解析している。また、この過程でカスパーゼ 1 依存性アポトーシス誘導経路の存在にも気づき、その分子機構についても解析している。また、がん治療を目的としてがん細胞に細胞死を誘導する場合に、アポトーシスを誘導するのとパイロトーシスを誘導するのでは、どちらが効果的かを明らかにすることを目的とした研究も行っている。一方、パイロトーシスに伴い IL-1β の産生が誘導されることが知られているが、我々はビタミン B6 が IL-1β の産生を抑制することを見出し、そのメカニズムを明らかにした。この成果を論文に纏め、発表した。

＜2016 年の研究成果，進捗状況及び今後の計画＞

1) 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用い、shRNA ライブラリースクリーニングにより、複数のパイロトーシスシグナル伝達因子(PYSTs)の候補遺伝子を同定した。さらに、HEK293 細胞を用いた遺伝子再構成系実験で、PYST1 の N 末領域がカスパーゼ 1 と相互作用することを見出した。カスパーゼ 1 と相互作用しない PYST1 変異体を作成する目的で、この領域で表面に露出しているアミノ酸とコンピューターシュミレーションで相互作用に関与すると予測されたアミノ酸（東京大学清水謙太郎教授との共同研究)、

合計 47 か所のアラニン置換を行ったが、結合が有意に失われる PYST1 変異体が得られなかった。引き続き、PYST 立体構造上近接して位置すると予想される複数箇所のアミノ酸を同時に置換した PYST1 変異体を作製中である。

一方、他の研究グループから昨年、Gasdermin D と呼ばれる機能未知の蛋白がカスパーゼ 1 で切断され、その N 末断片が細胞膜に孔を形成し、パイロトーシスを誘導することが報告された。今後は、我々が同定した PYSYs のパイロトーシスにおける役割を解明するとともに、Gasdermin D 依存性パイロトーシスとの関連も明らかにしたい。

2) カスパーゼ-1 によるアポトーシスの誘導とその機序および意義：

Gasdermin D 欠損マクロファージは標準的パイロトーシス誘導刺激による細胞死がわずかに遅延するが、耐性にはならない。我々は Gasdermin D 欠損細胞では、カスパーゼ-1 活性化がアポトーシスを誘導することを見出した。この新規アポトーシス誘導経路の分子機序や意義は明らかではなく、現在それらの解明を試みている。本年、カスパーゼ-1 によるアポトーシス誘導がカスパーゼ-3 に依存することを明らかにした。また、Bid およびカテプシンがカスパーゼ-3 の上流のシグナル伝達分子として本細胞死に関与することが示唆された。今後、カスパーゼ-1 が Bid とカテプシンの活性化に関わる機序を明らかにする。また、生体内において生理的・病的条件下でカスパーゼ-1 誘導性アポトーシスを起こす細胞を探索し、この細胞死経路の意義を明らかにする。

3) がん治療におけるがん細胞死の様式が予後に与える影響の研究：

カスパーゼ 1 依存性パイロトーシスおよびカスパーゼ 8、あるいはカスパーゼ 9 依存性アポトーシスを強制的に誘導しうる腫瘍細胞株を樹立し、腫瘍細胞に異なるカスパーゼによる細胞死を誘導した場合に、腫瘍の退縮や腫瘍免疫にどのように影響するかを解明する研究を行っている。腫瘍細胞株はモデル腫瘍抗原としてオブアルブミンを発現する EG7 細胞を用いているが、昨年度樹立した細胞株は OVA の遺伝子が抜け落ちていることが判明した。そこで、OVA 遺伝子の発現を確認しつつ、全ての細胞株を作成し直し、結果の再現性を確認している。昨年度作成した細胞株では、アポトーシスを誘導した場合に比べ、パイロトーシスを誘導した場合により強い抗腫瘍免疫が誘導されることが示唆された。新たに作成し直した細胞株でも、現時点では n 数が少ないながら、この傾向が再現されている。今後は、腫瘍内浸潤細胞の解析などから、細胞死様式の違いが抗腫瘍免疫応答にどのように影響するかを明らかにしたい。

【 研 究 業 績 】

＜論文発表＞

（研究室主体）

Zhang P, Tsuchiya K, Kinoshita T, Kushiyama H, Suidasari S, Hatakeyama M, Imura H, Kato N, Suda T.: Vitamin B6 prevents IL-1β production by inhibiting NLRP3 inflammasome activation. J Biol Chem. 291:24517-24527, 2016

（共同研究）

Kochi Y, Miyashita A, Tsuchiya K, Mitsuyama M, Sekimizu K, Kaito C. A human pathogenic bacterial infection model using the two-spotted cricket, Gryllus bimaculatus. FEMS Microbiol Lett. 363: fnw163. doi: 10.1093/femsle/fnw163. 2016

（日本語総説）

土屋晃介. “パイロトーシスの分子機構と意義” 実験医学（羊土社）, 34: 1037-1044, 2016.

＜学会発表＞

1. 須田貴司:細胞死研究の潮流. 第 25 回日本 Cell Death 学会　教育講演（東京）2016 年 9 月 10 日
2. 須田貴司:ビタミン B6 の新しい抗炎症作用. 日本 Shock 学会 日本 Cell Death 学会合同シンポジウム（東京）2016 年 10 月 6 日
3. Takashi Suda: ASC: the switcher for apoptosis and pyroptosis. SNU-GCRC & KU-CRI Joint Symposium, Kanazawa, April 4, 2016
4. Miya Yoshino, Akihiko Murata, Mari Hikosaka, Takashi Suda, Shin-Ichi Hayashi: Analysis of the steady-state transport of skin self-antigens in Pynod-Ccr7-double knockout mice. The 24th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages (MMCB2016), Tokyo, June 4-5, 2016
5. Kosuke Tsuchiya: Involvement of the redox master regulator Nrf2 in host defense against Listeria monocytogenes infection” 中国免疫学会第十一届全国免疫学学术大会, 2016 年 11 月 7 日, 中華人民共和国安徽省
6. Shinsuke Nakajima and Takashi Suda: Analysis of immune responses in PYNOD deficient mice. 第 45 回日本免疫学会学術集会（沖縄県宜野湾市）2016 年 12 月 7 日
7. Kosuke Tsuchiya: A role for the redox master regulator Nrf2 in host defense against Listeria monocytogenes infection” 第 45 回日本免疫学会学術集会（沖縄県宜野湾市）2016 年 12 月 7 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 14,200 千円
2. 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 1,200 千円

＜共同研究＞

1. 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」
2. 東京大学大学院農学生命科学研究科　清水 謙太郎 教授「PYST1 とカスパーゼ 1 の相互作用構造予測」
3. 金沢大学医薬保健学総合研究科　和田 隆志 教授、古市 賢吾 准教授「虚血再灌流急性腎障害におけるビタミン B6 の治療効果の検討」
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，闐闐 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」

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
特任助教	佐藤 拓輝	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	原 あすみ		
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 を受容体とし，細胞・組織の 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 系の意義と創薬につながる基礎研究を中心に進めている。本年次，(1) HGF に結合する特殊環状ペプチドを取得し，HGF 阻害の作用メカニズムを明らかにするとともに，HGF-MET 相互作用の構造解明を目指して，結晶化のためのバインダー抗体の取得，AFM による解析を実施した。(2) 悪性黒色腫において, MET 発現が肺転移形成に主要な機能を果たすとともに，細胞自律的で階層的な MET-low→MET-high 発現変化が血管新生を介した腫瘍成長, 転移，薬剤耐性における腫瘍特性の多様性に関与することを明らかにした。(3) RNA ウイルスの感染を模倣する系において MET が自然免疫応答に重要な機能を担うことを明らかにした。

＜2016 年の研究成果, 進行状況＞

1. HGF 阻害特殊環状ペプチドの創製
   HGF に結合・阻害する特殊環状ペプチド（HGF-Inhibitory Peptide: HIP）を取得した。HIP は HGF に高親和性（Kd=0.4 nM）に結合し, HGF-MET 蛋白質間相互作用ならびに HGF による MET 活性化を阻害した（IC_{50}= 0.2 ~ 5.0 nM）。HGF は α 鎖ならびに β 鎖からなり, α 鎖, β 鎖, それぞれが MET 受容体に結合する。すなわち HGF は 2 つのインターフェースを介して MET に結合する。分子内ドメインを用いた解析から, HIP はこれら MET 結合インターフェースに結合しない一方, 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。また, HGF は single-chain HGF（scHGF: 不活性型）として細胞外に分泌され, がん微小環境で two-chain HGF（tcHGF: 活性型）に変換される。HIP は scHGF に結合せず, tcHGF に選択的に結合した。HIP と HGF 複合体の結晶構造解析を進めている。
2. 悪性黒色腫における MET 受容体発現の階層性と腫瘍特性制御の研究
   高転移性メラノーマ細胞を用いて, 転移・腫瘍特性における MET 受容体の意義を調べた。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, 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 細胞はメラニン産生, 高い肺転移能を特徴とし, MET 発現抑制により肺

転移が阻害された。また，MET-high 由来エキソソームを投与すると MET-low 細胞の肺転移が促進され，MET 含有エキソソームが肺転移に関与することが明らかになった。さらに，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 の細胞自律的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，MET 発現の相違が，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。

3. MET を介した自然免疫制御の研究

HGF-MET系の新たな生理機能に迫るために，ゲノム編集技術を用いて，胆管がん由来細胞株においてMET欠損細胞株を樹立した。MET欠損細胞株について，合成2本鎖RNAであるpoly ICを細胞内に導入したところ，MET発現親株（野性型）では自然免疫応答としての炎症性サイトカインTNF α の産生が増加したのに対して，MET欠損細胞では反応性が著明に低下していた。Poly ICの細胞内導入刺激は，RNAウイルス感染を実験的に模倣しており，この結果は，METがウイルスに対する防御機構である自然免疫系において重要な役割を担っていることを示唆している。自然免疫系におけるMETの役割については全く報告がなく，MET欠損マウスの解析結果や疾患の臨床的データにおいても，RNAウイルス感染とMETを結びつける知見は存在しない。

4. HGF-MET 系の構造生命科学

HGF-MET 相互作用の構造は，一部ドメイン間の結晶構造が明らかにされているものの，全体として不明である。HGF は結晶化が極めて難しいタンパク質であることから，モノクローナル抗体を結晶化のためのバインダーとして利用することが考えられる。HGF に対してエピトープの異なるモノクローナル抗体を取得するとともに，two-chain HGF に選択的に結合するモノクローナル抗体を取得した。これらは HGF 単独，あるいは HGF-MET 複合体の結晶化や構造解析に有用と考えられる。また，原子間力顕微鏡（AFM）による HGF-MET 相互作用の解析を実施し，MET 細胞外ドメインの機能について新たな知見を取得した。

＜今後の計画＞

1. 構造生物学を基盤とする 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や原子間力顕微鏡（AFM）による解析を進め，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。
2. 自然免疫制御におけるMETの機能に関する研究: MET欠損株でのMETドメイン変異体による再構成実験により自然免疫系におけるMETの機能を同定する。またマイクロアレイ解析やMET下流のシグナル伝達経路の解析を行うとともに，プライマリー細胞や，ヒトiPS細胞由来の肝細胞を用いて生理的妥当性を検証する。
3. HGF-Inhibitory Peptide のイメージング活用: HGF-Inhibitory Pepotide や MET 結合ペプチドをイメージングツールとして，in vivo における活性型 HGF（tcHGF）の検出，抗腫瘍作用の PK/PD 解析を進める。
4. 人工 HGF の創成: MET 結合環状ペプチドから創成した人工 HGF（人工 MET アゴニスト）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。

【 研 究 業 績 】

＜論文発表＞

原著

（研究室主体）

1. Adachi E, Sakai K, Nishiuchi T, Imamura R, Sato H, Matsumoto K. Cell-autonomous changes in Met receptor expression regulate the growth and metastatic characteristics in malignant melanoma. ***Oncotarget***, 7: 70779-70793, 2016.

（共同研究）

1. 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***, 76: 1506-1516, 2016.

2. Umitsu M, Sakai K, Ogasawara S, Kaneko M, Asaki R, Tamura-Kawakami K, Kato Y, Matsumoto K, Takagi J. Probing conformational and functional states of human hepatocyte growth factor by a panel of monoclonal antibodies. ***Scientific Rep***, 6: 33149, 2016.

3. Sato H, Idiris A, Miwa T, Kumagai H. Microfabric vessels for embryoid body formation and rapid differentiation of pluripotent stem cells. ***Scientific Rep***. 2016; 6: 31063.

4. Tode N, Kikuchi T, Sakakibara T, Hirano T, Inoue A, Ohkouchi S, Tamada T, Okazaki T, Koarai A, Sugiura H, Niihori T, Aoki Y, Nakayama K, Matsumoto K, Matsubara Y, Yamamoto M, Watanabe A, Nukiwa T, Ichinose M. Exome sequencing deciphers a germline MET mutation in familial epidermal growth factor receptor-mutant lung cancer. Cancer Science, in press ***Cancer Science***, in press, 2017.

総説

1. Matsumoto K, Umitsu M, De Silva DM, Roy A, Bottaro DP. HGF-MET in cancer progression and biomarker discovery. ***Cancer Science***, 108: 296-307, 2017.

2. Sato H, Aoki S, Kato T, Matsumoto K. Hepatocyte growth factor. ***Encyclopedia of Signaling Molecules***, 2nd edition. Springer, in press.

3. Cecchi F, Kato T, Lee YH, De Silva DM, Roy A, Matsumoto K, Bottaro DP. The Met/hepatocyte growth factor receptor tyrosine kinase. ***Biochem Soc Trans***, in press.

4. Imamura R, Matsumoto K. Hepatocyte growth factor in physiology and infectious diseases. ***Cytokine***, in press.

＜学会発表＞

1. 松本邦夫. 特殊環状ペプチドによる人工細胞増殖因子の創製. 第 22 回ペプチドフォーラム, （2016 年 3 月 5 日，金沢）

2. Miao Wenyu，酒井克也，小澤直也，伊藤健一郎，菅裕明，松本邦夫: 特殊環状ペプチドからなる人工 MET/HGF 受容体アゴニストの細胞内シグナル・遺伝子発現制御特性. 第 89 回日本生化学会大会，2016 年 9 月 25 日（仙台国際センター・東北大学 仙台市）

3. 酒井克也，伊藤健一郎，鈴木芳典，小澤直也，菅裕明，松本邦夫: 特殊環状ペプチドによる人工 Met アゴニスト. 第 89 回日本生化学会大会，2016 年 9 月 25 日（仙台国際センター・東北大学 仙台市）

4. 足立恵理，酒井克也，今村龍，松本邦夫: B16F10 メラノーマの造腫瘍性/転移性における Met 階層的発現の意義. 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016 年 10 月 8 日（パシフィコ横浜）

5. 宮崎香，小柳潤，佐藤拓輝，宮城洋平. ラミニンγ2 鎖 N 末端活性フラグメントの培養ヒトがん細胞および肺がん組織における産生. 第 75 回日本癌学会学術総会，2016 年 10 月 8 日（パシフィコ横浜）

6. 磯崎英子，市原英基，瀧川奈義夫，松本邦夫，千堂年昭，谷本光音，木浦勝行: EML4-ALK 融合遺伝子陽性肺癌に置ける ALK 阻害剤耐性克服. 第 75 回日本癌学会学術総会，2016 年 10 月 8 日（パシフィコ横浜）（シンポジウム）

7. 海津正賢，有森貴夫，酒井克也，小笠原諭，北郷悠，金子美華，加藤幸成，松本邦夫，高木　淳一: HGF/c-Met シグナリングの解明に向けた二本鎖 HGF の構造決定．第 39 回日本分子生物学会年会，2016 年 12 月 1 日（パシフィコ横浜 横浜市）

8. 今村 龍，Jangphattananont Nawaphat，酒井克也，松本邦夫: Purification and functional analyses of multi-functional cytokine Lect2. 第３９回日本分子生物学会年会，2016 年 11 月 30 日（パシフィコ横浜 横浜市）

9. 松本邦夫: HGF-MET 受容体の制御・構造解析支援と創薬．第 4 回創薬等支援技術基盤プラットフォーム公開シンポジウム，2016 年 12 月 7 日（東京）

10. Kunio Matsumoto: Regulation and probing of HGF-MET by peptide-based technology. The 21st Japan – Korea Cancer Research Workshop，2016 年 12 月 23 日（ソウル）

＜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」（代表）　1,950 千円

2. 松本邦夫： 次世代がん医療創生研究事業（P-CREATE） 「イメージング活用創薬の視点からの異分野技術融合によるシームレスな薬効評価システムの構築と実施」（分担課題）「抗 HGF 特殊環状ペプチドのイメージング活用創薬」　14,917 千円

3. 松本邦夫: 革新的バイオ医薬早出基盤技術開発事業「特殊環状ペプチドを中核とした革新的次世代バイオ医薬品開発の加速」（分担）　3,000 千円

4. 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」　3,360 千円

5. 松本邦夫： 奨学寄附金 フォーデイズ株式会社　3,000 千円

6. 酒井克也: 科学研究費補助金　基盤研究（C）「リガンド受容能不全の変異ペプチドホルモン受容体に対する人工リガンド創製の基盤」（代表）　1,690 千円

7. 佐藤拓輝: 科学研究費補助金　研究活動スタート支援「特殊環状ペプチドをイメージングツールとするがん微小転移・薬剤耐性に関する研究」（代表）　1,470 千円

＜共同研究＞

1. 大阪大学蛋白質研究所 高木淳一教授: HGF-MET 系の構造生命科学に関する研究
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. 広島大学大学院理学研究科 山本卓教授: 遺伝子編集技術による MET 欠損細胞の取得に関する研究
4. 理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター 渡邊恭良部門長・向井英史ユニットリーダー: HGF-MET 系をターゲットとするイメージング診断・創薬の研究
5. 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
6. 九州工業大学情報工学研究院 青木俊介教授: 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
7. 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
8. 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
9. 新潟大学医歯学総合研究科呼吸器内科学 菊池利明教授: MET 変異を介した肺がん形成に関する研究
10. 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
11. 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
12. 大阪大学微生物病研究所 岡田雅人教授: SRC-MET シグナル連携による上皮管腔形成誘導のメカニズムの研究
13. 金沢大学大学院医歯薬総合研究科 石井清朗特任准教授: LECT-2-MET 系を介した転移制御の研究

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　　中里　亮太（H28.5.1～）
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
大学院生（修士課程）鈴木　隆介　　大学院生（修士課程）孫　夢嬌
大学院生（修士課程）池崎　遥奈　　大学院生（修士課程）劉　嘉敏
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）を見出し，そのことを契機とし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, JIP4, 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，メラノーマにおける腫瘍内不均一性に注目した研究に着手した。

＜2016 年の研究成果，進捗状況＞

１．染色体分配における JSAP の役割

これまでの解析から，JSAP タンパク質は細胞分裂期（M 期）で重要な役割を担うことが示唆されている。しかし，その詳細については不明な点が多い。本年は，先ず，Cre-loxP システムにより JSAP1,2 二重欠損が可能なマウス胚性線維芽細胞（MEF）を用いて，分子細胞生物学的手法・免疫染色法による詳細な解析を行った。その結果，遅滞染色体や染色体橋などの染色体異常，及び中心体数異常が認められた。一方，MEF で野生型 JSAP2 を強制発現させた場合にも，染色体異常（遅滞染色体・染色体

橋）が高頻度で観察された。このようなことから，JSAP は染色体分配制御に関わる重要な因子であり, JSAP 機能喪失及び JSAP 発現亢進は染色体不安定性を誘導する可能性が考えられた。

２．がん細胞の浸潤における JSAP の役割

JSAP タンパク質は細胞内輸送システムの制御因子であり，低分子量 G タンパク質 ARF6 との協調的な働きによって細胞質分裂で重要な役割を担うことは報告済みである。また両タンパク質が，がん細胞の浸潤に関与することも示唆されている。そこで本年は，乳癌細胞 MDA-MB-231 を用いて ARF6 ノックダウン（KD）細胞の作製・解析，及び野生型・変異型（JSAP との結合能を欠く）ARF6 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，細胞質分裂と同様，ARF6 との相互作用を通じてがん細胞の浸潤制御に関わることを示す予備的結果が得られた。

３．浸潤性メラノーマ細胞における転写因子 Gli1 の役割とその分子機構

メラノーマにおける腫瘍内の細胞不均一性の形成には，突然変異を伴わない可逆的な表現型の転換“Phenotype switching”が重要な役割を担うと考えられている。近年の研究から，転写因子 MITF は“Phenotype switching”の中心的因子であり，MITF に依存した細胞表現型の転換，いわゆる“MITF rheostat model”が広く受け入れられるようになってきた。一方，転写因子 Gli1 はソニックヘッジホッグや TGF-β などによって活性化され，その異常は様々ながんの発生・進展に関与することが知られている。しかし，その詳細については不明な点が多い。我々は，メラノーマ由来のマウス B16-F10 細胞およびヒト MeWo 細胞を用いて，Gli1 KD 細胞の作製・解析を行った。その結果，Gli1 KD 細胞では，浸潤能の抑制や走化性の低下が観察され，また，E カドヘリンの発現上昇及び特定の上皮間葉転換誘導因子の発現低下も認められた。さらに， マウス尾静脈に注入した B16-F10 細胞の肺転移は，Gli1 KD により抑制された。しかし， MITF 活性および発現量については，Gli1 KD による影響は認められなかった。このような結果から，転写因子 Gli1 はメラノーマにおいて，間葉系様細胞から上皮様細胞への転換阻害および浸潤能の維持に関わる重要な制御因子であり， MITF 非依存的に働くことが強く示唆された。

＜今後の計画＞

１．JSAP1,2 二重欠損あるいは JSAP2 発現亢進によって，染色体異数性が誘発される可能性を検討する。また，中心体数制御の分子機構を明らかにする。

２．JSAP2 KD MDA-MB-231 細胞の作製・解析を行うとともに、MDA-MB-231 細胞以外の浸潤性がん細胞における JSAP2 の役割についても検討する。

３．転写因子 Gli1 による上皮間葉転換誘導因子 Snail1, Twist1, Zeb1 の遺伝子発現調節機構を調べる。

【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

原著

（研究室主体）

なし

（共同研究）

1. Espinoza JL, Nguyen VH, Ichimura H, Pham TT, Nguyen CH, Pham TV, Elbadry MI, Yoshioka K, Tanaka J, Trung LQ, Takami A, Nakao S. A functional polymorphism in the NKG2D gene modulates NK-cell cytotoxicity and is associated with susceptibility to Human Papilloma Virus-related cancers. ***Sci Rep.*** 6: 39231, 2016.
2. Takahashi M, Fukuoka M, Yoshioka K, Hohjoh H. Neighbors' death is required for surviving human adenocarcinoma PC-9 cells in an early stage of gefitinib treatment. ***Biochem Biophys Res Commun.*** 479(2): 393-397, 2016.
3. Nakazato R, Hotta S, Yamada D, Kou M, Nakamura S, Takahata Y, Tei H, Numano R, Hida A, Shimba S, Mieda M, Hinoi E, Yoneda Y, Takarada T. The intrinsic microglial clock system regulates interleukin-6 expression. ***Glia*****,** in press.
4. Takarada T, Nakazato R, Tsuchikane A, Fujikawa K, Iezaki T, Yoneda Y, Hinoi E. Genetic analysis of Runx2 function during intramembranous ossification. ***Development*** 143(2): 211-218, 2016.
5. Takarada T, Ogura M, Nakamichi N, Kakuda T, Nakazato R, Kokubo H, Ikeno S, Nakamura S, Kutsukake T, Hinoi E, Yoneda Y. Upregulation of Slc38a1 gene along with promotion of neurosphere growth and subsequent seuronal specification in undifferentiated neural progenitor cells exposed to theanine. ***Neurochem Res.*** 41(1-2): 5-15, 2016.

著書

1. Yoshioka, K. Commentary: Critical role of JSAP1 and JLP in axonal transport in the cerebellar Purkinje cells of mice. ***J Neurol Neuromedicine*** 1(8): 19-21, 2016.

＜学会発表＞

（国際シンポジウム）

1. Yoshioka, K. Role of scaffold protein JSAP in cancer. The 3rd International Symposium on Viral Hepatitis.（2016 年 6 月 28 日，中国・成都）
2. Yoshioka, K. Role of JSAP in mitosis and cancer. 6th FUSCC-CRIKU Joint Symposium on Tumor Biology（2016 年 9 月 7 日，中国・上海）

（国内学会）

１．Gunarta IK, Yoshioka K.
Role of the Gli1 transcription factor in melanoma metastasis.
第 75 回日本癌学会学術総会，2016 年 10 月 7 日，横浜

２．Nakazato R, Yoshioka K.
Role of JSAP in cell division control and cancer.
第 75 回日本癌学会学術総会，2016 年 10 月 8 日，横浜

＜外部資金＞

１．科学研究費補助金 基盤研究（C）（研究代表者：善岡 克次）「JSAP による細胞内輸送制御の破綻に起因する神経細胞死と染色体分配異常の分子機構」1,200 千円

２．日本学術振興会 二国間交流事業 共同研究（研究代表者：善岡 克次）「肝細胞癌における足場タンパク質 JLP の役割とその分子基盤の解明」2,000 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」1,000 千円

＜共同研究＞

１．共同研究者：北條 浩彦（国立精神・神経医療研究センター）
「早期薬剤耐性獲得に関わるシグナル伝達経路の解析」

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：Tsendsuren Oyunsuren（モンゴル科学アカデミー）
「肝細胞癌における足場タンパク質 JSAP の役割とその分子基盤」

５．共同研究者：Davaakhuu Gantulga（モンゴル科学アカデミー）
「がんの発生・悪性化における足場タンパク質 JLP の役割とその分子基盤」

腫瘍制御研究分野

＜研究室メンバー＞(2016 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, 石井浩子(~3 月)
大学院博士課程: 金子真美(先進総合外科学;~3 月), 北村祥貴(先進総合外科学),
下崎真吾(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(整形外科学), 竹中 哲(消化器・腫瘍・再生外科学),
Dilireba Bolidong(10 月~)
大学院修士課程: 佐々木規雄(保健学系;~3 月), 上原将大(医学系)
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(厚生連高岡病院外科), 金子真美(石川県立中央病院外科 4 月~)

【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, 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, 基礎と臨床を関係づけるかたちの研究を指向している。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ために共同研究を進めている。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学内外の共同研究や外科系大学院の学位研究課題として継続している。

1. 大腸がんの Wnt 経路研究から消化器がんの分子病理学的特性の研究へのシフト

Wnt 経路のがん化作用を理解するため, 2000 年前後より大腸がんの腫瘍−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。一連の成果は評価が高い国際誌に掲載された。しかし, その引用回数(インパクト)は低く, 成果の臨床応用には程遠い状況であり, 最近, 方向を変えつぎの研究に着手した。

(1) Wnt 経路と細胞分裂過程における核膜孔複合体因子(nucleoporins: Nups)の作用:

β-カテニンの核移入は Wnt 経路活性に必須である。核局在構造を持たない β-カテニンの核移入の仕組みを明らかにするために, 本学 Wong 教授とともに核−細胞質間分子移送を担う Nups の検索を始めた。これまでに, 大腸がんでは特定の Nup が β-カテニンや Tcf7L2 の核内発現に作用することを見出した。一方, がん細胞の核分裂のときにある種の Nup が中心小体や紡錘体に局在を変え, 核分裂崩壊(mitotic catastrophe)を回避することにより, がん促進的に作用する。この過程に後述の GSK3β が協働することを見いだした。

(2) 質量分析による大腸がん診断法開発の試み:

山梨大学: 竹田 扇教授らが開発した大気圧イオン化法−質量分析を用いて, 2014 年より, 大腸がん迅速診断法開発の基礎検討を開始した。実際には, 大腸組織検体の質量分析パターンをもとに特有の統計解析手法により非がん/がんの判別(診断)システムと, 生体分子の発現量を解析することでがん病態理解の基盤を構築する。この目的で, 同大解剖学と当研究分野を主体に本学消化器外科学, 石川県立中央病院外科と共同研究を進めている。

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，同経路の抑制因子と認識されている GSK3β が固有の分子経路を誘導して，がんのおもな悪性形質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動物腫瘍で実証した。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，金沢医科大学総合医学研究所などと連携し，GSK3β の「がん病態促進作用」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（UMIN000005111，000005095）。前者の結果は修正投稿の審査中である（2016 年 12 月現在）。

がんにおける GSK3β 生物学を深く理解するため，がん固有の糖代謝改変（Warburg 効果）に関わる触媒酵素やがん促進性自食作用に着目して大腸がんの機能解析を進め，新しい知見が得られつつある。また，抗がん剤獲得耐性化膵がん細胞モデルや患者腫瘍由来の膠芽腫スフェアを対象に，GSK3β によるがんの浸潤や幹細胞形質と治療耐性の連関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，ヨード不染で診断される食道発がん初期病巣の発生機構と治療，予防に関して，がん代謝の視点から研究を計画した。

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，診断と治療に応用することを目的に，数名の外科学大学院生と共同研究員が継続している。2016 年には，進行再発大腸がんの化学療法効果予測や予後因子としての LINE-1 メチル化の有用性を明らかにして，報告した（BMC Cancer 2016）。

4. ヒト消化管がん組織検体資源化と研究利用

がんの生物学的解析で観察される現象を実際の病巣で検証する目的で，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て現在に至っている。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，病態進行の分子機構を明らかにしてきた（J Clin Invest 2016, Oncogene 2015, Gastroenterology 2011, Clin Cancer Res 2010, Gastroenterology 2010）。

【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. Matsuda Y, Ishiwata T, Yoshimura H, Yamahatsu K, Minamoto T, Arai T. Nestin phosphorylation at threonies 315 and 1299 correaltes with proliferation and metastasis of human pancreatic cancer. *Cancer Sci*, accepted.
2. Kaneko M, Kotake M, Bando H, Yamada T, Takemura H, Minamoto T. Long interspersed nucleotide element-1 methylation: a determinant of response to chemotherapy and prognosis in advanced-stage colorectal cancer. *BMC Cancer* 16 (1): 945, 2016.
3. Shimozaki S*, Yamamoto N, Domoto T*, Nishida H, Hayashi K, Kimura H, Takeuchi A, Miwa S, Igarashi K, Kato T, Aoki Y, Higuchi T, Hirose M, Hoffman RM, Minamoto T, Tsuchiya H. Efficacy of glycogen synthase kinase-3β targeting against osteosarcoma via activation of β-catenin. *Oncotarget* 47 (7): 77038-51, 2016. *equal contribution.
4. Menheniott TR, O'Connor L, Chionh YT, Däbritz J, Scurr M, Rollo BN, Ng GZ, Jacobs S, Catubig A, Kurklu B, Mercer S, Minamoto T, Ong DE, Ferrero RL, Fox JG, Wang TC, Sutton P, Judd LM, Giraud AS. Loss of gastrokine-2 drives premalignant gastric inflammation and tumor progression. *J Clin Invest* 126 (4):1383-400, 2016.

著書・総説

5. Domoto T, Pyko IV, Furuta T, Miyashita K, Uehara M, Shimasaki T, Nakada M, Minamoto T. Glycogen synthase kinase 3β is a pivotal mediator in cancer invasion and resistance to therapy. *Cancer Sci* 107 (10): 1363-72, 2016*. *Highlighted in Cover and In This Issue.

＜学会発表＞

国内学会

1. Firli R. P. Dewi, Takahiro Domoto, Masaharu Hazawa, Akiko Kobayashi, Toshinari Minamoto, Richard W. Wong. Down modulation of glycogen synthase kinase (GSK)-3β disrupts Translocated Promoter Region (Tpr)-dynein axis during mitosis in colon cancer cells. 第 68 回日本細胞生物学会大会, 2016 年 6 月 15 日（水）～17 日（金）, 京都テルサ, 京都.
2. 竹中 哲, 宮下知治, 太田哲生, 堂本貴寛, 源 利成. GSK3β を阻害することによる膵臓がんの化学療法耐性解除への可能性. 第 25 回日本がん転移学会学術集会・総会, 2016 年 7 月 21 日（木）, 22 日（金）, 米子コンベンションセンター, 米子.
3. 島崎猛夫, 山本聡子, 堂本貴寛, 源 利成. 膵癌細胞のエクソソーム動態に影響する因子の検討. 第 27 回日本消化器癌発生学会総会, 2016 年 9 月 15 日（木）, 16 日（金）, 城山観光ホテル, 鹿児島.

4. 堂本貴寛, 上原将大, Ilya V. Pyko, 源 利成. GSK3β はがん促進性オートファジーを介して大腸がん細胞の生存に関与する. Takahiro Domoto, Masahiro Uehara, Ilya V. Pyko, Toshinari Minamoto. Glycogen synthase kinase (GSK)-3β participates in colon cancer cell survival via sustaining tumor-promoting autophagy. 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016 年 10 月 6 日(木)～8 日(土), パシフィコ横浜, 横浜.

5. Ilya V. Pyko, Takahiro Domoto, Mitsutoshi Nakada, Toshinari Minamoto. Sensitizing patient-derived glioblastoma stem-like cells to temozolomide by glycogen synthase kinase 3β inhibition. 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016 年 10 月 6 日(木)～8 日(土), パシフィコ横浜, 横浜.

6. 上原将大, 堂本貴寛, 竹中 哲, 竹内 修, ピコ イリア, 島崎猛夫, 宮下知治, 太田哲生, 源 利成. 膵がんの化学療法耐性獲得にける glycogen synthase kinase (GSK)-3β の役割. Masahiro Uehara, Takahiro Domoto, Satoshi Takenaka, Osamu Takeuchi, Ilya V. Pyko, Takeo Shimasaki Tomoharu Miyashita, Tetsuo Ohta, Toshinari Minamoto. Putative role of glycogen synthase kinase (GSK)-3β in acquired resistance to chemotherapy in pancreatic cancer. 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016 年 10 月 6 日(木)～8 日(土), パシフィコ横浜, 横浜.

7. 島崎猛夫, 山本聡子, 堂本貴寛, 清川悦子, 有沢富安, 源 利成. 膵癌細胞のエクソソーム動態に影響する因子の検討. Takeo Shimasaki, Satoko Yamamoto, Takahiro Domoto, Etsuko Kiyokawa, Tomiyasu Arisawa, Toshinari Minamoto. Investigation of factors affecting exosome dynamics in pancreatic cancer cells. 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016 年 10 月 6 日(木)～8 日(土), パシフィコ横浜, 横浜.

8. 宮下知治, 松井大輔, 源 利成, 太田哲生. TJ-14 による食道発癌抑制とその機序. Tomoharu Miyashita, Daisuke Matsui, Toshinari Minamoto, Tetsuo Ohta. TJ-14 (Hangeshashinto) impedes the development of reflux-induced esophageal cancer in a surgical rat model. 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016 年 10 月 6 日(木)～8 日(土), パシフィコ横浜, 横浜.

9. 滝野隆久, 堂本貴寛, 吉本泰祐, 川尻秀一, 遠藤良夫, 佐藤 博. JIP1 は c-Abl と Arg の基質である. Takahisa Takino, Takahiro Domoto, Taisuke Yoshimoto, Shuichi Kawashiri, Yoshio Endo, Hiroshi Sato. JIP3 is a substrate for c-Abl and Arg tyrosine kinases. 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016 年 10 月 6 日(木)～8 日(土), パシフィコ横浜, 横浜.

10. 阿部健作, 山本憲男, 堂本貴寛, 林 克洋, 武内章彦, 三輪真嗣, 稲谷弘幸, 樋口貴史, 谷口裕太, 源 利成, 土屋弘行. GSK3β阻害による軟部肉腫の治療効果の検討. 第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2016 年 10 月 13 日(木), 14 日(金), 福岡国際会議場, 福岡.

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. 膠芽腫に対するテモゾロミド併用 GSK3β 標的療法. 第 34 回日本脳腫瘍学会学術集会, 2016 年 12 月 4 日(日)～6 日(火), 甲府富士屋ホテル, 甲府.

＜講演, その他＞

12. 源 利成. がんのエネルギー代謝と原始的な性癖－解糖反応と自食作用－. 石川県立金沢泉丘高等学校 SSH 模擬講義, 2016 年 1 月 15 日(金), 金沢大学医学類, 金沢市.

＜外部資金＞（2016 年度が含まれる課題）

1. 2016 年－2017 年度 科学研究費補助金（若手研究B）：課題番号 16K19996
   Ilya V. Pyko（代表）
   課 題：Investigation of the therapeutic interaction of mesenchymal stem cells with glioblastoma stem-like cells and its biological mechanism
   研究経費：3,900,000 円

2. 2016 年－2018 年度 科学研究費補助金（基盤研究C）：課題番号 16K10751
   宮下勝吉（代表），源　利成（連携），ほか
   課題：GSK3β を分子標的とする神経膠芽腫治療の基礎基盤の確立
   研究経費：4,680,000 円
3. 2016－2017 年度 科学研究費補助金（若手研究B）：課題番号 16K20040
   阿部健作（代表）
   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の解明
   研究経費：2,110,000 円

4. 2016 年度 公益財団法人 がんの子供を守る会 治療研究助成金
   阿部健作（代表），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：1,000,000 円

5. 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：14,240,000 円

6. 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：3,510,000 円

7. 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

8. 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

9. 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

＜奨学寄附金＞

(1) 源 利成（受入れ） 2016 年 4 月 財団法人石川県予防医学協会 730,620 円

(2) 源 利成（受入れ） 2016 年 4 月 財団法人石川県予防医学協会 300,000 円

(3) 源 利成（受入れ） 2016 年 5 月 株式会社アルプ 223,039 円

＜共同研究＞

[1] 2016 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），源 利成，ほか（分担）
課題：β-カテニン/Tcf の転写標的 CRD-BP の分子病理学的特性と大腸がん病態の関連解析
研究経費：500,000 円

[2] 2016 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），堂本貴寛，源 利成，ほか（分担）
課題：癌細胞エクソソームの分子病態解明によるがん治療法の開発
研究経費：500,000 円

[3] 2016 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：膵組織幹細胞の老化機序解明による疾患発症機序の解明
研究経費：500,000 円

[4] 2016 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），堂本貴寛，源 利成，ほか（分担）
課題：質量分析と機械学習を用いた大腸がんの判別アスゴリズム構築および分子病態解明
研究経費：500,000 円

[5] 2016 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
松下一之（代表；千葉大学），源 利成，ほか（分担）
課題：c-Myc 制御、DNA 損傷修復、癌代謝に関わる FIR に着目した消化器・難治がんの診断法および包括的がん治療法の開発
研究経費：500,000 円

[6] 2015 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究（一般）
山本憲男（代表；金沢大学），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

[7] 2016 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), 上原将大, 堂本貴寛, 源 利成, ほか(分担)
課題:膵がん治療耐性に伴う幹細胞性獲得機構における GSK3β/STAT3 経路の機能解析
研究経費: 200,000 円

[8] 2016 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;久留米大学／金沢大学), 源 利成, ほか(分担)
課題:膠芽腫に対する既存薬転用 GSK3β 標的治療の確立
研究経費: 200,000 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）：　Sasithorn Wanna-udom

【 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制御の異常は,ヒトのがんで頻繁に観察されており,その可逆的性質からがん治療の新たな標的として注目されている。私たちは，レトロウイルス感染発がんモデルマウスを用いた新規がん関連遺伝子の探索から，ヒストンのメチル化修飾に関わる因子を多数同定し，がん発症における役割を解析してきた。これまでの解析から，これらの因子は，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，幹細胞性維持，低酸素応答など，がんの悪性進展のさまざまなステップにも関与することが明らかになってきた。

＜今年度の研究成果，進行状況と今後の計画＞

１）がん関連遺伝子候補 JMJD5 は p53 の新しい制御因子として機能する

エピジェネティック制御因子のひとつ JMJD5 の機能やがん発症における役割を解明するために，Jmjd5 遺伝子欠損マウスを作製して解析している。Jmjd5 ノックアウト胚では，がん抑制遺伝子産物 p53 の発現そのものに変化はないが，p53 が転写制御している下流標的遺伝子群（p21，Noxa，Mdm2 など）の発現が著しく亢進していた。この分子メカニズムを調べた結果，JMJD5 が p53 と相互作用することによって，p53 の標的遺伝子座へのリクルートを阻害することが示された。すなわち，JMJD5 は p53 の転写制御機能を阻害的にコントロールする新規 p53 制御因子として，細胞の増殖に関与することがわかった（論文１）。さらに私たちは，悪性度の高いトリプルネガティブ型乳がんで JMJD5 の発現が顕著に低いことや，乳がん細胞株で低酸素刺激によって発現が抑制されることを見いだした。乳がん細胞株で 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上昇することから，現在，乳がんの悪性進展過程における JMJD5 の果たす役割とその作用機序について解析を進行している。

２）乳がん細胞のスフィア形成能や細胞運動能を制御するヒストンメチル化酵素

DOT1L の解析

ヒストンメチル化酵素 DOT1L は，染色体転座を伴う白血病の発症に関与することが知られているが，固形がんにおける役割はあまり報告されていない。私たちは，乳がん，特にトリプルネガティブ型乳がんで，DOT1L が高発現していることを見い出した。さらに，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。DOT1L 酵素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，その大量発現やノックダウンによって，DOT1L が引き起こすスフィア形成能や細胞運動能の変化をキャンセルできることから，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（論文 2）。また，DOT1L 酵素活性阻害剤 EPZ-5676 や BCAT1 酵素阻害剤 gabapentin が，乳がん細胞株の悪性形質に阻害的効果を示すことから，これらの阻害剤のがん治療への有用性を現在検討中である。

３）上皮-間葉転換（EMT）における長鎖非コード RNA の新しい役割

PRC2（Polycomb repressive complex-2）は，ヒストン H3 の 27 番目の Lys（H3K27）のメチル化を担う酵素複合体であり，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。私たちは，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，がん細胞の上皮･間葉転換（EMT）に重要な役割を果たすことを明らかにしてきた。これらの因子は，TGF-β刺激による EMT プロセスで顕著に発現誘導され，その発現をノックダウンすると，EMT の進行がブロックされた。この原因は，H3K27 のメチル化制御の異常により，E-Cadherin など上皮系マーカー遺伝子の発現抑制がブロックされたためであり，PRC2 の機能が EMT 誘導遺伝子発現プログラムに極めて重要であることが示された。また，JARID2 の強制発現のみでは，PRC2 の標的遺伝子へのリクルートや EMT を誘導しなかったことから，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。最近，この因子の有力な候補として，EMT に伴って発現誘導される長鎖非コード RNA である MEG3 を同定した。MEG3 のノックダウンにより，TGF-β誘導 EMT はブロックされ，MEG3 の大量発現により，PRC2 の活性化と上皮系マーカー遺伝子の発現抑制が誘導されることがわかった。また，MEG3 は JARID2 と結合することができること，それによって JARID2 と EZH2 の相互作用を増強すること，さらに標的遺伝子の発現制御領域のクロマチンへの PRC2 酵素複合体の相互作用を増強することが示された（論文 3）。これらの結果は，EMT のエピジェネティック制御において，長鎖非コード RNA が中心的な役割を担うことを示すものであり，さらに詳細なメカニズムを解析している。

【 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., 363(3):723-33, 2016.
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, 123:20-31, 2016.
3. Terashima M, Tange S, Ishimura A and Suzuki T. MEG3 long noncoding RNA contributes to the epigenetic regulation of epithelial-mesenchymal transition in lung cancer cell lines. J Biol. Chem., Nov.16, Epub ahead of print, 2016.

＜学会発表＞

国際学会

1. Suzuki T. Functional characterization of histone methyltransferases and demethylases in epithelial-mesenchymal transition of cancer cells. The 10th AACR-JCA Joint Conference on breakthroughs in cancer research: from biology to therapeutics. (Hawaii 2016 年 2 月)
2. Ishimura A, Tange S, Terashima M and Suzuki T. Tumor Suppressive Role of JMJD5, a JmjC-domain Protein, in Breast Cancer. The 5th JCA-AACR Special Joint Conference（舞浜 2016 年 7 月）

国内学会

1. Suzuki T, Ishimura A, Oktyabri D and Terashima M. DOT1L histone methyltransferase regulates sphere formation and cell migration of cancer cells through BCAT1 expression. 第75回日本癌学会学術総会（横浜2016年10月）
2. Terashima M. 上皮間葉転換におけるポリコーム抑制複合体PRC2を介したエピジェネティック制御機構. 第3回北陸エピジェネティクス研究会（福井2016年11月）
3. Ishimura A, Tange S, Terashima M and Suzuki T. 乳がん悪性化におけるJMJD5の役割. 第39回日本分子生物学会年会（横浜2016年12月）
4. Terashima M, Tange S, Ishimura A and Suzuki T. 上皮間葉転換におけるPRC2遺伝子発現抑制メカニズム. 第39回日本分子生物学会年会（横浜2016年12月）

一般対象

1. 鈴木健之. ウイルス感染とがん. 金沢大学公開講座「がん研究の最前線」(金沢2016年6月)

＜外部資金＞

1. 文部科学省科学研究費補助金, 基盤研究 (C), 研究代表者　鈴木健之, 1,200 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, 若手研究 (B), 研究代表者　寺島農, 1,900 千円
研究課題名「上皮間葉転換 (EMT) を制御する長鎖非コード RNA の機能解析」

＜共同研究＞

1. 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
2. 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
3. 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

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		
准教授	衣斐　寛倫（H28 年 3 月から）	臨床教授	大坪　公士郎（H28 年 8 月から）
臨床教授	毛利　久継（H28 年 7 月まで）	講　師	竹内　伸司（H28 年 10 月から）
臨床准教授	山田　忠明（H28 年 5 月から）	助　教	山下　要
助　教	谷本　梓（H28 年 3 月から）	助　教	西山　明宏
特任助教	渡邉　一孝（H28 年 3 月まで）	助　教	北井　秀典（H28 年 11 月から）
医　員	足立　雄太	特任助教	小谷　浩（H28 年 4 月から）
特任助手	福田　康二（H28 年 1 月から）	医　員	谷口　寛和
事務補佐員	堂林　淳子	修士研究員	新井　祥子
事務補佐員	寺田　真莉奈	修士研究員	王　融
		事務補佐員	小堀　朋子

【 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）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，昨年度までに立ち上げた 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(VICTORY-J)と 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(ALL-RET)の症例登録を継続した。基礎研究としても，KRAS 肺がんや EML4-ALK 肺がんの分子標的薬抵抗性の分子機構を解明し新たな治療戦略を提唱した。

また，診療部門である「がん高度先進治療センター」を 4 月に「がんセンター」と名称変更し，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。

＜2016 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 28 年 11 月末現在で 506 例を登録 74 例(14.6 %)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 28 年 11 月 30 日現在レベル 3（ボリノスタット 400mg/日）の治療を 4 例行い，最大耐容量を決定した。（竹内，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（ALL-RET:第 I/II 相試験）の治験届を 2016 年 1 月に提出し，2 月より治験を開始した。さらに，8 月までに第 I 相試験部分を完了し，アレクチニブの最大耐容量を決定した。9 月より第 II 相試験部分を開始した。（竹内，谷本，西山，山田，矢野）

3. KRAS 変異肺がん：KRAS 変異肺がんに対し MEK キナーゼ阻害薬の臨床試験が行われているが,その効果は限定的であることが明らかとなっている。MEK 阻害薬投与が，フィードバック機構を介して受容体キナーゼを活性化し，MAPK シグナルを再活性化することを明らかにした。さらに，活性化される受容体は腫瘍の上皮間葉移行状態に依存しており，上皮型腫瘍では ERBB3，間葉型腫瘍では FGFR1 が関与していた。それぞれの受容体阻害薬と MEK 阻害薬の併用療法の有効性をマウスモデルで実証した。（北井，衣斐，小谷，足立，矢野）

4. ALK 肺がん耐性：ALK 融合遺伝子陽性肺がん（ALK 肺がん）に対してクリゾチニブは高い抗腫瘍効果を示すが，ほぼ例外なく耐性を獲得し再燃する。がん性胸膜炎マウスモデル（*in vivo*）においてクリゾチニブに耐性を獲得した ALK 肺がん細胞を解析し，その一部が EGFR ligand の 1 つである Amphiregulin に依存して耐性化していることを明らかにした。さらに，この耐性細胞に対して EGFR 阻害薬とクリゾチニブの併用治療が有効であることを *in vitro* および *in vivo* の実験系で証明した。（谷口，竹内，福田，新井，山田，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)を完了する。

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)を継続実施し，その安全性と有効性を明らかにする。

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. 膵がん，胸膜中皮腫，甲状腺がんなどに対する分子標的治療法の開発に向けた基礎的検討を展開する。

【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

原著論文

（研究室主体）

1. Nanjo S, Arai S, Wang W, Takeuchi S, Yamada T, Hata A, Katakami N, Okada Y, Yano S. MET copy number gain is associated with gefitinib resistance in leptomeningeal carcinomatosis of EGFR-mutant lung cancer. **Mol Cancer Ther** 2016; [Epub ahead of print]

2. Tanimoto A, Takeuchi S, Arai S, Fukuda K, Yamada T, Roca X, Ong ST, Yano S. Histone deacetylase 3 inhibition overcomes BIM deletion polymorphism-mediated osimertinib-resistance in EGFR-mutant lung cancer. **Clin Cancer Res** 2016 Dec 16; [Epub ahead of print]

3. Taniguchi H, Takeuchi S, Fukuda K, Nakagawa T, Arai S, Nanjo S, Yamada T, Yamaguchi H, Mukae H, Yano S. AREG triggered EGFR activation confers in vivo crizotinib-resistance of EML4-ALK lung cancer and circumvention by EGFR inhibitors. **Cancer Sci** 2016 Oct 26; [Epub ahead of print]

4. Kitai H, Ebi H. Key roles of EMT for adaptive resistance to MEK inhibitor in KRAS mutant lung cancer. **Small GTPases** 2016 ; 1-5 [Epub ahead of print]

5. Kitai H, Ebi H, Tomida S, Floros KV, Kotani H, Adachi Y, Oizumi S, Nishimura M, Faber AC, Yano S. Epithelial-to-mesenchymal transition defines feedback activation of receptor tyrosine kinase signaling induced by MEK inhibition in KRAS mutant lung cancer. **Cancer Discov** 2016; 6(7):754-69.

6. 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** 2016; 4(4):537-40.

7. 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** 2016; 7(4):3847-56.

8. 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 2016**; 35(27):3587-97

9. 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** 2016; 138(5):1281-9.

10. Ohtsubo K, Mouri H, Yamashita K, Toshima F, Inoue D, Gabata T, Watanabe H, Yano S. Endoscopic ultrasonographic evaluation of therapeutic intervention for non-alcoholic early chronic pancreatitis. **JOP** 2016; 17 (6): 629-36.

（共同研究）

1. Saito M, Suzuki Y, Yano S, Miyazaki T, Sato Y. Proteolytic inactivation of anti-angiogenic vasohibin-1 by cancer cells. **J Biochem** 2016 ; 160(4): 227-32.

2. Kitade H, Hiromasa-Yamasaki A, Hokkoku K, Mori M, Watanabe M, Nakai M, Yano S. Elevated prothrombin time/international normalized ratio associated with concurrent administration of regorafenib and warfarin in a patient with advanced colorectal cancer. **J Pharm Health Care Sci** 2016; 2(15).

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** 2016 ; 35(8): 952-64.

4. Chikaishi Y, Uramoto H, Koyanagi Y, Yamada S, Yano S, Tanaka F. TMPRSS4 Expression as a Marker of Recurrence in Patients with Lung Cancer. **Anticancer Res** 2016; 36(1): 121-7.

5. Kaufman JM, Yamada T, Park K, Timmers CD, Amann JM, Carbone DP. A transcriptional signature identifies LKB1 functional status as a novel determinant of MEK sensitivity in lung adenocarcinoma. **Cancer Res** 2017; 77(1):153-63.

6. Oishi K, Nakao M, Maeda S, Matsushita T, Ikeda T, Yamada T, Takehara K, Hamaguchi Y. A case of aseptic meningitis without neck rigidity occurring in a metastatic melanoma patient treated with ipilimumab. **Eur J Dermatol** 2016 Dec 22; [Epub ahead of print]

総説

1. 矢野聖二. 分子標的薬のこれまでと今後. **腎臓内科・泌尿器科** 4(1):11-8, 2016

2. 矢野聖二. がん微小環境による EGFR チロシンキナーゼ阻害薬耐性. **医学のあゆみ** 258 (1): 85-9, 2016

3. 矢野聖二. がん分子標的薬の耐性メカニズムとその克服. **医学のあゆみ** 258(5)：372-6, 2016

4. 矢野聖二. BIM 遺伝子多系を標的にした EGFR-TKI 耐性克服 **がん分子標的治療** 14(2)：58-63, 2016

5. 矢野聖二. 肺癌の分子標的薬の併用療法. **癌と化学療法** 43(4): 413 – 8, 2016

6. 衣斐寛倫, 矢野聖二. 消化器がんにおける分子標的治療:バイオマーカーと個別化治療 **臨床消化器内科** 31(7): 38-42, 2016

7. 衣斐寛倫. RAS-RAF シグナル異常を示す腫瘍に対する治療開発と展望―基礎 **腫瘍内科** 17(5): 544-8, 2016

8. 大坪公士郎, 矢野聖二. 口内炎. **臨床泌尿器科** 70(4): 211-4, 2016

9. 大坪公士郎, 毛利久継, 山下 要, 戸島史仁, 井上 大, 蒲田 敏文, 矢野聖二. 非アルコール性早期慢性膵炎における臨床像―画像所見と治療経過を中心に― **胆と膵** 37(4)：391-7, 2016

10. 大坪公士郎, 毛利久継, 山下 要, 牧野 勇, 田島秀浩, 太田哲生, 井上大, 蒲田敏文, 池田博子, 全 陽, 渡邊弘之. EUS による主膵管狭窄と尾側膵管拡張を契機に連続膵液細胞診にて診断された膵内多発癌の1切除例. **日本消化器病学会雑誌** (in press)

11. 北井秀典, 矢野聖二. 悪性胸膜中皮腫のシグナル伝達経路. **がん分子標的治療** 14(4)：77-81, 2016

＜学会発表・国内＞

1. 第 56 回日本呼吸器学会学術講演会 山田忠明, 矢野聖二, Carbone DP. Akt kinase-interacting protein 1 signals through CREB to drive malignant pleural mesothelioma. 2016 年 4 月 京都

2. 第 56 回日本呼吸器学会学術講演会 山田忠明. 異文化交流が"physician-Scientist に与えるもの～オハイオ州立大学留学体験～. 2016 年 4 月 京都

3. 第 113 回日本内科学会講演会 西山明宏, 谷口寛和, 南條成輝, 渡辺一孝, 竹

内伸司, 衣斐寛倫, 山田忠明, 毛利久継, 大坪公士郎, 矢野聖二. 当科で分子標的薬を導入した甲状腺癌症例の後方視的検討. 2016 年 4 月　東京

4. 第 113 回日本内科学会講演会　足立雄太, 西山明宏, 渡辺一孝, 南條成輝, 竹内伸司, 山田忠明, 衣斐寛倫, 毛利久継, 大坪公士郎, 矢野聖二. 癌性腹膜炎に対する CART（腹水濾過濃縮再静注法）施行症例の検討. 2016 年 4 月　東京

5. 第 20 回日本がん分子標的治療学会学術集会　矢野聖二. EGFR-TKI 耐性. 2016 年 5 月　別府

6. 第 20 回日本がん分子標的治療学会学術集会　山田忠明, 藤田直也, 矢野聖二. 悪性胸膜中皮腫における新規標的治療としての Aki1-CREB シグナル制御の検討. 2016 年 5 月　別府

7. 第 20 回日本がん分子標的治療学会学術集会　谷本　梓, 竹内伸司, 山田忠明, 矢野聖二. BIM 遺伝子多型に起因する EGFR 変異肺癌における EGFR-TKI 耐性の克服を目指す医師主導治験　2016 年 5 月　別府

8. 第25回日本がん転移学会学術集会総会　矢野聖二, 新井祥子, 福田康二, 山田忠明, 竹内伸司, 南條成輝, 片上信之, 岡田保典. 肺がんの髄膜がん腫症と EGFR-TKI 耐性.　2016 年 7 月　米子

9. 第 14 回日本臨床腫瘍学会学術集会　矢野聖二. Mechanism of Acquired Resistance to EGFR-TKI, and its Conquest EGFR-TKI の耐性メカニズムとその克服. 2016 年 7 月　神戸

10. 第 14 回日本臨床腫瘍学会学術集会　衣斐寛倫. Feedback mechanism as a cause of resistance and therapeutic targets in molecular targeted therapy. 2016 年 7 月　神戸

11. 第 14 回日本臨床腫瘍学会学術集会　衣斐寛倫. Targeting RAS/RAF mutant cancers:Regulation of MAPK signaling is the key. 2016 年 7 月　神戸

12. 第 14 回日本臨床腫瘍学会学術集会　山田忠明. Kaufman JM, Amann JM, Carbone DP. LKB1 loss is a novel determinant of MEK inhibitor sensitivety by regulating activation of AKT-FOXO3 pathway. 2016 年 7 月　神戸

13. 第 75 回日本癌学会学術総会　矢野聖二. SSP 基礎講座・もっと知りたい分子標的薬. 2016 年 10 月　横浜

14. 第 75 回日本癌学会学術総会　衣斐寛倫. EMT defines feedback activation of RTK signaling included by MEK inhibition in KRAS mutant lung cancer. 2016 年 10 月　横浜

15. 第 75 回日本癌学会学術総会　山田忠明,　矢野聖二.　EGFR 肺がんにおける EGFR 阻害薬耐性の機構解明とその克服.　2016 年 10 月　横浜

16. 第 75 回日本癌学会学術総会　福田康二,　竹内伸司,　片山量平,　南條成輝,　竹内賢吾,　西原広史,　西尾誠人,　矢野聖二.　HDAC inhibition overcomes crizotinib resistance by mesenchymal epithelial transition (MET) in EML4-ALK lung cancer cells.　2016 年 10 月　横浜

17. 第 57 回日本肺癌学会学術集会　竹内伸司,　福田康二,　片山量平,　南條成輝,　山田忠明,　鈴木健之,　竹内賢吾,　西尾誠人,　矢野聖二.　ALK 融合遺伝子陽性肺がんにおける上皮間葉転換による Crizotinib 耐性機構の解明と克服治療の開発.　2016 年 12 月　福岡

18. 第 57 回日本肺癌学会学術集会　山田忠明,　矢野聖二.　EGFR 変異肺がんのバイオマーカー.　2016 年 12 月　福岡

19. 第 57 回日本肺癌学会学術集会　山田忠明,　矢野聖二,　Carbone DP.　非小細胞肺がんにおける LKB1 活性を基盤とした薬剤感受性機構の解明と治療法開発.　2016 年 12 月　福岡

20. 第 57 回日本肺癌学会学術集会　谷本　梓,　竹内伸司,　山田忠明,　矢野聖二.　HDAC3 を標的とした BIM 遺伝子多型に起因する Osimertinib 抵抗性の克服.　2016 年 12 月　福岡

21. 第 57 回日本肺癌学会学術集会　北井秀典,　衣斐寛倫,　小谷　浩,　足立雄太,　冨田秀太,　大泉聡史,　西村正治,　矢野聖二.　上皮間葉移行に基づいた KRAS 変異肺癌に対する MEK 阻害薬の新規治療戦略.　2016 年 12 月　福岡

＜学会発表・国際＞

1. Tenth AACR-JCA Joint Conference. Yano S. Novel strategy for overcoming EGFR-TKI resistance in EGFR mutant lung cancer. 2016 年 2 月 Maui, Hawai

2. Tenth AACR-JCA Joint Conference. Nishiyama A, Nanjo S, Takeuchi S, Yamada T, Ebi H, Yamashita K, Mouri H, Ohtsubo K, Yano S. Impact of multi-kinase inhibitor lenvatinib in advanced thyroid cancer patients. 2016 年 2 月 Maui, Hawai

3. Tenth AACR-JCA Joint Conference. Fukuda K, Nanjo S, Takeuchi S, Yamada T, Katayama R, Takeuchi K, Nishihara H, Yano S. HDAC inhibition overcomes crizotinib-resistance by inducing mesenchymal-epithelial reverting transition(MERT) via miR200c up-regulation in EML4-ALK lung cancer cells. 2016 年 2 月 Maui, Hawai

4. Kanazawa University /Duke-NUS Joint Cancer Symposium. Yano S. Novel strategy for overcoming EGFR-TKI resistance in EGFR mutant lung cancer. 2016 年 2 月 Singapore

5. Kanazawa University /Duke-NUS Joint Cancer Symposium. Ebi H. Combinatorial Approach Targeting KRAS Mutant Lung Cancers. 2016 年 2 月 Singapore

6. The AACR Annual Meeting 2016. Yamada T, Kaufman JM, Amann JM, Carbone DP. Loss of LKB1 in NSLC confers sensitivity to MEK inhibition of AKT-FOXO3 pathway. 2016 年 4 月 New Orleans, USA

7. The AACR Annual Meeting 2016. Taniguchi H, Takeuchi S, Fukuda K, Yamada T, Sakamoto H, Kawada M, Yano S. Targeted therapy by MET inhibitors against small-cell lung cancer with aberrant activation of HGF/MET pathway. 2016 年 4 月 New Orleans, USA

8. IAP＆JPS＆AOPA 2016. Ohtsubo K, Mouri H, Yamashita K, Toshima F, Inoue D, Gabata T, Watanabe H, Yano S. Clinical features of non-alcoholic early chronic pancreatitis. 2016 年 8 月 Sendai, Japan

9. 6th FUSCC-CRIKU Joint Symposium on Tumor Biology. Ebi H. Epithelial-to-mesenchymal transition defines feedback activation of receptor tyrosine kinase signaling induced by MEK inhibition in KRAS mutant lung cancer. 2016 年 9 月 Shanghai, China

10. European Society for Medical Oncology (ESMO) 2016 Congress. Yano S. Circumvention of EGFR-TKI resistance in EGFR mutant lung cancer. 2016 年 10 月 Copenhagen, Denmark

11. The Kanazawa University Cancer Research Institute International Symposium 2016. Ebi H. EMT and feedback activation of RTK signaling induced by MEK inhibition in KRAS mutant lung cancer. 2016 年 11 月 Kanazawa, Japan

12. Hokkaido Univ-Kanazawa Univ International Cancer Forum for Young Scientists. Ebi H. EMT defined combinatorial strategy for treating KRAS mutant lung cancer. 2016 年 11 月 Sapporo, Japan

13. The 17th World Conference on Lung Cancer (WCLC 2016). Yano S. Met copy number gain associates with gefitinib resistance in leptomeningeal carcinomatosis of EGFR mutant lung cancer. 2016 年 12 月 Vienna, Austria

14. The 17th World Conference on Lung Cancer (WCLC 2016). Yamada T, Kaufman JM, Amann JM, Carbone DP. Lkb1 loss is a novel determinant of mek sensitivity due to

alterations in Akt/Foxo3 signaling. 2016 年 12 月 Vienna, Austria

15. The 17th World Conference on Lung Cancer (WCLC 2016). Nishiyama A, Kita K, Arai S, Takeuchi S, Yamada T, Yano S. In vivo imaging models for preclinical screening of molecular Targeted drugs against brain metastasis. 2016 年 12 月 Vienna, Austria

16. The 17th World Conference on Lung Cancer (WCLC 2016). Fukuda K, Takeuchi S, Katayama R, Nanjo S, Yamada T, Suzuki T, Takeuchi K, Yano S. HDAC inhibition overcomes crizotinib-resitance by mesenchymal-epithelial transition(MET) in EML4-ALK lung cancer cells. 2016 年 12 月 Vienna, Austria

17. The 21st Japan – Korea Cancer Research Workshop. Yano S. Novel Treatment Strategy Based on Gene Profiling of Lung Cancer. 2016 年 12 月 goyang, Korea

＜外部資金＞

1. 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
   91,100千円

2. 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遺伝子多型に起因するEGFR変異肺癌のEGFR阻害薬耐性をボリノスタット併用で克服する研究　61,120千円

3. 日本医療研究開発機構　次世代がん医療創生研究事業
   矢野聖二　研究代表者
   MAPKシグナル抑制が誘導するフィードバック機構の不均一性解明と制御に基づくKRAS/BRAF変異腫瘍に対する新規治療開発　5,000千円

4. 基盤研究（B）日本学術振興会
   矢野聖二　研究代表者
   肺がんの髄膜がん腫症における分子標的薬耐性を克服する研究　5,700千円

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　300千円

6. 基盤研究（C）日本学術振興会
矢野聖二　研究分担者
悪性胸膜中皮腫に対する新規強磁性体温熱療法とmTOR阻害剤の併用療法の開発
180千円

7. 日本医療研究開発機構　次世代がん医療創生研究事業
衣斐寛倫　研究分担者
MAPKシグナル抑制が誘導するフィードバック機構の不均一性解明と制御に基づくKRAS/BRAF変異腫瘍に対する新規治療開発　12,692千円

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
衣斐寛倫　研究分担者
産学連携全国がんゲノムスクリーニング事業SCRUM-Japanで組織した遺伝子スクリーニング基盤を利用した、多施設多職種専門家から構成されたExpert Panelによる全国共通遺伝子解析・診断システムの構築および研修プログラムの開発
3,000千円

9. 若手研究（C）日本学術振興会
衣斐寛倫　研究代表者
上皮間葉移行状態に基づいたKRAS変異肺がんに対する治療開発
1,500千円

10. 国立がん研究センター研究開発費
衣斐寛倫　研究分担者
がんゲノム情報を用いた全国レベルでのprecision medicine体制構築に関する研究　250千円

11. 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

12. 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遺伝子多型に起因するEGFR変異肺癌のEGFR阻害薬耐性をボリノスタット併用で克服する研究　2,000千円

13. 日本医療研究開発機構　革新的がん医療実用化研究事業

山田忠明　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
2,000千円

14. 日本医療研究開発機構　革新的がん医療実用化研究事業
山田忠明　研究分担者
BIM遺伝子多型に起因するEGFR変異肺癌のEGFR阻害薬耐性をボリノスタット併用で克服する研究　2,000千円

15. 若手研究（B）日本学術振興会
福田康二　研究代表者
ALK肺癌のEMTに起因するALK-TKI耐性克服治療の開発
2,100千円

16. 共同研究　積水メディカル株式会社
矢野聖二　研究代表者
チロシンキナーゼ阻害剤・ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤併用療法のためのコンパニオン診断薬の開発　1,000千円

17. 中外製薬研究活動助成金
矢野聖二
小細胞肺がんに対する分子標的治療の開発　800 千円

18. 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阻害薬耐性とMEK阻害薬の併用療法　2,000千円

19. 内視鏡医学研究振興財団研究助成金
大坪公士郎
大腸鋸歯状腺腫の発癌メカニズムの解明と内視鏡治療への応用　500 千円

20. 日本イーライリリー株式会社研究助成金
大坪公士郎
マイクロ RNA とエピゲノムに根ざした膵癌の早期診断マーカーの開発
1,000千円

21. 第 10 回小林がん学術振興会研究助成金
山田忠明

EGFR 変異陽性肺がんの上皮間葉転換による薬剤耐性の克服に向けた新規診断・治療法開発　1,000 千円

＜共同研究＞

1. 東北大学大学院医学系研究科緩和医療学分野　井上　彰
静岡県立静岡がんセンター呼吸器内科　高橋利明
先端医療センター総合腫瘍科　片上信之
名古屋大学大学院医学系研究科分子総合医学専攻　長谷川好規
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
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　平川晃弘
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 変異肺癌の EGFR 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）」

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
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
名古屋大学大学院医学系研究科分子総合医学専攻　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
岡山大学病院呼吸器・アレルギー内科　木浦勝行
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. 金沢医科大学腫瘍内科学　安本和生
「スキルス胃癌にお間質増生機序特定と癌性腹膜炎発症機構の本体解明に基づく新規胃癌標的治療法の確立」

5. 金沢医科大学病理学Ⅰ　平田英周
「脳転移肺がん細胞の薬剤応答と耐性のキネティクス解析」

6. 慶應義塾大学政策メディア研究科　田畑　祥
「メタボローム解析による肺がん上皮間葉転換を標的とした治療法の開発」

7. Duke-NUS Graduate Medical School Singapore　ONG, Sin Tiong
「肺がんにおけるBIM遺伝子多型に起因したEGFR阻害薬耐性をボリノスタットが解除するメカニズムを明らかにする研究」

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。

＜2016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iPS細胞を多数樹立し，これらの中からさらに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。また，HBVに高感受性となる分化誘導法をみつけた。その条件で得られた肝細胞様細胞はHBVレセプターが高発現である。さらにHBV高感受性細胞とそうでないものとのマイクロアレイ解析からHBV感染に関わる宿主因子候補が得られた。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）

5-アミノレブリン酸（ALA）は我が国でもがんの光線力学的療法の一つとして悪性脳腫瘍の摘出手術における腫瘍の可視化および診断に応用されている。ALAを用いるがん光線力学的療法では，励起光の波長を変えることで，がんの診断のみならず，がんの治療(ALA-PDT)にも応用可能であるが，ALA-PDTの感受性規定因子や耐性化機序については十分に解明されていない。そこで我々はヒトがん細胞MKN-45より樹立したALA-PDT耐性細胞3株における遺伝子発現プロファイルをマイクロアレイにより解析

した。その結果，耐性株の一つでは親株と比較して ALA の取り込みトランスポーターである PEPT1 が著減し，PpIX の排出トランスポーターの ABCG2 の発現が亢進していた。一方，ferrochelatase，heme oxygenase，cytochrome b reductase，STEAP および ABCC3 はすべての耐性細胞で発現が上昇し，3 株中 2 株では ABCC2 と ceruloplasmin の発現も著しく亢進していた。さらに，ferrochelatase 阻害剤は ALA-PDT 感受性を上昇させる一方で，ホロトランスフェリンは ALA-PDT の効果を減少させた。以上の結果から，ALA や PpIX の膜輸送系に加え，ヘム分解系および鉄イオンの酸化還元系は ALA-PDT における重要な感受性規定因子であるとともに，耐性化の分子標的となることが明らかになった。また，徳島大学との共同で実施している ALA-PDT 効果増強の開発研究ではシッフ塩基 TX-816 にアルキルベンゼンを導入した新規誘導体が優れた ALA-PDT 効果増強作用を示すことを見出した。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が低下し，またオキシトシン受容体等の収縮調節関連遺伝子群の発現が低下していることを見出している。今回，分娩時の子宮機能における ADAMTS-1 の役割についてさらに調べるため，ADAMTS-1$^{-/-}$マウスの分娩前の子宮脱落膜組織の形態変化について解析を行った。 その結果，wild type マウスの妊娠 19 日目，分娩前の脱落膜は，糸状の組織が複雑に分岐した形態をとるとともに，子宮腺の顕著な拡張が多く認められた。一方，分娩前の ADAMTS-1$^{-/-}$マウスの脱落膜組織では，子宮腺のほとんどで拡張が認められず，wild type マウスとは異なる組織像が観察された。この結果から，マウス分娩過程において，分娩時までに脱落膜組織の形態が変化する過程にも ADAMTS-1 が関わる可能性が示唆された。今後，ADAMTS-1 による分娩時の子宮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. Masaharu Somiya, Qiushi Liu, Nobuo Yoshimoto, Masumi Iijima, Kenji Tatematsu, Tadashi Nakai, Toshihide Okajima, Kazuyuki Kuroki, Keiji Ueda, Shun'ichi Kuroda: Cellular uptake of hepatitis B virus envelope L particles is independent of sodium taurocholate cotransporting polypeptide, but dependent on heapran sulfate proteoglycan. Virology 2016;497:23-32
2. Activation of Matrix Metalloproteinase (MMP)-9 by Membrane-Type-1 Matrix Metalloproteinase/MMP-2 axis Stimulates Tumor Metastasis. Li Z, Takino T, Endo Y, Sato H. Cancer Sci. 2016 Dec 17. doi: 10.1111/cas.13134. [Epub ahead of print]
3. Shimamura Y, Tamatani D, Kuniyasu S, Mizuki Y, Suzuki T, Katsura H, Yamada H, Endo Y, Osaki T, Ishizuka M, Tanaka T, Yamanaka N, Kurahashi T, Uto Y: 5-Aminolevulinic Acid Enhances Ultrasound-mediated Antitumor Activity via Mitochondrial Oxidative Damage in Breast Cancer. Anticancer Res. 2016 Jul;36(7):3607-12.
4. Yonemura Y, Canbay E, Ishibashi H, Nishino E, Endou Y, Sako S, Ogura S. Y: 5-Aminolevulinic Acid Fluorescence in Detection of Peritoneal Metastases. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(4):2271-5. DOI: http://dx.doi.org/10.7314/APJCP.2016.17.4.2271

＜学会発表＞

1. 遠藤良夫，宇都義浩，安部千秋，芝一休，小倉俊一郎，米村豊 : 5-アミノレブリン酸を用いるがん光線力学的療法におけるシッフ塩基化合物による効果増強作用　日本薬学会第136年会　2016年3月26日-29日　（横浜，パシフィコ横浜）
2. 宇都義浩，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 : 5-アミノレブリン酸と超音波の併用による乳癌に対する抗腫瘍活性と作用機序　日本薬学会第136年会　2016年3月26日-29日（3月27日）（横浜，パシフィコ横浜）
3. Yoshio Endo, Uto Yoshihiro, Chiaki Abe, Shun-ichiro Ogura, Yutaka Yonemura : Mechanism of acquired resistance to photodynamic therapy using 5-aminolevulinic acid ５-アミノレブリン酸を用いるがん光線力学的療法に対する耐性化機構　日本癌学会　第75回日本癌学会学術総会 2016年10月6日（木）-8日（土）　（横浜，パシフィコ横浜）

4. Takahisa Takino, Takahiro Domoto, Taisuke Yoshimoto, Shuichi Kawashiri, Yoshio Endo, Hirosi Sato : JIP3 is a substrate for c-Abl and Arg tyrosine kinases　JIP3はc-AblとArgの基質である　日本癌学会　第75回日本癌学会学術総会 2016年10月6日（木）-8日（土）　（横浜，パシフィコ横浜）
5. 宇都義浩，芝一休，山田久嗣，遠藤良夫，佐藤博，北里慶子，永廣信治：低酸素指向性を有する抗転移剤 TX-2137 及び TX-2282 の創製　第 20 回バイオ治療法研究会　2016 年 12 月 10 日(福岡, 電気ビル共創館みらいホール＆カンファレンス)
6. 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) 「マウス分娩時の子宮機能における ADAMTS-1 の役割の解析」第３９回日本分子生物学会年会（2016 年 12 月，横浜）

＜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：6,153,847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：900千円
3. 科学研究費補助金（基盤研究Ｃ）代表：遠藤良夫
   直接経費：1,200千円
4. 科学研究費補助金（基盤研究Ｃ）分担：遠藤良夫
   直接経費：200千円

＜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. 大腸癌における Na+/H+交換輸送体阻害による新規抗癌治療法の開発（徳島大・ソシオテクノサイエンス研究部，金沢大・附属病院）（遠藤良夫）

新学術創成研究機構若手 PI

卓越研究員

分子標的治療開発ユニット
Molecular Cancer Therapeutics

＜研究スタッフ＞
准教授　衣斐　寛倫

【 研 究 概 要 】

本研究プロジェクトは，臨床的知見から得られる問題点とシグナル伝達解析の手法を融合させることにより，現在のところ分子標的治療が確立されていない腫瘍に対し，新たな治療戦略を同定・開発することを目的としている。

＜2016 年の研究成果，進捗状況＞

1. KRAS 遺伝子変異腫瘍に対する新規治療開発

   KRAS 変異腫瘍において変異 KRAS タンパクの直接阻害は困難であることから，下流シグナルの抑制による治療が試みられている。しかし，早期臨床試験の結果から，KRAS 変異肺がんに対する MEK キナーゼ阻害薬の効果は限定的であることが明らかとなった。我々は，MEK 阻害薬投与が，フィードバック機構を介して受容体キナーゼを活性化し，活性化した受容体により MAPK シグナルが再活性化されることを明らかにした。さらに，活性化される受容体は腫瘍の上皮間葉移行状態に依存しており，上皮型腫瘍では ERBB3，間葉型腫瘍では FGFR1 が関与していた。それぞれの受容体阻害薬と MEK 阻害薬の併用療法の有効性をマウスモデルおよび患者検体由来ゼノグラフトモデルで実証した。

2. FGFR 遺伝子増幅肺がんに対する FGFR 阻害薬の治療効果予測に関する研究

   FGFR 遺伝子増幅を有する肺がん細胞株および検体を解析し，遺伝子増幅とタンパク発現にかい離が認められる事を同定した。FGFR 阻害薬は，遺伝子増幅とタンパク発現の両者を認める腫瘍において有効であり，タンパク発現の低い腫瘍では他の受容体が過剰発現していることを示した。

＜今後の計画＞

1. MAPK シグナル変異腫瘍（主に KRAS, BRAF 変異腫瘍）の分子生物学的背景の理解とこれらの変異腫瘍に対する新規治療開発
2. FGFR1 遺伝子増幅腫瘍に対する FGFR 阻害薬の治療効果を改善する因子の同定

【 研 究 業 績 】

＜発表論文＞

原著論文　（研究グループ主体のみ）

1. Kitai H, **Ebi H**. Key roles of EMT for adaptive resistance to MEK inhibitor in KRAS mutant lung cancer. ***Small GTPases.*** 2016 Jul 8:1-5. [Epub ahead of print]

2. Kitai H*, **Ebi H*,****, Tomida S, Floros KV, Kotani H, Adachi Y, Oizumi S, Nishimura M, Faber AC, Yano S**. Epithelial-to-mesenchymal transition defines feedback activation of receptor tyrosine kinase signaling induced by MEK inhibition in KRAS mutant lung cancer. ***Cancer Discov.*** 6:754-69, 2016. **(*; Co-First Author, **; Co-Corresponding Author)**

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*** 35:3587-97, 2016. **(*; Co-First Author, **; Co-Corresponding Author)**

著書・総説

1 衣斐寛倫　呼吸器疾患―最新の薬物療法― 1 悪性腫瘍 免疫チェックポイント阻害薬 p81-95　（分担執筆）克誠堂出版
2 衣斐寛倫, 矢野聖二　Pocket Drugs 2016, 68 抗悪性腫瘍薬（分子標的治療）p490-507　（分担執筆）医学書院
3 衣斐寛倫　RAS-RAF シグナル異常を示す腫瘍に対する治療開発と展望―基礎腫瘍内科　Vol. 17, No. 5, p544-548, 2016
4 衣斐寛倫，矢野聖二　消化器がんにおける分子標的治療：バイオマーカーと個別化治療　臨床消化器内科 Vol. 31, No. 7, p38-42, 2016

＜学会発表＞

1. 衣斐寛倫　Feedback mechanism as a cause of resistance and therapeutic targets in molecular targeted therapy).　第 14 回日本臨床腫瘍学会学術集会　インターナショナルシンポジウム 10　2016 年 7 月　神戸

2. 衣斐寛倫　Targeting RAS/RAF mutant cancers: Regulation of MAPK signaling is the key　第 14 回日本臨床腫瘍学会学術集会　インターナショナルシンポジウム 18　2016 年 7 月　神戸

3. 衣斐寛倫　EMT defines feedback activation of RTK signaling included by MEK inhibition in KRAS mutant lung cancer.　第 75 回日本癌学会学術総会　2016 年 10 月　横浜

4. Ebi H.　Combinatorial Approach Targeting KRAS Mutant Lung Cancers.　Kanazawa University /Duke-NUS Joint Cancer Symposium　2016 年 2 月　Singapore

5. Ebi H.　Epithelial-to-mesenchymal transition defines feedback activation of receptor tyrosine kinase signaling induced by MEK inhibition in KRAS mutant lung cancer. 6th FUSCC-CRIKU Joint Symposium on Tumor Biology　2016 年 9 月　Shanghai, China

6. Ebi H. EMT defined combinatorial strategy for treating KRAS mutant lung cancer. Hokkaido Univ-Kanazawa Univ International Cancer Forum for Young Scientists 2016年11月 Sapporo, Japan

＜知的財産＞

衣斐寛倫，矢野聖二，北井秀典：間葉系 KRAS 変異型がん治療剤

国際出願番号：PCT/JP2016/083921 国際出願日：2016 年 11 月 16 日

＜外部資金＞

1. 日本医療研究開発機構 次世代がん医療創生研究事業 研究分担者 衣斐寛倫
MAPKシグナル抑制が誘導するフィードバック機構の不均一性解明と制御に基づくKRAS/BRAF変異腫瘍に対する新規治療開発 12,692千円

2. 日本医療研究開発機構 革新的がん医療実用化研究事業 研究分担者 衣斐寛倫
産学連携全国がんゲノムスクリーニング事業SCRUM-Japanで組織した遺伝子スクリーニング基盤を利用した，多施設多職種専門家から構成されたExpert Panelによる全国共通遺伝子解析・診断システムの構築および研修プログラムの開発
3,000千円
3. 基盤研究（C）日本学術振興会 研究代表者 衣斐寛倫
上皮間葉移行状態に基づいたKRAS変異肺がんに対する治療開発 1,500千円

4. 国立がん研究センター研究開発費 研究分担者 衣斐寛倫
がんゲノム情報を用いた全国レベルでのprecision medicine体制構築に関する研究
250千円
5. 金沢大学附属病院臨床研究助成金 研究代表者 衣斐寛倫
KRAS変異肺がんに対するFGFR阻害薬耐性とMEK阻害薬の併用療法 2,000千円

＜共同研究＞

1. バイオインフォマティクスの手法を用いた新規治療開発
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 冨田秀太
2. 遺伝子多型と化学療法の治療効果予測
愛知県がんセンター研究所遺伝子医療研究部 松尾恵太郎，伊藤秀美
3. 各種臓器由来腫瘍に対する分子標的治療開発
Virginia Commonwealth University Anthony C Faber
4. KRAS 変異腫瘍に対する新規治療開発
Hudson Institute of Medical Research Brendan J. Jenkins

Inflammation and Epithelial Plasticity
上皮可塑性・炎症ユニット

<Research Team>

Associate Professor	Dominic Chih-Cheng VOON
Graduate student (Year 1)	Sauyee KOK (Co-supervisor: Prof. Oshima)

【 Abstract 】

Despite great advances in the past several decades in understanding the etiology of gastric cancer, it is still the third most lethal cancer globally, taking more than 700,000 lives annually. Atrophic gastritis caused by the chronic infection of *Helicobacter pylori* is widely held as the single greatest causal factor. We are interested in two aspects of gastric cell biology that play important roles during gastric carcinogenesis: 1) altered immune signaling during *H. pylori* infection; and 2) increased cellular plasticity during gastric inflammation and repair.

＜2016 research achievement and future plan＞

(1) Biochemical and functional characterization of a novel IL23A complex

We previously reported the production of the cytokine IL23A by gastric epithelial cells (Hor and Voon *et al.*, 2014, Cell Reports). This is strongly increased by *H. pylori* and inflammatory signals important in gastric pathogenesis, namely TNFα, IL-1α/β and NOD-1. Importantly, we showed that this induction is exquisitely dependent on the gastric tumor suppressor RUNX3 and its relative, RUNX1. We further observed that IL23A is secreted in a form distinct from canonical IL-23, which is a heterodimer of IL23A and IL12B. To deepen our analysis, we have generated clonal gastric cell lines that secrete high levels of epithelial-derived IL23A complex for the purpose of its purification. Specifically, we aim to study its biochemical composition and its ability to interact with IL23 Receptor (IL23R). IL23R has been implicated in numerous human autoinflammatory conditions, such as psoriasis and IBD. Canonical IL-23 is crucial for the effector functions of Th17 helper T cells, which are central coordinators of inflammation at the mucosa surfaces. We will study the immunological effects of epithelial IL23A complex in the differentiation and function of Th17 cells using human peripheral blood T cells.

(2) Epigenetic mechanisms underlying EMT-associated gastric cellular plasticity and stemness

In earlier studies, we observed that *Runx3*-deficient gastric epithelial cells undergo spontaneous Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT), which is accompanied by increased

cellular plasticity and stemness, marked by the expression of the stem cell markers *Lgr5* and *Hmga2* (Voon and Wang *et al.*, 2012, Stem Cells). Of note, *Hmga2* is induced by TGF-β and Egfr/Ras pathway, growth factor pathways frequently targetted during gastric carcinogenesis (Voon and Wang *et al.*, 2013, PLOS ONE). Hmga2 is a non-histone component of the chromatin and is proposed to maintain the chromatin in an opened conformation accessible to transcriptional factors and epigenetic modifiers. Therefore, we undertake the genome-wide chromatin immunoprecipitation-sequencing (ChIP-Seq) analysis of Hmga2 to interrogate the epigenetic changes underlying EMT-associated plasticity and tumorigenicity. This will be complemented by histone ChIP-Seq to reveal chromosomal regions with activating and repressing histone marks; and to correlate that with Hmga2-marked regions. Through this approach, we will gain insight into why EMT is associated with cellular plasticity and tumorigenicity.

【 Achievements 】

＜Publications (Collaboration)＞

1. Matsuo J, Kimura S, Yamamura A, Koh CP, Hossain MZ, Heng DL, Kohu K, Voon DC, Hiai H, Unno M, So JB, Zhu F, Srivastava S, The M, Yeoh KG, Osato M, and Ito Y. Identification of Stem Cells in the Epithelium of the Stomach Cprpus and Antrum of Mice. **Gastroenterology,** 152: 218-231, 2017.
2. Roy RK, Hoppe MM, Srivastava S, Samanta A, Shama N, Tan KT, Yang H, Voon DC, Pang B, The M, Murata-Kamiya N, Hatakeyama M, Chang YT, Yong WP, and Ito Y. CECAM6 is upregulated by Helicobacter pylori CagA and is a biomarker for early gastric cancer. **Oncotarget**, 7(34):55290-55301, 2016.

＜Symposiums＞

（International presentations）

1. Voon DC. A Role for RUNX3 in Gastric Immunity and Plasticity. 6th FUSCC-CRIKU Joint Symposium on Tumor Biology. 7 September 2016, Fudan University; Shanghai, China.
2. Voon DC. MicroRNA-135b as a node of convergence for multiple oncogenic pathways in gastrointestinal carcinogenesis. 21 Dec 2016, Harry Perkins Institute of Medical Research, Perth, Australia.

＜2016 research funds＞

1. 北國がん基金［研究代表者：Dominic Voon］

「胃がん上皮細胞から産生される IL-23A の新規複合体同定と機能解析」　1,000 千円

＜**Collaborations**＞

（Overseas）

Yoshiaki Ito (Cancer Science Institute of Singapore)

「*Characterization of epithelial IL23A Complex*」

＜**Others Contribution**＞

The Kanazawa University Cancer Research Institute International Symposium 2016. 15 November, 2016, Kanazawa; Joint coordinator.

ミトコンドリア動態ユニット
Mitochondrial Dynamics in Stem Cells

＜研究スタッフ＞
若手PI (助教)　笠原敦子

【研究概要】

ミトコンドリアは，エネルギー供給，アポトーシス，Ca^{2+} 制御など非常に多岐にわたる生命現象に深く関わり，細胞の生死を握るオルガネラである。ミトコンドリアの多面的な機能は，その非常に動的な形態・構造に由来しており，絶えず融合・分裂を繰り返すことで，その品質管理，細胞内局在，サイズ，運動性を細かく調節している。絶え間ないミトコンドリアの融合と分裂が，その複雑なネットワーク構造を作り出しており，その形態は細胞の生理状態，細胞腫によって大きく変化する。幹細胞は，分化能，自己複製能を備えた特殊な細胞集団で，組織再生に関わる正常幹細胞に加え，がん細胞にも同様の細胞集団が存在する。この幹細胞のミトコンドリアは，一般的に分化した細胞に比べ，未成熟なネットワーク構造であり，またクリステ構造も発達していない。正常，がん細胞両者の幹細胞の特別な性質の獲得，維持，また分化過程において，ミトコンドリア動態がどのように関わっているのか，以下のようなプロジェクトを推進することで解明していきたい。

1) 胚性幹細胞からの神経細胞分化におけるミトコンドリア融合因子の果たす役割
2) グリオブラストーマ幹細胞集団におけるミトコンドリア動態特性の同定，またミトコンドリア形態をターゲットとした薬剤スクリーニング
3) 幹細胞の維持，また分化・発達で必要不可欠なNotch1シグナルのカルシニューリンによる活性化機構の解明
4) 薬剤耐性肺がん細胞におけるミトコンドリア動態特性の同定，既存薬剤(gefitinib)との併用治療による根治は可能か

【研究業績】

＜論文発表＞

Bassoy EY*, Kasahara A*, Chiusolo V, Jacquemin G, Boydell E, Zamorano S, Riccadonna C, Pellegatta S, Hulo N, Dutoit V, Derouazi M, Dietrich PY, Walker PR, Martinvalet D. ER-mitochondria contacts control GSC surface glycan expression and sensitivity to killer lymphocytes. **EMBO J.** 2017 (Mar 10. pii: e201695429 doi: 10.15252/embj.201695429) *contributed equally to this work

＜学会発表＞

Kohno S., Nakata A., Gotoh N., Kohno T., Hirao A., and Kasahara A.
"*Mitochondrial Dynamics and functions in lung adenocarcinoma cells*"
EMBO meeting Translational Research in Cancer Metabolism 4-6 Oct 2016 Bilbao Spain, Poster presentation

＜外部資金＞
資金名：公益財団法人　武田科学振興財団　医学系研究奨励

研究題目：悪性神経膠腫（グリオーマ）におけるミトコンドリア動態の果たす役割の解明

総額： 2,000（千円）

開始年度：平成 28 年度，期間：指定なし

＜共同研究＞
学内
後藤典子，高橋智聡，河野晋
「薬剤耐性肺がん細胞におけるミトコンドリア特性について」

学外
Luca Scorrano, Marta Giacomello
“*Exploring the role of mitochondrial calcium dynamics in lung cancer cells*”
Luca Scorrano, Ildico Szabo, Andrea Urbani, Keitaro Shibata
“*Exploring the role of mitochondrial dynamics in neural differentiation from mouse embryonic stem cells*”

がん-免疫系相互作用ユニット
Cancer–Immune System Interactions

＜研究スタッフ＞
若手 PI：土屋 晃介

【 研 究 概 要 】

近年注目される免疫チェックポイント阻害療法は宿主の抗腫瘍免疫によるがん細胞排除に期待した治療法であるが、がん細胞が様々な機序（免疫抑制分子の発現や CTL への抵抗性の亢進など）でこれに耐性を獲得することは想定され得る。また、免疫チェックポイント阻害はがん微小環境内のシグナルネットワークにも大きな影響を与え、がん細胞のシグナル状態を劇的に変化させる可能性がある。本プロジェクトは、がん細胞が免疫チェックポイント阻害療法への耐性を獲得する機序を探索することで同療法の改善につながる新規治療標的の発見を目指す。特にがん微小環境内シグナルネットワークが治療抵抗機序の亢進に関わる可能性を検討し、関連するシグナル因子を同定する。本年は治療耐性化関連シグナル因子を生体内でスクリーニングするためのシステム構築に向けて準備的実験（ノックダウンがん細胞プールの作製など）を行った。今後、治療耐性化関連シグナル因子の候補を絞り込むために治療処置前後でのがん細胞遺伝子発現プロファイルの比較や全ゲノム規模 CRISPR/Cas9 システムを用いた CTL 抵抗性因子の探索などを行う予定である。

【 研 究 業 績 】

＜発表論文・著書＞

（原著論文・プロジェクト主体）

なし

（原著論文・共同研究）

1. Zhang P, Tsuchiya K, Kinoshita T, Kushiyama H, Suidasari S, Hatakeyama M, Imura H, Kato N, Suda T. Vitamin B6 Prevents IL-1β Protein Production by Inhibiting NLRP3 Inflammasome Activation. *J Biol Chem*. **291**:24517-24527. (2016)
2. Kochi Y, Miyashita A, Tsuchiya K, Mitsuyama M, Sekimizu K, Kaito C. A human

pathogenic bacterial infection model using the two-spotted cricket, Gryllus bimaculatus. *FEMS Microbiol Lett.* **363**: fnw163. doi: 10.1093/femsle/fnw163. (2016)

（日本語総説）
土屋晃介. “パイロトーシスの分子機構と意義” **実験医学**（羊土社）, 34: 1037-1044, 2016.

＜学会発表＞
土屋晃介（筆頭演者）“Involvement of the redox master regulator Nrf2 in host defense against *Listeria monocytogenes* infection” 中国免疫学会第十一届全国免疫学学術大会, 2016 年 11 月 7 日, 中華人民共和国安徽省（国外）

土屋晃介（筆頭演者）“A role for the redox master regulator Nrf2 in host defense against *Listeria monocytogenes* infection” 第 45 回日本免疫学会学術集会, 2016 年 12 月 7 日, 沖縄県宜野湾市（国内）

＜平成 26 年度 外部資金＞
土屋晃介（研究代表者）科研費　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」 1,560 千円 (直接経費 : 1,200 千円、間接経費 : 360 千円)

＜共同研究＞
須田貴司　金沢大学がん進展制御研究所
「カスパーゼ-1 依存的細胞死の機序解明」

方仁東　西南大学・中華人民共和国重慶市
「肺炎球菌感染におけるインフラマソーム構成タンパクの役割」

がん治療標的探索ユニット
Cancer Genes and Genomes

＜研究スタッフ＞
助教　　武田　はるな
研究補佐員　片岡　志帆

【 研 究 概 要 】

がんゲノム解読の研究により，がん組織が保持する数多くの遺伝子変異が同定された。同時に，がん組織は多様な遺伝子変異を有するサブクローンが混在する遺伝学的に不均一な組織であることが明らかにされた。しかしながら，変異のある遺伝子にはパッセンジャー遺伝子とドライバー遺伝子が混在しており，両者の区別をつけることが困難な状態であるためドライバー遺伝子の全体像は不明確な状態となっている。どの遺伝子変異が真にがん形成に寄与しているか，そしてどのようにがん形成に関与しているかについては，いまだ不明な点が多い。がん組織の遺伝学的不均一性は，腫瘍細胞の悪性化や治療抵抗性獲得の過程で最も適応度が高いクローンが選択される適者生存のプロセスに寄与すると考えられているが，多様なサブクローンを生体内で作り出しクローン間の競合をモデルできる系は限られているため，がん化のどのような環境がどのような遺伝子変異をもつ細胞を選択し悪性化していくのかを解明する研究は進んでいない。ドライバー遺伝子の全体像を明らかにすることで，がん化に関わるシグナリング経路や生物学的機能を包括的に明らかにすることにつながり，ドライバー遺伝子がどのような環境で機能するかを解明することは遺伝学的不均一性を理解し新たな治療標的の開発に結びつく。

これまでの研究において，消化管におけるがんドライバー候補遺伝子を網羅的に抽出することを目的とし，Sleeping Beauty（SB)トランスポゾンを用いた挿入変異誘発により腫瘍形成に関与する遺伝子同定を行ってきた。このシステムは，多様な遺伝子変異を有する不均一なサブクローン集団を作成し，マウス生体内で競合させることで悪性度の異なる腫瘍形成に寄与した遺伝子の同定が可能である。

そこで本研究では，(1）SB 挿入変異誘発法により同定した大腸がん形成に関与する候補遺伝子について，がん化能検証と機能解析を行うこと，(2）大腸がん転移に焦点を当て，遺伝学的に不均一ながん細胞集団がどのようなメカニズムで悪性化するかについて，マウスモデルを樹立し責任遺伝子の網羅的な同定により明らかにすることを目的とする。

＜発表論文＞

Haruna Takeda, Alistair G. Rust, Jerrold M. Ward, Christopher Chin Kuan Yew, Nancy A. Jenkins, and Neal G. Copeland

***Sleeping Beauty* transposon mutagenesis identifies genes that cooperate with mutant *Smad4* in gastric cancer development**

PNAS 113 (14) :E2057-2065, 2016

＜学会発表＞

1. 第 75 回日本癌学会学術総会 「Sleeping Beauty (SB)トランスポゾンによる大腸がん形成に関与する遺伝子の同定」2016 年 10 月 6-8 日 横浜・パシフィコ横浜
2. 第 2 回 AMED がん若手研究者ワークショップ 2016 年 11 月 29-30 日 東京・晴海グランドホテル「Sleeping Beauty (SB)トランスポゾンによる大腸がん形成に関与する遺伝子の同定」
3. ALBERTA-JAPAN Agency For Medical Research And Development (AMED) Workshop For Medical Innovation, 2017 年 2 月 24-25 日カルガリー, カナダ ・ハイアットホテル「Sleeping beauty transposon identifies genes involved in colon cancer development」

＜外部資金＞

1. 武田はるな；卓越研究員事業 H28-H32 年度
2. 武田はるな；文部科学省科学研究費補助金 若手研究（B）「胃がん形成に関わる遺伝子の同定と機能評価」H28.4-H29.3, 2,080 千円
3. 武田はるな；ノバルティス ファーマ研究助成 「腸上皮オルガノイド培養系を用いた大腸がん抑制遺伝子の機能評価」H28.4-H29.3, 500 千円
4. 武田はるな；次世代がん医療創生研究事業 若手育成枠 「マウスモデルを用いた消化器がんと脳腫瘍の悪性化に関わる遺伝子の同定と機能評価」H28-H29 年度 7,000 千円

基 礎 統 計

決算額（運営費交付金）　　（単位：千円）

区　　分		平成 24 年度	平成 25 年度	平成 26 年度	平成 27 年度	平成 28 年度
運営費交付金		624,321	567,178	589,380	603,234	584,800
内　訳	人件費	475,998	382,253	464,514	433,247	451,496
	物件費等	148,323	184,925	124,866	169,987	133,304

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 24 年度		平成 25 年度		平成 26 年度		平成 27 年度		平成 28 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	60,710	4	41,600	5	87,710	3	33,670	4	34,450
基盤研究（A）	1	26,910	1	15,210	1	14,560	2	23,140	2	20,800
基盤研究（B）	7	35,620	4	35,620	5	28,560	3	19,110	4	22,620
基盤研究（C）	9	17,745	15	25,805	13	21,450	12	20,410	12	19,370
挑戦的萌芽研究	4	4,810	4	5,590	6	11,650	6	12,090	3	4,810
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	16,640	7	15,210	8	15,080	8	15,340	12	24,959
研究活動スタート支援	0	0	0	0	2	2,860	3	4,290	2	2,730
特別研究員奨励費	1	900	0	0	0	0	0	0	1	1,170
国際共同研究加速基金	0	0	0	0	0	0	1	14,300	0	0
最先端・次世代研究開発支援プログラム	2	78,390	2	75,390	0	0	0	0	0	0
合　計	38	241,725	37	214,425	40	181,870	38	142,350	40	130,909

外部資金（間接経費を含む）　　（単位：千円）

年度 / 研究種目	平成 24 年度		平成 25 年度		平成 26 年度		平成 27 年度		平成 28 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	123,460	9	155,459	10	181,827	10	367,280	11	355,400
受託事業経費	1	16,600	0	0	2	2,965	1	2,500	1	2,600
補助金	0	0	2	14,500	2	22,240	1	19,070	1	9,000
民間等との共同研究	3	6,570	5	24,650	12	36,256	8	10,240	2	4,360
寄附金	16	24,774	23	32,635	14	18,774	18	17,752	29	36,753
合　計	27	171,404	39	227,244	40	262,062	38	416,842	44	408,113

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 29 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						34
			Ⅱ			1			
		博士課程	Ⅰ	2			2		
			Ⅱ	3	3	1	2		
			Ⅲ		3	2	1	1	
			Ⅳ	1	4		4		
	医学系研究科	博士課程	Ⅰ						
			Ⅱ						
			Ⅲ						
			Ⅳ		2	1	1		
	先進予防医学研究科	博士課程	Ⅰ			1			1
			Ⅱ						
			Ⅲ						
			Ⅳ						
	自然科学研究科	前期課程	Ⅰ						5
			Ⅱ		1		2		
		後期課程	Ⅰ				1		
			Ⅱ						
			Ⅲ				1		
研究生（特別研究学生含む）				1	2		1	2	6

※平成 24 年度に医学系研究科から医薬保健学総合研究科へ改組

交流協定校

平成 29 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. 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、韓国ソウル国立大学がん微小環境研究センター（SNU-GCRC）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28年4月4日(月)
10：00～16：00

場　　所：金沢大学医学部記念館

来場者数：約140名（大学院生60名、学外含めた研究者80名）

プログラム：

①セッションⅠ：

馬場　智久（金沢大学がん進展制御研究所）
Dong-Ho Lee（韓国ソウル国立大学がん微小環境研究センター（SNU-GCRC））
佐藤　　博（金沢大学がん進展制御研究所）
Young-Joon Surh（韓国ソウル国立大学がん微小環境研究センター(SNU-GCRC)）

②セッションⅡ：

Marc Diederich（韓国ソウル国立大学がん微小環境研究センター（SNU-GCRC））
須田　貴司（金沢大学がん進展制御研究所）
Jung Weon Lee（韓国ソウル国立大学がん微小環境研究センター（SNU-GCRC））

③セッションⅢ：

矢野　聖二（金沢大学がん進展制御研究所）
Ho-Young Lee（韓国ソウル国立大学がん微小環境研究センター（SNU-GCRC））
松本　邦夫（金沢大学がん進展制御研究所）
Young-Joon Surh（韓国ソウル国立大学がん微小環境研究センター（SNU-GCRC））

2. 金沢大学がん進展制御研究所国際シンポジウム

The Kanazawa University Cancer Research Institute International Symposium

目　　的：世界で著名な研究者との交流と最新のがん研究の動向についてディスカッションすることを目的とする。

日　　時：平成28年11月15日(火)
13：00～17：00

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180名

プログラム：

■特別講演

Jean Paul Thier（フランス国立科学研究センター）

①セッションⅠ

衣斐　寛倫（金沢大学がん進展制御研究所）

Wai Leong Tam（シンガポール国立大学がん科学研究所）

②セッションⅡ

鈴木　健之（金沢大学がん進展制御研究所）

Brendon Jenkins（オーストラリア・ハドソン医学研究所）

3. 共同利用・共同研究拠点シンポジウム

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28年度は国内の共同研究採択者全員（採択総数53件）が一堂に集い、口頭またはポスターによる成果を発表。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29年2月14日(火)・15日(水)

場　　所：金沢東急ホテル

来場者数：321名（2日間延べ）

プログラム：

①セッション1

大里　元美（熊本大学国際先端医学研究機構）
平位　秀世（京都大学医学部附属病院）
中村　卓郎（がん研究会がん研究所発がん研究部）
落合　淳志（国立がん研究センター先端医療開発センター）

②セッション2

三木　貴雄（京都大学大学院医学研究科）
井上純一郎（東京大学医科学研究所）
高木　淳一（大阪大学蛋白質研究所附属蛋白質解析先端研究センター）

■特別講演

坂口　志文（大阪大学免疫学フロンティア研究センター）

③セッション3

大木理恵子（国立がん研究センター研究所）
平田　英周（金沢医科大学医学部）
清末　優子（理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター）

③セッション4

田所　優子（金沢大学がん進展制御研究所）
中山　瑞穂（金沢大学がん進展制御研究所）
酒井　克也（金沢大学がん進展制御研究所）
衣斐　寛倫（金沢大学がん進展制御研究所/新学術創成研究機構）