

金沢大学がん進展制御研究所 年報 2017年

金沢大学
がん進展制御研究所

年報

2017年

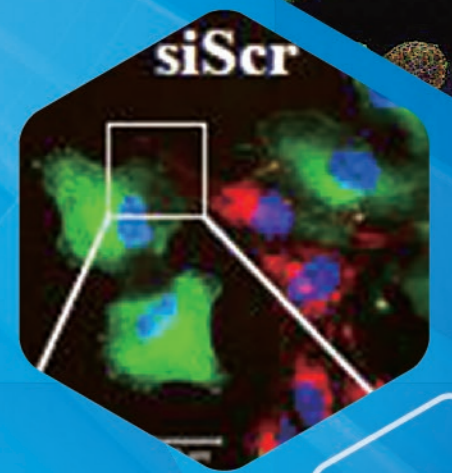
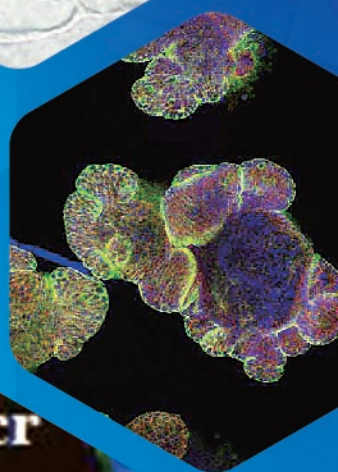


金沢大学がん進展制御研究所年報2017年

[発行] 金沢大学がん進展制御研究所
〒920-1192 石川県金沢市角間町 TEL: 076-264-6700(代) FAX: 076-234-4527

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

Annual Report Cancer Research Institute
Kanazawa University



巻頭言

2017年度は、本研究所にとって設立50周年にあたる記念すべき年でありました。

10月に開催されました記念国際シンポジウム、記念式典、記念祝賀会には、国内外から本研究所にゆかりのあるたくさんの方々にお集まりいただきました。本研究所への暖かい励ましや、将来の研究所の方向性に関する貴重なご意見などを含め、様々なお言葉をいただき、感謝の念に堪えません。本研究所が多くの方に親しまれ、愛され、見守られていることを実感いたしました。本研究所の応援団の皆様の期待に添えるよう、決意を新たにしました次第です。

本研究所の目標は、設立当時と変わらず、「がんに関する学理及びその応用研究」を進めることです。全国の附置研の中で唯一、がんの研究に特化した本研究所の特色を生かして、優れた基礎研究とそのシーズを活用した革新的な診断・治療法の開発や臨床応用、また、将来のがん研究や医療を担う人材の育成に貢献したいものです。

2017年度は、その戦略を「見える化」するために、研究組織の改編を行いました。研究所概要に組織図を掲載しておりますが、研究所の組織は、基幹プログラムと戦略的プログラムから構成されています。基幹プログラムは、それぞれの研究分野の基盤的な研究活動から成り立ち、一方、戦略プログラムでは、現在、研究所全体として特に推進しなければならないミッションを明示しています。さらに、最も重要なミッションとして、次世代を担う若手研究者の育成が挙げられます。若手研究者の研究推進の一環として、新学術創成研究機構(InFiniti)のがん進展制御研究コアの若手PI教員、卓越研究員がメンター教員の研究分野と連携しながら独立的な研究を進めています。次に、共同利用・共同研究拠点活動の推進が挙げられます。現在、2期目の「がんの転移・薬剤耐性に関する先導的共同研究拠点」としての活動を継続していますが、2017年度も、国内共同研究に加えて国際共同研究も積極的に採択し、実施いたしました。それを支える研究資源の充実も図りました。また、国際化を進めるために、海外研究機関からの研究者招へいや、海外連携研究機関とのジョイントシンポジウムに若手研究者を派遣するなど、研究所の国際化による拠点機能強化を実践しました。

ここに、2017年度の各研究分野の活動状況を報告致します。各研究分野の研究への取り組みについてご理解頂く機会となれば幸いです。

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2017年

目次

巻頭言

研究概要と研究業績

先進がんモデル共同研究センター

腫瘍遺伝学研究分野	2
分子病態研究分野	8
上皮幹細胞研究分野	15

がん幹細胞研究プログラム

遺伝子・染色体構築研究分野	18
腫瘍分子生物学研究分野	23
分子生体応答研究分野	29

がん微小環境研究プログラム

免疫炎症制御研究分野	36
腫瘍動態制御研究分野	40

がん分子標的探索プログラム

シグナル伝達研究分野	46
腫瘍制御研究分野	50
機能ゲノミクス研究分野	59

がん分子標的医療開発プログラム

腫瘍内科研究分野	64
----------	----

中央実験施設

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	84
上皮可塑性・炎症ユニット	88
ミトコンドリア動態ユニット	91
がん-免疫系相互作用ユニット	93
がん治療標的探索ユニット	95

基礎統計・教育活動

各種シンポジウム開催状況

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 特任助教 越前 佳奈恵
助教 中山 瑞穂 博士研究員 Jun-Won Park (JSPS)
大学院生 (医学博士課程 4年) 坂井 絵梨
大学院生 (医学博士課程 2年) Sau Yee Kok
大学院生 (医学博士課程 2年) 山本 大輔, 辻 敏克 (県立中央病院)
大学院生 (医学博士課程 1年) Zachary Wei Ern Yong
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 上皮可塑性・炎症ユニット)
助教 武田 はるな (卓越研究員 がん治療標的探索ユニット)

【 研究 概 要 】

消化器がんの発生に関与するドライバー遺伝子変異について、ゲノム解析により次第に明らかにされている。一方で、実際の発がんや悪性化進展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、未だ本態解明には至っていない。腫瘍遺伝学研究室では、胃がんや大腸がんのマウスモデルを用いた遺伝学的解析や、ヒトおよびマウスに発生した腫瘍組織由来のオルガノイドを用いた移植実験、発現実験などにより、胃がん・大腸がん発生に関わるドライバー変異と、慢性炎症や間質の線維性変化による微小環境との相互作用による発がんおよび悪性化機構を理解することを目標として研究を推進させている。今年度は大腸がん悪性化を再現するモデルおよびオルガノイドの開発に成功し、それを基盤に新たなプロジェクト研究をスタートさせた。

<2017年の研究成果, 進捗状況>

(1) Stat3による腸上皮幹細胞制御および発がん誘導
炎症反応による発がん促進機構として IL-6/Stat3 が重要なシグナル経路として報告されている。しかし、詳細な分子機序は不明であり発がん促進作用についても議論がある。そこで Stat3 遺伝子欠損マウスを用いた解析を推進し、Stat3 は腸上皮幹細胞の生存および増殖に必須であり、Stat3 欠損マウスでは損傷した腸管粘膜が再生されないことを明らかにした。一方で、Stat3 欠損による発がん抑制作用は見られず、今後は Stat3 と PGE₂ や NF-κB との相互作用による発がん機構への関与を解析する。

(2) 変異型 p53 発現による大腸がん悪性化

ヒト固形がんにおける p53 変異の 74%はミスセンス変異型であり，変異 p53 の gain-of-function (GOF) による腸管腫瘍の悪性化誘導機構を，*Apc*^{A716} と *Trp53*^{R270H} の複合マウスの解析により明らかにした。また，野生型 p53 による変異 p53 の核局在抑制作用を明らかにし，これらの成果を報告した (Nakayama et al, *Oncogene*, 2017)。さらに LOH による野生型 p53 の欠損が，大腸がん細胞の clonal expansion 能力獲得の鍵になっている可能性を示す結果を得た。今後，p53 変異+LOH による悪性化誘導機構を明らかにする。

(3) 炎症反応による胃がん発生促進機構

胃がん組織で TNF- α 依存的に誘導される遺伝子群から，NOX1 複合体を構成する分子として，活性酸素種 (ROS) 産生に関与する Nox1 を腫瘍促進因子として同定した。Nox1 発現が NF- κ B に制御されること，また分裂上皮細胞で発現し，炎症依存的な過形成に重要な役割を果たすことを，個体レベルおよび細胞培養実験により明らかにした。

今年度から，新たに胃がん患者の非がん部胃粘膜組織検体を用いて，炎症依存的な胃粘膜上皮のクローン拡大に関する解析を開始した。新規発がん機構として期待される。

(4) ドライバー遺伝子蓄積による大腸がん悪性化機構

ヒト大腸がんで高頻度に変異が見られる 5 種類のドライバー遺伝子，*Apc* (A)，*Kras* (K)，*Tgfr2* (T)，*p53* (P)，*Fbxw7* (F) に着目し，異なる組み合わせで変異を導入したマウスを作製し，また各マウス腫瘍由来のオルガノイドを樹立し，遺伝子型変化に依存した原発巣・転移巣の表現型変化の相関を包括的に解析した。その結果，AKT を含む遺伝子型で高い転移効率を認めるなど，新規悪性化機構を明らかにした (論文投稿中)。

<今後の計画>

消化器がんを対象としたマウスモデルおよびオルガノイド解析，およびヒト臨床検体を用いた検証を通して，消化器がん転移機構の理解と治療戦略確立を目指す。

そのために，ドライバー遺伝子変異が蓄積したマウス大腸がん細胞を用いた肝転移モデルを応用した研究を推進する。具体的には，発現解析とスクリーニングによる転移促進因子の特定，異なる変異細胞を用いた多様性による悪性化，転移巣における炎症反応・腫瘍免疫誘導および抑制機構の解析を推進する。さらに，ヒト大腸がん由来オルガノイドを用いた検証を実施し，特定した標的分子に関する POC の取得を目指す。

また，胃粘膜特異的な CreER 発現マウスの開発も進んでおり，これを用いた胃粘膜上皮の恒常性，再生，発がん機構の解析を行い，同時に炎症依存的なクローン拡大による発がん誘導機構を遺伝学的に明らかにする。

【研究業績】

<発表論文・著書>

(腫瘍遺伝学研究分野 論文・著書)

1. Nakayama M, Sakai E, Echizen K, Yamada Y, Oshima H, Han TS, Ohki R, Fujii F, Ochiai A, Robine S, Voon DC, Tanaka T, Taketo MM, and Oshima M. Intestinal cancer progression by mutant p53 through the acquisition of invasiveness associated with complex glandular formation. *Oncogene*, 36: 5885-5896, 2017.
2. Sakai E, Nakayama M, Oshima H, Kouyama Y, Niida A, Fujii S, Ochiai A, Nakayama KI, Mimori K, Suzuki Y, Hong CP, Ock CY, Kim SJ, and Oshima M. Combined mutation of *Apc*, *Kras* and *Tgfbr2* effectively drives metastasis of intestinal cancer. *Cancer Res*, 78: 1334-1346, 2018.
3. Han TS, and Oshima M. Laser micro dissection of cellular compartments for expression analyses in cancer models. *Methods Mol Biol*, 1725: 143-153, 2018.

(共同研究による共著論文)

1. West AC, Kang T, Tye H, Yu L, Deng N, Najdovska M, Lin SJ, Balic JJ, Okochi-Takada E, McGuirk P, Keogh B, McCormack W, Bhathal PS, Reilly M, Oshima M, Ushijima T, Tan P, and Jenkins BJ. Identification of a TLR2-regulated gene signature associated with tumor cell growth in gastric cancer. *Oncogene*, 36: 5134-5144, 2017.
2. Loo TM, Kamachi F, Watanabe Y, Yoshimoto S, Kanda H, Arai Y, Nakajima-Takagi Y, Iwama A, Koga T, Sugimoto Y, Ozawa T, Nakamura M, Kumagai M, watashi K, Taketo MM, Aoki T, Narumiya S, Oshima M, Arita M, Hara E, and Ohtani N. Gut microbiota promotes obesity-associated liver cancer through PGE₂-mediated suppression of antitumor immunity, *Cancer Discov*, 7: 522-538, 2017.
3. Kimura Y, Ikuta K, Kimura T, Chiba T, Oshima H, Oshima M, Nishi E, and Seno H. Nardilysin regulates inflammation, metaplasia, and tumors in murine stomach. *Sci Rep*, 7: 43502, 2017.
4. Nakanishi T, Ohno Y, Aotani R, Maruyama S, Shimada H, Kamo S, Oshima H, Oshima M, Schuetz JD, and Tamai I. A novel role for OATP2A1/SLCO2A1 in a murine model of colon cancer. *Sci Rep*, 7: 16567m 2017
5. Suzuki Y, Kitahara S, Suematsu T, Oshima M, and Sato Y. Requisite role of vasohibin-2 in spontaneous gastric cancer formation and accumulation of cancer-associated fibroblasts. *Cancer Sci*, 108: 2342-2351, 2017.

(日本語総説)

1. 大島正伸. 炎症とがんの発生・進展. 炎症と免疫 (先端医学社) vol. 25, 146-150, 2017.

2. 大島浩子, 大島正伸. NSAIDs と消化器がん発生. *Bio Clinica* (北隆館) vol. 32, 1082-1086, 2017.
3. 大島浩子, 越前佳奈恵, 中山瑞穂, 大島正伸. 炎症性微小環境が促進する消化器がんの発生と悪性化進展. *リンパ学* (日本リンパ学会機関誌) vol. 40, 43-47, 2017.
4. 大島正伸. がん転移の動物モデル. 日本臨床「がん転移学・下」(日本臨床社) 345-349, 2017.

<国際学会・全国学会発表>

(招待講演)

1. Oshima M. Multistep co-evolution of cancer and microenvironment toward malignancy. *AMED-Alberta workshop for medical innovation*, カルガリー (カナダ), 2017年2月25日
2. Oshima M. Gastric cancer promotion by innate immunity and chronic inflammation. 第89回日本胃癌学会総会, 広島, 2017年3月9日
3. Oshima M. Molecular subtypes and evolution of colon cancer. *The 10th Annual Meeting of Singapore Gastric Cancer Consortium (SGCC)*, シンガポール, 2017年7月19日
4. 大島正伸. 消化器がんにおける遺伝子変異と微小環境相互作用の解明と治療へのアプローチ. 第15回日本臨床腫瘍学会学術集会, 神戸, 2017年7月28日
5. 大島正伸. 炎症反応依存的な胃発がんにおける NOX1 活性誘導. 第14回レドックス・ライフイノベーションシンポジウム, 仙台, 2017年10月27日
6. Oshima M. Comprehensive phenotypic characterization of intestinal cancer with multiple driver mutations. 第48回高松宮妃癌研究基金国際シンポジウム, 東京, 2017年11月7日
7. Oshima M. Malignant progression of colon cancer through genetic alterations associated with microenvironment generation. 第28回日本消化器病発生学会総会 第9回国際消化器病発生会議, 熊本, 2017年11月18日
8. Oshima M. Malignant progression of intestinal cancer by combination of driver mutations. *The 3rd Special International Symposium on "Current Trends in Cancer and Signaling"*. 蔚山 (韓国), 2017年11月24日
9. Oshima M. Nuclear mutant p53 induces colon cancer progression through induction of aberrant and invasive tumor glands. 第40回日本分子生物学会 第90回日本生化学会 合同年次大会, 神戸, 2017年12月8日

(口演/ポスター発表)

1. 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"*, 大阪, 2017年1月20日

2. Oshima M. Inflammatory microenvironment for gastrointestinal cancer progression. *The Joint Symposium on Tumor Microenvironment and Precision Oncology*, ソウル (韓国), 2017年5月22日
3. Sakai E, Kok Sau Yee, Nakayama M, Oshima H, Oshima M. Competition analysis of intestinal tumor organoids for metastasis between different set of compound mutations. The 3rd International Symposium on Cell Competition, 札幌, 2017年8月29日
4. Oshima M. Combination of driver mutations for malignant invasion and metastasis. 第76回日本癌学会学術総会 (International Session), 横浜, 2017年9月29日
5. Oshima H, Sakai E, Nakayama M, Oshima M. Critical role of Stat3 in intestinal regeneration but not in Wnt-activated tumorigenesis. 第76回日本癌学会学術総会, 横浜, 2017年9月28日
6. Nakayama M, Sakai E, Oshima H, Echizen K, et al. Novel model systems for colon cancer progression by accumulation of multiple driver mutations. 第76回日本癌学会学術総会 (シンポジウム), 横浜, 2017年9月29日
7. Sakai E, Nakayama M, Fujii S, Ochiai A, Oshima H, Kim SJ, Oshima M. Minimum requirement of driver mutations for colon cancer metastasis. 第76回日本癌学会学術総会, 横浜, 2017年9月30日
8. Echizen K, Aoki Y, Horiuchi K, Oshima H, Oshima M. Functional analysis of Nox1/Nox1 complex in gastritis and inflammation-associated gastric tumor development. 第76回日本癌学会学術総会, 横浜, 2017年9月30日
9. 越前佳奈恵. 炎症依存的な胃発がんモデルマウスを用いた研究. 金沢がん研究者フォーラム・北信がんプロ FD 講演会, 金沢, 2017年11月21日
10. Oshima M. Recapitulating human colon cancer malignant progression in mouse model. *The 12th International Symposium of Institute Network*, 東京, 2017年11月28日

<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」 38,500 千円
2. 革新的がん医療実用化研究事業 (AMED) [研究代表者: 大島 正伸]
「大腸がん細胞の多段階悪性化が制御する微小環境形成ネットワーク機構の解明と新規予防治療戦略の確立」 11,075 千円
3. 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
4. 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」 1,200 千円

5. 基盤研究 (C) [研究代表者 中山 瑞穂]

「大腸がん転移・再発における p53 遺伝子 LOH と不均一性獲得に関する個体モデル解析」1,400 千円

6. 若手研究 (B) [研究代表者 越前佳奈恵]

「胃炎組織におけるクローン拡大と発がんメカニズムの解明」2,000 千円

7. 三菱財団助成 [研究代表者 大島正伸]

「新規マウスモデル開発による胃がん悪性化機構の解明」7,000 千円

<共同研究>

(海外)

1. Brendan Jenkins, モナシュ大学ハドソン医科学研究所・教授 (オーストラリア)

「Advanced model research for understanding the molecular pathogenesis of gastric cancer」

2. Seong-Jin Kim, ソウル国立大学・教授 (韓国)

「Bioinformatics analysis on progressed colon cancer cells」

(国内：共同研究拠点採択課題)

1. 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・独立ユニット長)

「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」

2. 清川悦子 (金沢医科大学 医学部病理 I・教授)

「マウス消化管腫瘍の携帯の複雑さを制御する分子機構の解明」

3. 清末優子 (理化学研究所 細胞動態解析ユニット・ユニットリーダー)

「APC 変異マウスの腫瘍形成における遺伝子型-表現型相関の分子機構の解析」

4. 出口敦子 (東京女子医科大学 薬理学・助教)

「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増悪化」

5. 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・特任准教授)

「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」

6. 三森功士 (九州大学病院別府病院 外科・教授)

「ヒト陥凹型大腸がんにおける浸潤能と悪性度の獲得機構の解明」

7. 大浜 剛 (山口大学共同獣医学部 薬理学・准教授)

「胃癌の発症・悪性化における筋線維芽細胞の PP2A 阻害タンパク質発現の役割」

<その他>

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 (金沢大学がん進展制御研究所後援)」若手支援技術講習会開催 (実行委員長：大島正伸), 平成 29 年 9 月 7 日～9 日, 蓼科 (全国から大学院生・若手研究者約 93 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, 西 くるみ, 小浦場 志津

<大学院生>

博士課程 1 年 Reheman Yiming, Xiaoxi Chen

大学院特別研究学生 (復旦大学修士課程 2 年) 李影奕

【 研究 概 要 】

がんとう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) セマフォリンシグナルは細胞内 MICAL3 の活性化を介して、がん幹細胞の対称性分裂を促進する

乳がんは、今や日本人女性の 12 人に 1 人が一生のうち一度は罹患するという、女性の罹患数が最も多いがんであり、近年益々増加している。乳がんの約 15%を占めるトリプルネガティブタイプの症例の中に極めて予後の悪い症例が存在するため乳がんによる死亡数は増加の一途を辿っており、その難治性は早急に解決すべき深刻な問題である。この難治がんを克服するためには、初期治療の段階で残存がん細胞を可能な限り少なくし、がんを根治することが重要である。この再発の温床となるのが、がん幹細胞である。がん幹細胞は分裂する際、がん幹細胞 1 個と分化したがん細胞 1 個に分裂する非対称性分裂と、同じがん幹細胞 2 個に分裂する対称性分裂の 2 種類の分裂パターンを示す。悪性のがん幹細胞は対称性分裂の頻度を増加させると考えられている。がん幹細胞の分裂パターンがどのように制御されているかこれまで不明であった。

今回、私たちは、がん幹細胞がセマフォリンシグナルを使って、対称性分裂を起こしていることを見出した。セマフォリンは、元々は神経軸索の反発シグナルを起こす

細胞外リガンドとして知られていた。私たちは、セマフォリンの受容体であるニューロピリン受容体が乳がん幹細胞の細胞膜上に強く発現していることを見出した。また、神経軸索反発シグナルに重要な役割を果たす MICAL ファミリー分子のうち、MICAL3 ががん細胞に強く発現していることも見出した。セマフォリンがニューロピリン受容体に結合すると、MICAL3 のもつ oxidase 並びに monooxygenase が活性化し、CRMP2 が二量体化する。二量体化した CRMP2 は、Numb と複合体を作る。CRMP2 と結合した Numb タンパク質は細胞内で安定化し、両娘細胞ともに Numb タンパク質を強く発現する分裂、すなわちがん幹細胞の対称性分裂を引き起こす。これが、がん幹細胞の対称性分裂を起こす基本メカニズムであることがわかった。

2) がん幹細胞の対称性分裂を制御する MICAL3 を標的とする阻害剤の開発

MICAL3 を標的とする低分子阻害剤の開発を目指している。MICAL3 の monooxygenase ドメインを大腸菌にて発現させる系を構築した。MICAL3 そのものは不溶性になりやすいタンパクであり、可溶性を高める NusA タンパク質との融合タンパク質として大量精製する系を構築した。これを用いて、ハイスループットスクリーニングの系を構築した。活性酸素の産生を測定することによる oxidase 活性の測定系をファーストスクリーニングの系とし、monooxygenase 活性によるアクチンの脱重合反応による NADP 産生を測定する系をセカンドスクリーニングの系とした。理化学研究所の所有する既存薬ライブラリー(3,865 化合物)を用いてハイスループットスクリーニングを行ったところ、ファーストスクリーニングで7化合物、セカンドスクリーニングで1化合物の true hit が得られた。現在、この true hit の評価を更に進めるとともに、さらなるヒット化合物を探索するため2万に及ぶ化合物をスクリーニング中である。

3) 乳腺前駆細胞による腫瘍微小環境の制御メカニズム：腫瘍微小環境の新規分子標的 FRS2beta

がん細胞が組織の中で増殖し、大きながん組織を作っていく際に、その微小環境が重要な役割を果たすことが知られているが、分子機構は不明な点が多い。私たちは、ERK の活性化を抑制する FRS2beta アダプタータンパク質が乳腺組織のルミナル前駆細胞に特異的に発現し、腫瘍微小環境をがん細胞が増殖しやすい環境に変貌させることを見出した。乳がんマウスモデル MMTV-ErbB2 mice と FRS2beta ノックアウトマウスを交配させ、乳腺腫瘍の形成を調べたところ、FRS2beta をノックアウトしたマウスの乳腺腫瘍の増殖は野生型マウスに比較し著しく遅かった。FRS2beta の発現部位を調べたところ、乳腺組織のルミナル前駆細胞に特異的に発現していることがわかった。前癌状態の乳腺前駆細胞を濃縮するため、乳腺細胞をスフェロイド培養し RNA を抽出、DNA マイクロアレイを用いて発現している転写産物を網羅的に調べた。Gene Set

Enrichment analysis (GSEA)の結果、野生型の乳腺細胞では炎症シグナルや未分化シグナル関連遺伝子が濃縮していた。炎症シグナルからはCXCL12, 未分化シグナルからはIGF1が見出された。In vitro 及び in vitro の実験により、前者はがん間質細胞の移動、後者はがん幹細胞の維持増殖に重要な役割を果たすことが示された。以上より、乳腺ルミナル前駆細胞内で ERK が過剰に活性化しないよう制御する FRS2beta は、前癌ルミナル前駆細胞内ではサイトカインの産生を高めて、腫瘍が増殖しやすい微小環境を構築することがわかった。FRS2beta は、腫瘍微小環境の新規分子標的と考えられる。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著論文

1. Garg A, Bansal M, Gotoh N, Feng G-S, Zhong J, Wang F, Kariminejad A, Brooks S.: Shp2 mediated activation of Alx4 in neural crest is critical for lacrimal gland morphogenesis in human and mouse. PLoS Genet, in press. (共同研究)
2. Yamamoto M, Sakane K, Tominaga K, Gotoh N, Niwa T, Kikuchi Y, Tada K, Goshima N, Semba K, Inoue J-I.: Intratumoral bidirectional transitions between epithelial and mesenchymal cells in triple-negative breast cancer. Cancer Sci, 108, 1210-1222: 2017. (共同研究)
3. Kitajima S, Yoshida A, Kohno S, Suzuki S, Nagatani N, Li F, Nishimoto Y, Sasaki N, Muranaka H, Wan Y, Thai T, Okahashi N, Matsuda F, Shimizu H, Nishiuchi T, Suzuki Y, Tominaga K, Gotoh N, Suzuki M, Ewen M, Barbie D, Hirose O, Tanaka T, Takahashi C.: The RB-IL-6 axis controls self-renewal and endocrine therapy resistance by fine-tuning mitochondrial activity. Oncogene, 26, 5145-5157, 2017. (共同研究)
4. Sasahara A, Tominga K, Nishimura T, Yano M, Kiyokawa E, Noguchi Miki, Noguchi Masakuni, Kanauchi H, Ogawa T, Minato H, Tada K, Seto Y, Tojo A, Gotoh N.: An autocrine/paracrine circuit of growth differentiation factor (GDF) 15 has a role for maintenance of breast cancer stem-like cells. Oncotarget, 8, 24869-24881, 2017. (分野主体)
5. 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, 36, 1276-1286, 2017. (分野主体)
6. 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, 11, 621-630, 2017. (共同研究)

<著書>

Gotoh, N. FRS2. Encyclopedia of Signaling Molecules, 2nd Edition, Springer, Heidelberg, Germany, 2017, in press.

<学会発表>

<国際学会>

1. Noriko Gotoh: “Growth factor signaling controls breast cancer stem-like cells and their niche”
The Korean Society for Biochemistry and Molecular Biology (KSBMB) International Conference 2017. 2017年5月 Busan, 韓国 (招待講演)
2. Noriko Gotoh: “Semaphorin signal via MICAL3 induces symmetrical cell division of cancer stem-like cells” 2017 AACR Annual Meeting, Symposium “Tumor Stem Cell Biology”
2017年4月 ワシントン D.C. 米国 (シンポジウム口頭発表)

<全国学会>

1. 後藤典子: “がん関連線維芽細胞による乳がん幹細胞維持機構の解析”
2017 生命科学系学会合同年次総会 (ConBio2017) 2017年12月 神戸(招待講演)
2. 後藤典子: “ミトコンドリア 1 炭素代謝経路とがん幹細胞, 薬剤抵抗性” がん代謝研究会 2017年7月 札幌 (招待講演)
3. 後藤典子: “増殖因子によるがん幹細胞とそのニッチ制御の分子機構” 第9回シグナルネットワーク研究会 2017年5月 横浜 (招待講演)
4. 後藤典子: “一炭素代謝経路ミトコンドリア内酵素による肺がん幹細胞の維持” 第27回日本サイトメトリー学会学術集会 難治がん～治療標的の同定と創薬への展望～ 2017年5月 神戸 (招待講演)
5. 後藤典子: “Cancer stem-like cells derived from breast cancer or lung cancer” 第33回

日本毒性病理学会総会 2017年1月 大阪（招待講演）

6. 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12回分子標的治療学会 TR ワークショップ 2017年1月 東京（招待講演）
7. 西村建徳：“葉酸代謝経路酵素，MTHFD2 ノックダウンによる幹細胞様形質の減弱” 金沢大学がん進展制御研究所・北海道大学遺伝子病制御研究所ジョイントシンポジウム，2017年12月18日，金沢
8. 西村建徳：“Drug-resistance and cancer stem-like properties dependent on the mitochondrial metabolic enzyme” 第76回日本癌学会学術集会，2017年9月28，29，30日，横浜
9. 西村建徳：“肺がんにおける MTHFD2 の役割” 第21回日本がん分子標的治療学会，2017年6月14，15，16日，福岡
10. 西村建徳：“固形腫瘍における MTHFD2 の役割” 第27回日本サイトメトリー学会学術集会，2017年6月10，11日，神戸

<研究会>

1. 後藤典子：“乳がんスフェロイドとがん間質細胞培養を用いた腫瘍微小環境治療標的の探索” 第1回がん三次元培養研究会 2017年12月 東京（口頭発表）
2. 後藤典子：“増殖因子によるがん幹細胞とそのニッチ制御の分子機構“ 第9回シグナルネットワーク研究会 2017年5月 横浜（招待講演）
3. 西村建徳：“Cancer stem-like properties dependent on the mitochondrial metabolic enzyme” 第1回がん三次元培養研究会，2017年12月11日，東京

<研究会開催>

第1回がん三次元培養研究会 2017年12月 東京

<外部資金>

1. 後藤典子，基盤研究 B（一般），H27.4.1-31.3.31，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, H29.4.1-30.3.31, 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, H28.9.1-30.3.31, 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, 151 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. 西村建徳, 若手研究 B (一般), H29.4.1-31.3.31, 代表, 3,100 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- κ B 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. 鈴木穰 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, スウェーデン, 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ェイ解析」
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」

15. Xin Cheng, 復旦大学

< 共同利用・共同研究拠点 >

1. 井上純一郎 教授, 東京大学
「トリプルネガティブ乳癌幹細胞維持における転写因子 NF- κ B の役割解明」
2. 河野隆志 分野長, 国立がん研究センター
「がん幹細胞形質を指標とした薬剤耐性にかかわるシグナル制御機構の解明」
3. 下野洋平 准教授, 神戸大学
「潜在転移乳がん細胞の幹細胞性を特徴づける MEF2 シグナルの解析」
4. 浅井 歩 特任研究員, 大阪大学
「がん特有の代謝特性を利用した新規がん標的探索システムの構築と抗がん剤開発」
5. 坂本毅治 助教, 東京大学
「固形がんの抗がん剤抵抗性に関わる新たな分子機構の解析」
6. 遠藤一平 助教, 金沢大学
「PDX モデルを用いた頭頸部癌化学療法のための新規バイオマーカーの確立と治療効果予測への応用」

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 (共同研究拠点)
博士研究員 寺門 侑美 技術補佐員 定免 由枝
研究補助員 齋藤 喜久江

【 研究 概 要 】

本研究分野は、Barker 博士を主任研究者とし、上皮幹細胞マーカー *Lgr5* に着目したマウスモデルとオルガノイド培養技術を駆使して、胃がんおよび大腸がん幹細胞の自己複製能・制御機構の解明を目指して研究を行っている。

これまでに、Barker 博士が主宰するシンガポール A-STAR 研究所の研究グループとの共同研究を通して、胃体部における *Lgr5* 陽性正常組織幹細胞を特定し、その制御機構を遺伝学的手法により明らかにした。また、K-Ras などのがん遺伝子の変異により、これらの正常組織幹細胞で EGFR 経路が活性化することで、前がん病変の形成が誘導されることを示し、共同研究成果として論文発表した (Leushacke M *et al.*, *Nat. Cell Biol.*, 2017)。

現在、これらの知見を踏まえ、炎症を伴う悪性がんを発症する新たなマウスモデルを作製し、生体内における消化器がん幹細胞の可視化を通して、その制御機構を個体レベルで解明することを目指している。具体的には、以下の項目について研究を進めた。

- 1) 胃がん・大腸がんの悪性化に関与する新規遺伝子変異の探索
- 2) 正常組織幹細胞の維持に関与する新規シグナル経路の探索
- 3) 新規悪性化胃がん発生モデルおよびドライバー遺伝子変異モデルの作製

今後、これらの研究をさらに推し進め、*Lgr5* 陽性幹細胞の制御機構を中心に、新規シグナルや新規遺伝子変異が関与する幹細胞特性を理解する。また、腫瘍原性の制御に基づく新しいがんの予防・治療法の開発や、組織幹細胞の再生能力を生かした再生医療の実現への展開を目指す。

A-STAR との共同研究論文

Leushacke M., Tan S.H.*, Wong A.*, Yada S.*, Hajamohideen A., Tan L.T., Goh J., Denil S.L.I.L., Murakami K. and Barker N.,

Lgr5-Expressing Chief Cells Drive Epithelial Regeneration and Cancer in the Oxyntic Stomach, *Nature Cell Biology*, **19**, 774–786 (2017) (* Second Author)

<外部資金>

1. 基盤研究(A) [研究代表者 : Nick Barker]

「Developing mouse models of inflammation-driven invasive gastric cancer to reveal novel therapeutic targets」 11,900 千円

2. 基盤研究(C) [研究代表者：村上 和弘]

「オルガノイドを用いた胃がん幹細胞の可視化と効果的な治療法の探索」 1,300 千円

3. 研究活動スタート支援 [研究代表者：寺門 侑美]

「胃がん幹細胞の同定および制御機構の解明」 2,200 千円

4. 平成 28 年度 持田記念研究助成金 [研究代表者：村上 和弘]

「オルガノイドを用いた胃がん幹細胞の可視化と効果的な治療法の探索」 3,000 千円

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 伊藤千秋 (学振 PD)
大学院生 野村奈穂, 彭卉, Vu T. Ha, 高瀬雄介
研究生 Wang Ruoyu, Jing Yong Wei
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 (ステムネス) 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。

<2017年の研究成果, 進行状況>

1) 栄養環境変化と造血幹細胞機能・発がん制御

高脂肪食などの過栄養は, 全身の様々な臓器に影響を与え, 組織恒常性の破綻や発がんの誘因となる。高脂肪食は, 骨髄微小環境の変化を促すこと, 造血幹細胞の再生能を低下させることなどが報告されているが, どのような因子が幹細胞機能の制御に関与しているか詳細は明らかではない。今回, 我々は, 高脂肪食による栄養的ストレス下において, *Spred1* が造血幹細胞の恒常性を保つ上で極めて重要な役割を果たすことを見いだした。*Spred1* は, *c-Kit* 結合分子としてクローニングされ, *Raf* の負の制御因子として知られる。また, *SPRED1* 遺伝子の異常は, 皮膚, 神経, 骨格異常を示す遺伝疾患 (Legius 症候群) で認められ, *RAS/MAPK* 経路の活性化を示す他の遺伝疾患とともに *RAS-MAPK* 経路症候群 (*RASopathy*) と呼ばれる。我々は, 通常の状態では, *Spred1* は *RhoA/ROCK* 経路・アクチン重合の調節を介して自己複製の抑制因子として機能していることを見出した。興味深いことに, *Spred1* の欠損状態では, 自己複製能の亢進を介して, 感染や加齢などによる幹細胞障害を回避できる反面, 高脂肪食による過栄養状態では, 造血幹細胞の機能不全とともに骨髄増殖性疾患が惹起されることを観察した。このことから, 本経路が, 個体レベルの栄養環境変化に反応して, 幹細胞の運命制御に寄与する重要な経路であると考えられた (under revision)。現在, *RAS/MAPK* 経路の異常およびダイエットが起因する臓器間連携について, 詳細なメカニズムの解明と血液疾患の発症や予防における役割について検討を進めている。

2) がん代謝調節機構の解明

(1) 白血病治療耐性に寄与する代謝酵素および代謝産物の探索

mTOR は, 糖, アミノ酸, 成長因子などの栄養素を感知し活性化する mTOR 複合

体 1(mTORC1)を構成するセリンスレオニンキナーゼであり、様々な下流分子をリン酸化することにより、蛋白合成や、脂質、糖、ミトコンドリア、オートファジーなどの代謝調節に関わる。我々は、以前より mTORC1 の制御に関わる Raptor, Rheb, Tsc1 遺伝子の変異マウスを用いた研究を実施し、白血病幹細胞や脳腫瘍幹細胞の未分化性制御における役割を明らかにしてきた。一方、もう一つの mTOR 複合体である mTORC2 は、mTORC1 とは異なる標的分子を有するものの、その生理的意義は不明な点が多い。今回、我々は、Rictor 欠損マウスを用いた解析の中で、mTORC2 の活性が白血病の治療感受性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。ヒト白血病細胞株を用いて、RICTOR 欠損細胞を樹立し解析したところ、通常培養においては生存・増殖に顕著な異常は認められなかったものの、治療薬添加に対して高感受性を示した。このことから、本経路が治療耐性克服のための標的分子となること、また、その下流にも有望な標的分子が存在すると考えられた。そこで、治療耐性克服の標的分子探索のため、RICTOR 欠損細胞において遺伝子発現解析を実施し、mTORC2 により変動する約 1,000 遺伝子を選択した。これらの sgRNA カスタムライブラリーを白血病細胞株に導入し、治療薬添加によるクローンの変動を観察した。その結果、メチオニン代謝や脂質代謝経路における酵素が候補として得られた。さらに、これらの代謝酵素の機能解析とともに、その酵素が産生する代謝産物の測定を実施した結果、RICTOR 欠損細胞において有意に低下する代謝物を同定した。現在、代謝物そのものが治療耐性に寄与するかどうか、また様々ながん患者検体でバイオマーカーとなり得るか検討している。また、ナノ生命科学研究所においては、上記プロジェクトの過程で得られたがん代謝産物の可視化を目標に、超分子化学技術による代謝物プローブの開発と Bio-SPM 技術を用いた検出技術の開発を進め、がん代謝の理解を進めたい。

(2) 脳腫瘍治療耐性におけるオートファジーの役割と新規治療法

脳腫瘍における 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、既存薬スクリーニングを実施したところ、ミトコンドリア膜電位の変化、酸素消費量の異常、ATP 産生量の減弱などが、ミトコンドリア活性阻害が主作用として働き抗腫瘍効果を示す化合物を特定した。この中には、顕著なオートファジーの活性化を示す薬剤が複数含まれていた。従来より、オートファジーは、腫瘍細胞に対して、cytoprotective あるいは cytotoxic、双方の役割を示す報告がなされており、議論のあるところであった。そこで、複数の悪性膠芽腫患者由来サンプルを用い ATG5 の遺伝子破壊株を得て、表現型解析を行った。その結果、オートファジー抑制細胞は、スフェロイド形成や免疫不全マウスへの移植では顕著な影響は認めないこと、上記化合物に対しては感受性を示し、cytoprotective な機能を発揮することを認めた。さらに、遺伝子発現解析やメタボローム解析を進めた結果、特定のアミノ酸代謝との関連が見いだされた。本研究を進めることにより、薬剤感受性における新たな経路の発見につながることを期待される。

【研究業績】

<発表論文>

(研究室主体)

1. Peng H, Kasada A, Ueno M, Hoshii T, Tadokoro Y, Nomura N, Ito C, Takase Y, Vu HT, Kobayashi M, Xiao B, Worley PF, Hirao A. Distinct roles of Rheb and Raptor in activating mTOR complex 1 for the self-renewal of hematopoietic stem cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 495:1129-1135 (2018)
2. Ali MAE, Fuse K, Tadokoro Y, Hoshii T, Ueno M, Kobayashi M, Nomura N, Vu HT, Peng H, Hegazy AM, Masuko M, Sone H, Arai F, Tajima A, Hirao A. Functional dissection of hematopoietic stem cell populations with a stemness-monitoring system based on NS-GFP transgene expression. *Sci Rep.* 7:11442 (2017)

(共同研究)

1. Dong Y, Furuta T, Sabit H, Kitabayashi T, Jiapaer S, Kobayashi M, Ino Y, Todo T, Teng L, Hirao A, Zhao SG, Nakada M. Identification of antipsychotic drug fluspirilene as a potential anti-glioma stem cell drug. *Oncotarget*, in press.

(総説)

1. Naka K., Hirao A: Regulation of Hematopoiesis and Hematological Disease by TGF- β Family Signaling Molecules. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 9(9). (2017)
2. 平尾 敦: がん治療における mTOR/FOXO 経路—異化経路を標的とした白血病幹細胞治療— 実験医学 35 巻 10 号 1730-1734 (2017)
3. 伊藤 千秋, 平尾 敦: 幹細胞の未分化制御におけるオートファジーの役割 実験医学 35 巻 15 号 2642-2648 (2017)

<学会発表>

1. 平尾敦: 造血幹細胞の運命決定機構—自己複製の異常と疾患—, 平成 28 年度新学術領域研究 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】成果発表会 特別講演 平成 29 年 2 月 7 日, 大津
2. Hirao A: Regulation of stem cell properties by nutrient signals in hematopoietic neoplasm. 2017 US-Japan Symposium on Normal/Malignant Hematopoiesis and Novel Therapies for Hematologic Malignancies, Feb. 7, 2017, Hawaii
3. 平尾敦: 造血幹細胞の運命決定機構—自己複製の異常と疾患—, 臨床分子医学会 平成 29 年 4 月 14 日, 東京
4. Hirao A: Hematopoietic stem cell homeostasis under diet-induced systemic stress. The joint symposium on tumor microenvironment and precision medicine. May 22, 2017, Seoul, Korea
5. Hirao A: Regulation of stem cell properties by nutrient signals in hematopoietic

neoplasms. 2017 Cancer Biology Symposium. Jun 23, 2017, Taiwan

6. 平尾敦: 幹細胞 第10回研修医のための血液学セミナー 平成29年7月8日, 大津
7. 平尾敦: 造血幹細胞の運命決定機構—自己複製の異常と疾患— 第7回細胞再生医療学会, 平成29年8月19日, 神戸
8. 田所優子: Spred1による造血幹細胞の恒常性維持機構と発がん, 金沢大学がん進展制御研究所 共同利用・共同研究拠点シンポジウム, 平成29年2月14-15日, 金沢
9. 上野将也, 彭 卉, 笠田篤郎, 星居孝之, 平尾敦: Rhebの欠損はT-ALLの発症を抑制するが, 正常造血に影響を及ぼさない, 第79回日本血液学会学術集会, 平成29年10月20-22日, 東京
10. 上野将也, 河野晋, 西村建徳, 後藤典子, 高橋 智聡, 平尾敦: Rhebの欠損はT-ALLの発症を抑制するが, 正常造血に影響しない, 第76回日本癌学会学術総会, 平成29年9月28-30日, 横浜
11. Peng H, Ueno M, Kasada A, Hoshii T, Kohno S, Nishimura T, Takahashi C, Gotoh N, Hirao A: Loss of RHEB suppresses T-ALL development without severe defects in normal hematopoiesis, 第40回日本分子生物学会年会, 平成29年12月6-9日, 神戸

<外部資金>

1. 平尾敦: 基盤研究(A) H27~H30年度「幹細胞性獲得・維持のためのがん微小環境」8,000千円
2. 平尾敦: 新学術領域「幹細胞老化と疾患」(公募) H29~H30年度「過栄養ストレスによる幹細胞運命決定機構とエイジング」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」30,500千円
5. 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
6. 上野将也: 基盤研究(C) H29~H31年度「mTOR複合体2による白血病の治療耐性制御機構の解明」1,100千円
7. 小林昌彦: 基盤研究(C) H29~H31年度「エネルギー調節と未分化性制御の協調的相互関係の分子基盤」1,800千円
8. 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
9. 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 荒川大
4. 次世代シーケンサー解析：田嶋敦

学外

1. 造血幹細胞解析：スタンフォード大学 中内啓光
2. シグナル解析：慶應義塾大学 吉村昭彦
3. 代謝産物解析：慶應義塾大学 曾我朋義
4. 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 シヤママ アワード

特任助教 河野 晋, 岡田 宣宏

博士研究員 村中 勇人 (10月～)

大学院生 (博士課程)

村中 勇人 (～9月:卒業), 吉田 晶代 (～9月:卒業), 西本 裕希,
李 鳳凱, Paing Linn, Kulathnga Liyana Arachchillage Nilakshi,
盛 金丹 (5月～研究生, 10月～正規生)

大学院生 (修士課程)

万 沅松 (～3月:卒業), Nguyen Thi Kem (～3月:卒業), 鈴木 美砂

技能補佐員 永谷 直子

【研究概要】

ヒトがんにおける臨床的レリバンスが豊富ながん遺伝子・がん抑制遺伝子を変異させたマウス・細胞を中心に, シンプルで, 分子生物学的・遺伝学的な解析がしやすい *in vivo*・*in vitro* がんモデル系を組み立て, 発がん・転移・薬剤耐性・がん幹細胞を克服する突破口となる新規パスウェイを探索する。近年は, RB および関連がん抑制遺伝子不活性シグナチャーからがん悪性進展・未分化性制御のための有効標的を探し出す試みを続けており, 研究の焦点を RB がん抑制遺伝子によるシグナル制御, 代謝制御, 微小環境制御, エピジェネティック制御機構に絞り込んできた。また, 一昨年度より, 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。

<2017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キストにおいて 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

$p53^{-/-}; Rb^{fllox/fllox}$ 乳腺・前立腺培養系を用い, 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キストにおける RNA-seq 及び lipidomics シグナチャーを決定した。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, Linn)。

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を明らかにした。PGAM1,2 が RB による分化制御を媒介することの証拠も得た。RB 不活性化による PGAM1,2 の発現低下は、解糖系の下流への流れを途絶するとともに、上流から分岐する代謝の流れを変化させる。RB-PGAM 機軸の生理学的意義の探索によって、がん細胞の未分化性の基盤となる代謝の流れの解明に挑む(河野, 万, 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)。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, Linn)。

RB- IL-6 機軸による腫瘍微小環境制御

軟部腫瘍悪性進展モデルから得たシグナチャーを探索し、乳がんの未分化性・薬剤耐性を制御する鍵分子として IL6, 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(李)。また、miR140 が RB による IL-6 分泌制御に関与することを明らかにした(吉田)。

RB 不活性化と細胞競合

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

乳がんは、悪性化に伴い複数のサブクローンが混在する不均一ながん組織を形成する。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、乳がん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エーション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。さらに、NFYA トータルおよびバリエーション特異的ノックアウトマウスを作成した。今後これらマウスを用い、生体内での腫瘍内不均一性形成機構の解明を目指す(岡田)。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著論文

(研究室主体)

1. Kitajima S, Yoshida A, Kohno S, Li F, Suzuki S, Nagatani N, Nishimoto Y, Sasaki N, Hayato M, Wan Y, Thai T C, Okahashi N, Matsuda F, Shimizu H, Nishiuchi T, Suzuki Y, Tominaga K, Gotoh N, Suzuki M, Ewen M E, Barbie D A, Hirose O, Tanaka T and Takahashi C. The RB-IL-6 axis controls self-renewal and endocrine therapy resistance by fine-tuning mitochondrial activity. *Oncogene* 36:5145-5157, 2017. doi:10.1038/onc.2017.124
2. Yoshida A, Kitajima S, Li F, Chaoyang C, Yujiro T, Kohno S, Wan Y, Hayashi N, Muranaka H, Nishimoto Y, Nagatani N, Nishiuchi T, Thai T C, Suzuki S, Nakao S, Tanaka T, Hirose O, Barbie D A and Takahashi C. *MicroRNA-140* mediates RB tumor suppressor function to control stem cell-like activity through interleukin-6. *Oncotarget* 8:13872-13885, 2017. doi: 10.18632/oncotarget.14681
3. Muranaka H, Hayashi A, Minami K, Kitajima S, Kohno S, Nishimoto Y, Nagatani N, Suzuki M, Kulathunga N, Sasaki N, Okada N, Matsuzaka T, Shimano H, Tada H and Takahashi C. A distinct function of the retinoblastoma protein in the control of lipid composition identified by lipidomic profiling. *Oncogenesis* 2017 Jun 26, doi: 10.1038/oncsis.2017.51 [Epub ahead of print].

(共同研究)

1. Nagata N, Xu L, Kohno S, Ushida Y, Aoki Y, Umeda R, Fuke N, Zhuge F, Ni Y, Nagashimada M, Takahashi C, Suganuma H, Kaneko S and Ota T. Glucoraphanin ameliorates obesity and insulin resistance through adipose tissue browning and reduction of metabolic endotoxemia in mice. *Diabetes* 66:1222-1236, 2017. doi: 10.2337/db16-0662

(著書・総説)

1. 河野晋. 実験医学 News and Hot Paper Digest 「腫瘍内不均一性はグルタミン欠乏により引き起こされる？」 Vol.35 No.6 p955-956, 2017 佐々木努編, 羊土社刊
2. 河野晋, 村中勇人, 北嶋俊輔, 佐々木信成, 鈴木美砂, 高橋智聡. 実験医学増刊号「RB とがんの代謝」 Vol.35 No.10 p21-25, 2017 曾我朋義編, 羊土社刊
3. Kitajima S and Takahashi C. The intersection of RB tumor suppressor function, stem cells, metabolism and inflammation. *Cancer Science* 2017 Jul 5. doi:

- 10.1111/cas.13312. [Epub ahead of print].
4. 河野晋. 実験医学 News and Hot Paper Digest 「ゲムシタビン耐性は細胞内 CTP 合成の亢進により引き起こされる」 Vol.35 No.16 p2732-2733, 2017
武部貴則 編, 羊土社刊

<学会発表>

1. 西本裕希, Nguyen T K, 高橋智聡. 乳腺上皮・乳がんにおける RB がん抑制遺伝子の不活性化と細胞競合. 細胞競合・ダイイングコード合同若手 WS 2017 年 1 月 18 日 (大阪市/ホテルコスモスクエア国際交流センター : 1/18-19)
2. 荒木千恵, 前田昂亮, 岡橋信幸, 松田史生, 高橋智聡, 清水浩. ロテノン処理した動物培養細胞の代謝フラックス解析. 日本農学会第 42 回大会 2017 年 3 月 7 日 (松山/愛媛大学城北キャンパス : 3/6-8)
3. Takahashi C. Regulation of metabolism by RB tumor suppressor gene. AACR Annual Meeting 2017 (AACR-JCA 共催) 2017 年 4 月 3 日 (ワシントン/Walter E. Washington Convention Center : 4/1-5) 招待講演
4. 上原ひかる, 荒木千絵, 前田昂亮, 岡橋伸幸, 松田史生, 高橋智聡, 清水浩. ^{13}C 代謝フラックス解析によるがん細胞中心代謝株間比較. 第 65 回質量分析討論会 2017 年 5 月 17 日 (つくば市/つくば国際会議場 : 5/17-19)
5. Takahashi C. Metabolic regulation by RB tumor suppressor. The 10th Commemorative Lecture of Pin-Wen Lin of Pancreatic Cancer and 2017 Cancer Biology Symposium 2017 年 6 月 24 日 (台湾 台南市/成功大學醫學院附設醫院 : 6/23-25) 招待講演
6. 河野晋, Paing Linn, 高橋智聡. 前立腺がんにおける RB ホモ欠損に伴う脆弱性の獲得. 第 5 回がんと代謝研究会 2017 年 7 月 14 日 (札幌/北海道大学医学部学友会館 : 7/13-14)
7. Muranaka H, Hayashi A, Minami K, Kitajima S, Kohno S, Nishimoto Y, Nagatani N, Suzuki M, Kulathunga N, Sasaki N, Okada N, Matsuzaka T, Shimano H, Tada H and Takahashi C. A distinct function of the retinoblastoma protein in the control of lipid composition identified by lipidomic profiling. 第 12 回スフィンゴセラピー研究会 2017 年 7 月 14-16 日 (羽咋郡/能登ロイヤルホテル : 7/14-16)
8. Okada N and Takahashi C. NFYA regulates multistep process of cancer heterogeneity formation. 3rd International Symposium on Cell Competition. 2017 年 8 月 29 日 (札幌/北海道大学クラーク会館 : 8/29)

9. Nishimura T, Nakata A, Kohno S, Takahashi C, Soga T, Tojo A and Gotoh N. Drug-resistance and cancer stem-like properties dependent on the mitochondrial metabolic enzyme. 第76回日本癌学会学術総会 2017年9月28日（横浜市/パシフィコ横浜：9/28-30）
10. Ueno M, Kohno S, Nishimura T, Gotoh N, Takahashi C, Hirao A. Loss of Rheb suppresses T-ALL development without severe defects in normal hematopoiesis. 第76回日本癌学会学術総会 2017年9月30日（横浜市/パシフィコ横浜：9/28-30）
11. Miki T, Takahashi C, Noda R. Interaction between tumor suppressors and the circadian rhythm. 第76回日本癌学会学術総会 2017年9月28日（横浜市/パシフィコ横浜：9/28-30）
12. Li F, Kitajima S, Mukaida N, Takahashi C. Rb inactivation enhances tumor progression by elevating CCL2 expression. The 5th Annual Meeting of the International Cytokine and Interferon Society. 2017年10月31日（金沢市/石川音楽堂：10/29-11/2）
13. Takahashi C. Regulation of metabolism by RB tumor suppressor. The 33rd International Symposium of Radiation Biology Center, Kyoto University 2017年12月4日（京都市/コープイン京都：12/4-5）招待講演
14. Muranaka H, Hayashi A, Minami K, Kitajima S, Kohno S, Nishimoto Y, Nagatani N, Suzuki M, Kulathunga N, Sasaki N, Okada N, Matsuzaka T, Shimano H, Tada H and Takahashi C. A distinct function of the retinoblastoma protein in the control of lipid composition identified by lipidomic profiling. 2017年度生命科学系学会合同年次大会 2017年12月6日（神戸市/神戸ポートアイランド：12/6-9）
15. 河野晋, 岡橋伸幸, 松田史生, 清水浩, 高橋智聡. 悪性進展過程におけるRBの代謝調節機能. 2017年度生命科学系学会合同年次大会 2017年12月8, 9日（神戸市/神戸ポートアイランド：12/6-9）

<外部資金> (2017年度/H29年度が含まれる課題)

高橋智聡

1. 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」 7,500千円
2. 科学研究費補助金 基盤研究（B）H29～H31年度「RBがん抑制遺伝子の代謝制御機能」 4,400千円
3. 科学研究費補助金 新学術領域研究 H29～H30年度「乳腺上皮・乳がんにおけるRB モザイシズムと細胞競合」 4,500千円

4. 科学研究費補助金 挑戦的研究（萌芽）H29～H30 年度「パッセンジャー変異合成致死性による新規がん代謝治療標的探索」 2,500 千円

シャムマ アワード

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」 1,000 千円

河野晋

1. 学術研究助成基金助成金 若手研究（B）H29～H30 年度「PGAM によるエピジェネティックリモデリングを介したがん悪性化機構の解明」
1,800 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. 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」
4. 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」
5. 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」
6. 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」
7. 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」
8. 京都大学 近藤 祥司 博士「PGAM による協調的解糖系制御解明と癌抑制の探求」
9. 金沢大学 近藤 悟 博士「EB ウィルス関連上喉頭癌におけるミトコンドリア変異と細胞競合現象に着目した新規治療法の開発」

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（2017年11月から准教授）、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）

張 迪（2017年10月から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】

がん病巣の微小環境の分子・細胞基盤の解析に基づく、新規のがん治療戦略の開発。

<2017年の成果>

1) 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過程において、肺内の間質マクロファージが産生するケモカイン CCL2 の作用で、特異的レセプターである CCR2 を発現する肺胞マクロファージが集積することを明らかにした。さらに、5-LOX を発現する肺胞マクロファージが産生するロイコトリエン B₄ が、肝臓がん細胞の増殖を促進することによって、肺転移巣の増大を促すことを明らかとなった。このことから、肺胞マクロファージ-LOX-ロイコトリエン B₄ 軸が、肺転移に対する新たな分子標的となりうる可能性が示唆された。

2) 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、肺内において産生が誘導されるケモカイン CXCL1・CXCL2 が、好中球浸潤を引き起こした。さらに、浸潤してきた好中球が発現している prokineticin が、がん細胞の増殖を促進することで、転移巣の増大に必須な役割を果たしていることを明らかにし、肺転移における好中球浸潤の重要性を明らかにした。

3) 各種白血病の根治を目的とした造血幹細胞移植療法の実験モデルとして、CML 発症マウスに対して、放射線照射後の骨髄移植を行ったところ、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、末梢血中で増加する、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昨年度見出した。本年度の検討の結果、白血病由来細胞の細胞外小胞によって、骨髄や脾臓などの造血組織内でドナー細胞に BCR-ABL 遺伝子が伝播される可能性を示唆する結果が得られた。

<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。

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た結果、転移巣の増殖に関与する可能性があり、線維芽細胞で発現が亢進している候補分子を見出している。こ骨転移過程での、これらの候補分子の病態生理学的役割を解明する。

3) 4T1.3 クローンは、微小環境が大きく異なる肺と骨とに同時に転移が可能であることを見出している。この細胞株を用いて、同時多発転移過程に関わる分子・細胞基盤を、Cell barcoding 法などを用いて解析する。

【 研究業績 】 (所属研究者は下線で示した)

< 発表論文 >

原著論文

(研究室主体)

1. Nosaka T, Baba T, Tanabe Y, Sasaki S, Nishimura T, Imamura Y, Yurino H, Hashimoto S, Arita M, Nakamoto Y, and Mukaida N. Alveolar macrophages drive hepatocellular carcinoma lung metastasis by generating leukotriene B₄. *J Immunol* (in press).

(共同研究)

1. Akai Y, Hagiwara Y, Sadanari H, Takemoto M, Uchide N, Daikoku T, Mukaida N, and Murayama T. Inhibition of human cytomegalovirus replication by tricin is associated with depressed CCL2 expression. *Antiviral Res* 2017 Dec;148:15-19. doi: 10.1016/j.antiviral.2017.09.018.
2. Rubil S, Lesch A, Mukaida N, and Thiel G. Stimulation of transient receptor potential M3 (TRPM3) channels increases interleukin-8 promoter activity involving AP-1 and extracellular signal-regulated protein kinase. *Cytokine* 2017 Oct 2. pii: S1043-4666(17)30277-6. doi: 10.1016/j.cyto.2017.09.020.
3. Ishida Y, Kimura A, Nosaka M, Kuninaka Y, Hemmi H, Sasaki I, Kaisho T, Mukaida N, and Kondo T. Essential involvement of the CX3CL1-CX3CR1 axis in bleomycin-induced pulmonary fibrosis by regulating fibrocyte and M2 macrophage migration. *Sci Rep* 2017, 7: 16833. doi: 10.1038/s41598-017-17007-8.

総説論文.

1. Mukaida N, Tanabe Y, and Baba T. Chemokines as a conductor of bone marrow microenvironment in chronic myeloid leukemia. *Int J Mol Sci* 2017, 18, 1824. doi: 10.3390/ijms18081824.

<学会発表> (筆頭発表者が分野所属の者に限る)

1. Baba T and Mukaida N. Pathological contribution of an inflammatory chemokine CCL3 in chronic myeloid leukemia as a stem cell inhibitor. (Invited Speaker) 5th Annual Meeting of the International Cytokine and Interferon Society, Kanazawa, October 29-November 2, 2017.
2. Naito T, Baba T, Takeda K, Sasaki S, Nakamoto Y, and Mukaida N. Involvement of a chemokine, CCL3, in chemotherapeutic-induced tumor eradication by rapid recruitment of CD4-positive cytotoxic T cells into tumor sites. (Oral Presentation) 5th Annual Meeting of the International Cytokine and Interferon Society, Kanazawa, October 29-November 2, 2017.
3. Nosaka T, Baba T, Tanabe Y, Sasaki S, Arita M, Nakamoto Y, and Mukaida N. The recruited CCR2-expressing alveolar macrophages under the guidance of interstitial macrophage-derived CCL2 drive hepatocellular carcinoma lung metastasis by generating leukotriene B₄. 5th Annual Meeting of the International Cytokine and Interferon Society, Kanazawa, October 29-November 2, 2017.
4. Tanabe Y, Baba T, and Mukaida N. Context-dependent diverse roles of CCR5-mediated signals in chronic myeloid leukemia (CML) pathogenesis. 5th Annual Meeting of the International Cytokine and Interferon Society, Kanazawa, October 29-November 2, 2017.
5. Sasaki S, Baba T, and Mukaida N. 5-fluorouracil-induced neutrophilic chemokine expression in tumor cells is associated with accelerated lung metastasis of breast cancer. 5th Annual Meeting of the International Cytokine and Interferon Society, Kanazawa, October 29-November 2, 2017.
6. 野阪拓人, 西村建徳, 向田直史. 肺胞マクロファージ由来ロイコトリエン B₄ の、マウス肝がん細胞による肺転移過程への関与。第 21 回日本がん分子標的治療学会学術集会。2017 年 6 月 14 日～16 日。福岡。
7. 佐々木宗一郎, 馬場智久, 向田直史。フルオロウラシル投与によるマウス乳がん肺転移の促進機構の解明。第 26 回日本がん転移学会学術集会・総会。2017 年 7 月 27 日～28 日。大阪。
8. Tanabe Y, Baba T, and Mukaida N. Context-dependent diverse roles of CCR5-mediated signals in chronic myeloid leukemia (CML) pathogenesis. 第 76 回日本癌学会学術総会。2017 年 9 月 28 日～30 日。横浜。
9. Sasaki S, Baba T, and Mukaida N. Possibility of post-surgical adjuvant therapy with 5-fluorouracil to augment breast cancer metastasis to lungs. 第 76 回日本癌学会学術総会。2017 年 9 月 28 日～30 日。横浜。
10. Nosaka T, Baba T, Sasaki S, Arita M, Nakamoto Y, and Mukaida N. Alveolar macrophages drive hepatocellular carcinoma lung metastasis by generating leukotriene B₄. 第 76 回日本癌学会学術総会。2017 年 9 月 28 日～30 日。横浜。

11. Nosaka T, Baba T, Sasaki S, Nakamoto Y, and Mukaida N. Alveolar macrophages drive hepatocellular carcinoma lung metastasis in collaboration with interstitial macrophages. 第46回日本免疫学会総会・学術集会。 2017年12月12日～14日。仙台。

<外部資金>

向田直史

1. 科学研究費・挑戦的研究(萌芽)(代表) 「ドナー細胞由来白血病発症機構への細胞外小胞の関与の検討」(直接経費 2,500千円, 間接経費 750千円)
2. AMED 肝炎等克服実用化研究事業(分担) 「獲得免疫反応の賦活化により核内HBV cccDNAを排除する方法の開発」(直接経費 1,530千円, 間接経費 459千円)
3. 奨学寄附金 栄研化学株式会社 (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1,300千円, 間接経費390千円)
2. 上原記念生命科学財団・研究奨励金(代表) 「骨髄移植療法を基盤とした新たな白血病治療戦略の確立」(直接経費 2,000千円)

佐々木宗一郎

1. 科学研究費・基盤研究(C)(代表) 「新規乳がん骨転移モデルの解析を通じた, 新規標的分子の探索」 (直接経費 1,200千円, 間接経費 360千円)

田辺 和

1. 日本学術振興会・特別研究員奨励費 「残存慢性骨髄性白血病幹細胞の根絶戦略の開発」 (直接経費 1,000千円)

<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

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 武本眞晴講師
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. 旭川医科大学・医学部 太田嗣人教授
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

がん微小環境研究プログラム

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 中嶋 伸介
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

【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、これまでにその分子機構の全容をほぼ解明した（投稿準備中）。また、がん治療のマウスモデルでがん細胞にアポトーシスを誘導する場合とパイロトーシスを誘導する場合を比較し、後者の方が癌退縮後の再発率が低く、より強い腫瘍免疫が惹起されることが判明した。以上とは別に、我々が発見した NLR ファミリー蛋白 PYNOD の欠損マウスを作成し、各種免疫応答を解析したが、当初の予想に反し明瞭な異常を見出すことができなかった（論文改訂中）。

<2017 年の研究成果、進捗状況及び今後の計画>

1) パイロトーシスシグナル伝達関連因子 PYST1 の機能解析：

昨年続き、我々がパイロトーシスシグナル伝達関連因子として同定した PYST1（仮名）についてアラニンスキャンニングでカスパーゼ 1 との相互作用領域の決定を試みたが、いずれの変異体も野生型と同等のカスパーゼ 1 結合能を示した。複数の領域が結合に寄与している可能性があり、このアプローチで相互作用領域の特定は困難と考えられる。一方、PYST1 は細胞分裂（M）期進行にも必須の分子であるが、パイロトーシス誘導細胞では細胞周期の M 期開始時特異的なヒストンリン酸化が検出されないことを見いだした。また、CDK1 インヒビターで細胞周期を G2/M 間で停止させるとパイロトーシスが抑制された。今後、細胞周期モニタリングシステム Fucci を導入することで、M 期進行制御とパイロトーシスの関連を検証する予定である。

2) カスパーゼ-1 によるアポトーシスの誘導の分子機構の解析：

近年、パイロトーシスの実行蛋白として Gasdermin D (GSDMD)が同定されたが、GSDMD 欠損マクロファージはパイロトーシス誘導刺激による細胞死が遅延するが、耐性にはならない。我々は GSDMD 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。その分子機構を解析した。昨年度、GSDMD 欠損マウスにおいては、人工的なカスパーゼ 1 の活性化により Bid 依存性にカスパーゼ 3 が活性化され、アポトーシスが誘導されることを報告した。本年度は他のカスパーゼの関与や Bid の切断部位などの詳細を解析するとともに、GSDMD 欠損マクロファージなどを用い、細菌感染による生理的なパイロトーシス誘導刺激で Bid 依存性のアポトーシスが誘導されることを確認した。

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：

我々は腫瘍におけるがん細胞の死に方の違いが抗腫瘍免疫にどのような影響を与えるかを検討している。昨年度樹立したアポトーシス、またはパイロトーシスを選択的に誘導する腫瘍細胞株をマウスに移植し、形成した腫瘍にそれぞれの細胞死を誘導した。その後、腫瘍が退縮したマウスに親株の腫瘍細胞を攻撃接種し、腫瘍増殖を測定したところ、最初の腫瘍にパイロトーシスを誘導したマウスはアポトーシスを誘導したマウスに比べ攻撃接種した腫瘍の増殖を強く抑制した。また、最初の腫瘍を拒絶したマウスの脾細胞を用いて親株細胞に対する細胞障害活性を測定したところ、パイロトーシスを誘導したマウスの脾細胞で細胞障害活性が高かった。以上より、腫瘍を形成したがん細胞にパイロトーシスを誘導するとアポトーシスを誘導した時に比べ、抗腫瘍免疫応答が増強することが示唆された。現在、パイロトーシスにより抗腫瘍免疫が増強するメカニズムの解析を進めている。

4) NLR ファミリー蛋白 PYNOD 欠損マウスの免疫応答の解析：

PYNOD (NLRP10)は我々が発見した NLR ファミリー蛋白で、過剰発現によりカスパーゼ 1 や NF- κ B の活性化を阻害し、PYNOD トランスジェニックマウスはマクロファージの IL-1 β 産生低下や致死性エンドトキシンショック抵抗性を示すことを明らかにして来た。一方、他の研究グループから PYNOD 欠損マウスでは獲得免疫応答が抑制されているとの報告がなされていた。我々は PYNOD 欠損マウスを作成し、その自然免疫応答、獲得免疫応答を詳細に解析してきたが、これまでの解析からは明瞭な異常は見いだせなかった。したがって、PYNOD は何らかの刺激で過剰発現すると自然免疫応答を抑制するものの、定常レベルの PYNOD は免疫応答の制御に積極的に寄与しないものと考えられる。

【 研究業績 】

<論文発表>

(研究室主体)

Nakajima S, Imamura R, Yoshino M, Sakurai M, Tsuchiya K, Sugihara K, Asano M, and Suda T. Characterization 1 of Innate and Adaptive Immune Responses in PYNOD-deficient mice. 2018, ImmunoHorizons, in press

(共同研究)

Kamikawa Y, Sakai N, Miyake T, Sagara A, Shinozaki Y, Kitajima S, Toyama T, Hara A, Iwata Y, Shimizu M, Furuichi K, Imamura R, Suda T, Kaneko S, Wada T.: Involvement of p38MAPK in Impaired Neutrophil Bactericidal Activity of Hemodialysis Patients. Ther Apher Dial. 2018, in press

<学会発表>

1. 須田貴司：がん細胞におけるインフラマソームを介したアポトーシスとパイロトーシスの分子機構とがん治療効果. 第26回日本 Cell Death 学会 シンポジウム（東京）2017年7月24日
2. Kohsuke Tsuchiya, Mahib Muhammad Mamunur Rashid, and Takashi Suda: Caspase-1 serves as an apoptosis-initiating caspase in the absence of Gasdermin D (GSDMD). 5th Annual Meeting of the International Cytokine and Interferon Society (ICIS2017), Kanazawa, October 30, 2017
3. Shinsuke Nakajima, Kohsuke Tsuchiya, and Takashi Suda: Caspase-1-induced pyroptosis potentiates anti-tumor immunity. 第76回日本癌学会学術総会(横浜) 2017年9月30日
4. Kohsuke Tsuchiya, Nakajima Shinsuke, and Takashi Suda: Caspase-1 serves as an apoptosis-initiating caspase in the absence of Gasdermin D (GSDMD). 第46回日本免疫学会学術集会（仙台）2017年12月12日
5. Shinsuke Nakajima, Kohsuke Tsuchiya, Mayumi Sakurai, and Takashi Suda: Caspase-1-induced pyroptosis potentiates anti-tumor immunity. 第46回日本免疫学会学術集会（仙台）2017年12月14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 9,900 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 穰 教授「shRNA ライブラリーを用いたパイロトーン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, 鬨 孝介 専任研究員「細胞死制御化合物に関する研究」
6. 山形大学農学部 及川 彰 准教授 「死細胞放出因子のメタボローム解析」
7. 九州大学大学院 薬学研究院 仲矢 道雄 准教授「PYNOD の役割に関する研究」
8. 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 入部 玄太郎 講師「心筋細胞における PYNOD の役割に関する研究」
9. 東京大学大学院理学系研究科 白崎 善隆 特任研究員「一細胞イメージングによる IL-1 β 分泌機構の解明」

腫瘍動態制御研究分野

<研究スタッフ>

教授	松本 邦夫	助教	今村 龍
助 教	酒井 克也	研究協力員	桐山 恵介
特任助教	佐藤 拓輝	大学院生	Jangphattananont Nawaphat
大学院生	Miao Wenyu	大学院生	原 あすみ
大学院生	田平 裕美子	技能補佐員	端谷 泉
技術補佐員	丹保 智佳子		

【 研究 概 要 】

HGF-MET 受容体系は、細胞増殖、形態形成や生存促進を介して組織の再生を担う一方、がんの浸潤・転移、分子標的薬に対する耐性獲得に関与する。私たちは HGF-MET 系の生理機能の解明、MET 活性化の動的構造解明、HGF-MET 系を人為的に制御（活性化・阻害）する環状ペプチド創成とその診断・治療への応用を目的として研究を進めており、本年次、以下の研究成果を得た。（1）マウスモデルでの解析から、HGF 阻害環状ペプチドをプローブとする PET イメージングにより、腫瘍組織での HGF の活性化・過剰発現を検出することに成功し、イメージング診断の可能性が考慮された。

（2）高速バイオ原子間力顕微鏡（AFM）解析や生化学的解析により、HGF による MET 活性化の構造に関して、従来モデルとは異なる動的プロセスと構造を明らかにした。

（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とともに、この機能は MET チロシンキナーゼ活性に依存しないことから、HGF に対するシグナル発信受容体としての機能とは独立の生理機能であることを明らかにした。

<2017 年の研究成果, 進行状況>

1. HGF 阻害環状ペプチド(HiP-8)の作用メカニズム

【背景】菅裕明博士(東京大学)と連携し、HGF を阻害する環状ペプチド(HGF-inhibitory Peptide-8: HiP-8)を取得した。HGF は 1 本鎖前駆体 HGF (scHGF)として分泌され、がん細胞近傍で生物活性をもつ 2 本鎖 HGF に変換されるが、HiP-8 は 2 本鎖 HGF に選択的に結合・阻害する。【成果】HiP-8 の作用機作を解析する目的で、柴田幹大博士(新学術創成研究機構)と連携し、高速 AFM 解析を行った。その結果、HGF 単独は分子内ドメインの活発な運動が観察されたのに対して、HiP-8 は HGF にドッキングすることによって HGF のダイナミックな分子動態を阻害した。HGF 分子のダイナミック動態は、受容体への結合・活性化に重要と推測される一方、HiP-8 は分子動態をアロステリック阻害すると考えられる。

2. HiP-8 ならびに MET 結合環状ペプチドをプローブとする PET イメージング

【成果】HiP-8 ならびに MET 結合環状ペプチド(aMD4)をプローブとする PET 解析をスタートした。HiP-8, aMD4 はそれぞれ HGF, MET 細胞外領域に高い特異性で結合する(Kd 値はそれぞれ 0.4 nM, 2.4 nM)。ヒト HGF ノックイン免疫不全マウスに HGF を発現しないヒ

ト非小細胞肺癌, ならびに同細胞に HGF を強制発現させた細胞を移植し, ^{64}Cu で標識した HiP-8 プローブ (^{64}Cu -HiP-8) により PET 解析を行った。その結果, ^{64}Cu -HiP-8 は腫瘍組織に集積するとともに, 集積レベルは HGF を発現するがん細胞からなる腫瘍組織の方が高い。また, 腫瘍組織への集積は非標識 HiP-8 によって競合的に阻害されたことから, 腫瘍組織への集積は tcHGF に対する HiP-8 の特異性によると考えられた。

3. MET 受容体の動的活性化構造の解明

【背景】 複数の増殖因子とその受容体と同様に, HGF と MET 受容体の 2:2 安定構造により MET ダイマー化が MET 活性化の構造と考えられている。【成果】 高速 AFM ならびに分割ルシフェラーゼ融合 MET タンパク質を用いた解析から, HGF の結合, MET ダイマー化のプロセス, ダイマー形成に関与する MET 分子内ドメインについて新しい結果が得られた。これまで, X 線小角散乱や凍結電子顕微鏡観察に基づいて考慮された MET 活性化の HGF:MET = 2:2 モデルは MET 活性化の構造を反映していない可能性が考えられた。生理的濃度・条件で生体分子を観察する技術により, リガンド-受容体相互作用の動的な構造解明が可能になると考えられる。

4. MET を介した自然免疫制御の研究

【背景】 昨年, 従来に報告されていない新規の生理機能として, MET 受容体が自然免疫応答に関与することを見出し, そのメカニズムについて解析を進めた。【成果】 RNA ウイルス感染を模倣する 2 本鎖 RNA の細胞内導入により炎症性サイトカイン産生が増加するが, MET 欠損細胞では反応性が著明に低下した。また, シグナル活性化に必須のチロシンを置換した変異体 MET を MET 欠損細胞に発現させると, 野生型 MET 同様に RNA 導入による炎症性サイトカイン産生能は復活した。したがって, MET を介した 2 本鎖 RNA 自然免疫応答の増強は, MET 依存的シグナル活性化とは独立の生理機能であり, MET 受容体の新しい生理機能であることが検証された。

<今後の計画>

1. MET 受容体活性化の構造ダイナミクス: 高速バイオ AFM, 分割ルシフェラーゼ融合 MET によるダイマー評価, 生細胞での 1 分子イメージング解析, 凍結電子顕微鏡などを組合せ, 従来の MET 活性化モデルとは異なる真の活性化構造を明らかにする。
2. MET 受容体細胞外変異の意義に関する研究: 上記, 構造解析系で使用される解析・評価系をがん患者で見つかった細胞外変異 MET に応用するとともに安定発現細胞を用いた解析を加え, MET 細胞外変異の異常と意義を明らかにする。
3. イメージング活用創薬: HiP-8, MET 結合ペプチドをプローブとして, MET 増幅や MET 活性化レベルの評価, HiP-8 による MET 阻害のイメージング検証を確立する。
4. 自然免疫制御における MET の機能に関する研究: MET 変異体を用いた再構成実験やマイクロアレイ解析等を用いて MET 下流のシグナル伝達経路を解析すると共にインフルエンザウイルス感染や HCV ゲノム導入等の実験系を用いて生理的妥当性を検討する。

【 研究業績 】

<論文発表>

原著

(研究室主体)

なし

(共同研究)

1. 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 Sci*, 108: 1263-1270, 2017. doi: 10.1111/cas.13233.
2. Jahangiri A, Nguyen A, Chandra A, Sidorov M, Yagnik G, Rick J, Han S, Chen W, Flanigan P, Schneidman-Duhovny D, Mascharak S, De Lay M, Imber B, Park C, Matsumoto K, Lu K, Bergers G, Sali A, Weiss W, Aghi MK. A cross-activating c-Met/ β 1 integrin complex drives metastasis and invasive resistance in cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 114: E8685-E8694, 2017. doi: 10.1073/pnas.1701821114.

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. doi: 10.1111/cas.13156.
2. De Silva DM, Roy A, Kato T, Cecchi F, Lee YH, Matsumoto K, Bottaro DP. Targeting the hepatocyte growth factor/Met pathway in cancer. *Biochem Soc Trans*, 45: 855-870, 2017. doi: 10.1042/BST20160132.
3. Imamura R, Matsumoto K. Hepatocyte growth factor in physiology and infectious diseases. *Cytokine*, 98: 97-106, 2017. doi: 10.1016/j.cyto.2016.12.025.
4. Sato H, Aoki S, Kato T, Matsumoto K. Hepatocyte growth factor. *Encyclopedia of Signaling Molecules*, 2nd edition, pp.2352-2364, Springer, 2017.
5. 酒井克也, 菅裕明, 松本邦夫: “環状ペプチド性人工 HGF の創製と再生医療への可能性”, 「医療・診断をささえるペプチド科学—再生医療・DDS・診断への応用—」シーエムシー出版, pp 183-188, 2017.

<学会発表>

1. 松本邦夫: HGF-MET 系を介した再生・がんの制御と創薬. 大阪大学蛋白質研究所ワークショップ “動物細胞発現系を用いた高難度蛋白質生産支援と糖鎖工学・抗体工学を用いたその高度化”, 2017 年 1 月 27 日 (大阪府箕面市)
2. 松本邦夫: 細胞増殖因子による再生医療と次世代バイオ医薬技術. 第 122 回 日本解剖学会総会・全国学術集会シンポジウム “最先端の再生医学研究が切り開く革新医療と発生学の展望”, 2017 年 3 月 30 日 (長崎大学坂本キャンパス)

3. Miao Wenyu, 酒井克也, 小澤直也, 伊藤健一郎, 菅裕明, 松本邦夫: Activation and detection of Met/HGF receptor by cyclic peptide technology. 第76回日本癌学会学術総会, 2017年9月30日(パシフィコ横浜 横浜市)
4. 佐藤拓輝, 足立恵理, 酒井克也, 今村龍, 松本邦夫: Intrinsic HGF induced by cancer cells promotes lung metastasis in Met-high expressing melanomas. 第76回日本癌学会学術総会, 2017年9月30日(パシフィコ横浜 横浜市)
5. 松本邦夫: 生理活性タンパク質創薬と人工バイオ医薬. 日本薬学会北陸支部第129回例会, 2017年11月18日(金沢大学)

<外部資金>

1. 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」14,007 千円
2. 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
3. 松本邦夫: 産学連携共同研究 「核酸関連成分による遺伝子変異ならびに腫瘍の増殖に対する作用に関する研究」 15,000 千円
4. 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) 1,560 千円
5. 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) 1,000 千円
6. 佐藤拓輝: 北陸銀行若手研究者助成金 「特殊環状ペプチドをツールとする肺がん微小環境イメージング活用診断」(代表) 730 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. 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
4. 理化学研究所 生命システム研究センター 上田昌宏博士・廣島通夫博士: 細胞増殖因子受容体活性化の生細胞 1 分子イメージング
5. 金沢大学新学術創成研究機構 柴田幹大准教授: 細胞増殖因子受容体活性化と制御の動的構造生物学
6. 金沢大学新学術創成研究機構 小川数馬准教授: HGF-MET 系をターゲットにしたがんのイメージング診断

7. 金沢大学新学術創成研究機構・金沢大学がん進展制御研究所若手 PI 研究推進ユニット Dominic Voon 准教授: IL-23 の新規分子種解析と生理活性の研究
8. 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
9. 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
10. 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
11. 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
12. 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
13. 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
14. 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

博士研究員 I Ketut Gunarta

大学院生 (博士課程) 李 蓉, 鈴木 隆介, Dewi Yuliana, Jambaldoj Boldbaatar,
Purvee Erdenebaatar (H29年10月～)

(修士課程) 池崎 遥奈, 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 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、活性酸素が引き起こす細胞死に注目した研究に着手した。

<2017年の研究成果, 進捗状況>

1. がん細胞浸潤における転写因子 *GLI1* の機能的役割

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。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* ノックダウン (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 により有意に抑制された。一方、MITF (メラノーマの悪性化過程への関与が報告

されている転写因子) 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。以上の結果から, 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 (*Cancer Sci.* 2017)。

2. がん細胞の浸潤における JSAP2 の役割の検討

複数のグループの研究により, JSAP2 タンパク質はがん細胞の浸潤に関与することが報告されている。我々はまず, *JSAP2* 遺伝子に対する 2 種類の shRNA (shJSAP2_#1, shJSAP2_#2) 発現ベクターを作製し, それらを乳癌細胞 MDA-MB-231 に導入して細胞浸潤における JSAP の役割を検討した。その結果, shJSAP2_#2 発現細胞は低浸潤能を示すが, shJSAP2_#1 の場合には有意な浸潤能の低下は認められない, という予想外の知見が得られた。さらに, *JSAP2* (shJSAP2_#2 耐性) を用いたレスキュー実験でも浸潤能の回復は認められなかった。このようなことから, がん細胞の浸潤における *JSAP2* の関与については, 再考する必要性が示唆された。

3. 染色体分配における JSAP の役割の検討

昨年, *Jsap1, 2* 二重破壊が可能なマウス胚性線維芽細胞 (MEF) を解析し, *JSAP* は染色体分配制御に関わる重要な因子であり, *JSAP* 機能喪失は染色体不安定性 (CIN) を誘導することが示唆された。本年は, HCT116 細胞 (CIN 陰性) を用いて *JSAP* 遺伝子破壊株の樹立を試みた。その結果, *JSAP1* および *JSAP2*, それぞれの単独欠損株の樹立には成功したが, 二重欠損株は得られなかった。このことから, *JSAP* タンパク質は MEF に限らず HCT116 細胞においても重要な役割を担っており, *JSAP* による染色体分配制御は普遍的である可能性が考えられた。

4. 活性酸素が引き起こす細胞死における JSAP2 シグナル伝達経路の役割

活性酸素がもたらす細胞死については不明な点が多く, 十分に理解されていない。*JSAP2* KD 細胞 (Huh7, HepG2, HeLa 細胞) の解析により, *JSAP2*-JNK/p38 シグナル経路は H₂O₂ 誘導性細胞死に対して抑制的に働くことを示す予備的結果が得られた。

<今後の計画>

1. *JSAP* 遺伝子破壊が誘導できる HCT116 細胞株を樹立し, *JSAP1, 2* 二重欠損により染色体異数性が誘発される可能性を検討する。
2. (shJSAP2_#1, #2 とは異なる) 新規 shJSAP2 を用いた *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* の役割についても再検討する。
3. JNK/p38 のエフェクターを含む, *JSAP2*-JNK/p38 経路のより詳細な解析を行い, H₂O₂ 誘導性細胞死の分子機序を明らかにする。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著

(研究室主体)

1. Gunarta IK, Li R, Nakazato R, Suzuki R, Boldbaatar J, Suzuki T, Yoshioka K. Critical role of glioma-associated oncogene homolog 1 in maintaining invasive and mesenchymal-like properties of melanoma cells. *Cancer Sci*. 108: 1602-1611, 2017.

(共同研究)

1. Yan Q, Yang C, Fu Q, Chen Z, Liu S, Fu D, Rahman RN, Nakazato R, Yoshioka K, Kung SKP, Ding G, Wang H. Scaffold protein JLP mediates TCR-initiated CD4⁺T cell activation and CD154 expression. *Mol Immunol*. 87: 258-266, 2017.
2. 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*. 65: 198-208, 2017.
3. Nakazato R, Kawabe K, Yamada D, Ikeno S, Mieda M, Shimba S, Hinoi E, Yoneda Y, Takarada T. Disruption of Bmal1 Impairs Blood-Brain Barrier Integrity via Pericyte Dysfunction. *J Neurosci*. 37: 10052-10062, 2017.

< 学会発表 >

1. Yoshioka K, Sato T. Critical role of JSAP in axonal transport to prevent neuronal degeneration. 第 60 回日本神経化学学会大会 シンポジウム “The signaling of JNK as a positive signal for neuronal development and regeneration” 2017 年 9 月 8 日, 仙台
2. Gunarta IK, Yoshioka K. Functional role of GLI1 in maintaining mesenchymal-like and invasive phenotype of melanoma cells.
第 76 回日本癌学会学術総会, 2017 年 9 月 30 日, 横浜
3. Gunarta IK, Li R, Yoshioka K. Role of JLP in oxidative stress-induced cell death.
2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (第 40 回日本分子生物学会年会・第 90 回日本生化学会大会) 2017 年 12 月 6 日, 神戸
4. Nakazato R, Boldbaatar J, Yuliana D, Suzuki R, Yoshioka K. Functional analysis of JSAP in the regulation of chromosome segregation.
2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (第 40 回日本分子生物学会年会・第 90 回日本生化学会大会) 2017 年 12 月 8 日, 神戸
5. Boldbaatar J, Nakazato R, Yoshioka K. Overexpression of JSAP induces chromosome segregation errors.
2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (第 40 回日本分子生物学会年会・第 90 回日本生化学会大会) 2017 年 12 月 8 日, 神戸

<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」1,300 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」2,400 千円
3. 科学研究費補助金 若手研究 (B) (研究代表者：中里 亮太) 「JSAPによる染色体分配制御とその破綻がもたらすがんの発生・悪性化の分子機構」1,100 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：高松 信彦 (北里大学)
「足場タンパク質 JSAP の機能解析」
3. 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」
4. 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> (2017年12月現在まで)

※研究指導

教授: 源 利成; 助教: 堂本貴寛; 博士研究員: Ilya V. Pyko

大学院博士課程: 北村祥貴 (先進総合外科学), 下崎真吾 (整形外科学; ~3月), 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, 中西宏佳 (4月~), 上原将大 (4月~)

大学院修士課程: 上原将大 (医学系; ~3月)

技能補佐員: 浅香敦子; 技能補佐員 (ヒトがん組織バンク): 阿部尚子

共同研究員: 小竹優範 (厚生連高岡病院外科), 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学内外のグループと共同研究を進める。

1. 大腸がんの分子病理学的特性の研究と応用

2000 年前後より続けてきた大腸がんの Wnt/ β -カテニン経路研究に区切りをつけた。ついで、大腸がんの分子病理学的特性について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研究課題を継続するとともに、新たな課題を開始した。

(1) エピジェネティクスを指標にする大腸がんの病態研究 (外科系大学院の課題)

進行再発大腸がんを対象に、LINE-1 や p16 のプロモータメチル化を検出、測定し、患者の化学療法効果や予後と比較解析を進めている。p16 の結果は論文投稿中。

(2) 大腸がん細胞分裂過程における核膜孔複合体因子 (nucleoporins: Nups) の機能解析

本課題に先立って、Wnt 経路活性に必須であり核局在構造を持たない β -カテニンの核移入の仕組みについて、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、大腸がん細胞では特定の 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。がん細胞の核分裂で一過性に消失する核膜から Nup の一種 Tpr が中心小体や紡錘体に局在を変えて、核分裂過程を推進し、がん促進的に作用する。大腸がん組織検体や TCGA データベースの解析により、Tpr はがん細胞に高発現していた。分裂核に動員される Tpr の機能に GSK3 β が協働し、核分裂崩壊 (mitotic catastrophe) を回避することを見だし (修正投稿中)、そのメカニズムの検討を進めている。

(3) 質量分析と機械学習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と機械学習を組合わせて非がん/がんの判別(診断)アルゴリズムを構築し, 生体分子の発現量を解析することでがん病態を理解する。これまでに, 学習用 207 検体の正常粘膜とがん組織のデータベースをもとに考案したがん診断アルゴリズムは, 別の 143 検体で検証することにより, 感度と特異度はいずれも 90%以上であった(論文作成中)。現在, 解析症例/検体数を増やすとともに, 帝京大学, 島津製作所・基盤技術研究所と連携し, 本学消化器外科学や石川県立中央病院外科などと共同で, 大腸がんの内視鏡診断や術中迅速診断への応用に向けた臨床研究の可能性を協議している。

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

Wnt/ β -カテニン経路抑制因子と認識されている GSK3 β が固有の分子経路を介して, がんの主要な悪性形質を推進することを系統的に示してきた。そして, GSK3 β 阻害の強力で特異的ながん治療効果を細胞レベルと担がん動物で実証した。また, 本学脳神経外科学, 整形外科, 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, 膵がん, 膠芽腫や骨軟部肉腫などの難治, 希少がんにおいて高活性を示す GSK3 β が, 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。一連の研究をもとに, GSK3 β 阻害医薬品の転用と抗がん剤を併用するがん治療法を開発し, 再発膠芽腫(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)。前者の結果は今春, 学術誌に報告した。最近の数年間には, 以下の課題を中心に取組んでいる。

(1)がんのエネルギー代謝と核分裂:GSK3 β はグリコーゲン代謝制御酵素であることから, 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対する GSK3 β の機能解析を進めている。解糖経路は生体高分子合成と核分裂に直結するので, 代謝解析とともに核分裂過程における GSK3 β の新たな機能を検討している(前項)。

(2)抗がん剤獲得耐性:北里大学と奈良県立医科大学で樹立されたゲムシタビン獲得耐性を示す2種類の膵がん細胞系列を対象に, 抗がん剤耐性, 腫瘍浸潤とがん幹細胞性の相互連関(intersection or interconnection)に着目して, GSK3 β の機能解析を開始した。

(3)がん幹細胞性:脳神経外科学:中田光俊教授らと共同で患者腫瘍由来の膠芽腫スフェア系列を樹立し, スフェアと同所移植マウスモデル腫瘍における GSK3 β の機能とその阻害によるがん幹細胞性に対する効果とメカニズムの解析を進めている。

(4)食道扁平上皮がん:消化器がんの臨床に即した課題として, ヨード不染(グリコーゲン減少, 消失)を特徴とする食道発がん初期病巣の発生機構と治療, 予防に関して, 糖代謝の視点から研究を計画した。そして, 食道扁平上皮がん細胞と自然食道発がんラットモデルを対象に, GSK3 β の機能とその阻害によるがん治療, 予防効果とメカニズム解析を進めている。

3. ヒト消化管がん組織検体資源化と研究利用

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。この組織資源の共同利用を促進するために、日本医療研究開発機構バイオバンク事業部 (<http://222.158.228.189/biobank/index.html>) とクリニカルバイオバンク研究会に情報公開した。

【研究業績】

[註] 下線は研究室メンバー，在籍者，研究協力員および共同研究員

<論文発表>

原著

1. Matsuda Y, Ishiwata T, Yoshimura H, Yamahatsu K, Minamoto T, Arai T. Nestin phosphorylation at threonines 315 and 1299 correlates with proliferation and metastasis of human pancreatic cancer. *Cancer Sci* 108 (3): 354-61, 2017.
2. Furuta T, Sabit H, Dong Y, Miyashita K, Kinoshita M, Uchiyama N, Hayashi Y, Hayashi Y, Minamoto T, Nakada M. Biological basis and clinical study of glycogen synthase kinase-3 β -targeted therapy by drug repositioning for glioblastoma. *Oncotarget* 8 (14): 22811-24, 2017.
3. Mohamed MS, Kobayashi A, Taoka A, Watanabe-Nakayama T, Kikuchi Y, Hazawa M, Minamoto T, Fukumori Y, Kodera N, Uchihashi T, Ando T, Wong RW. High-speed atomic force microscopy reveals loss of nuclear pore resilience as a dying code in colorectal cancer cells. *ACS Nano* 11 (6): 5567-78, 2017.
4. Kimura A, Kitamura K, Ailiken G, Satoh M, Minamoto T, Tanaka N, Nomura F, Matsushita K. FIR haploinsufficiency promotes splicing to pyruvate kinase M2 in mice thymic lymphoma tissues revealed by six-plex tandem mass tag quantitative proteomic analysis. *Oncotarget* 8 (40): 67955-65, 2017.
5. Nakanishi H, Doyama H, Ishikawa H, Uedo N, Gotoda T, Kato M, Nagao S, Nagami Y, Aoyagi H, Imagawa A, Kodaira J, Mitsui S, Kobayashi N, Muto M, Takatori H, Abe T, Tsujii M, Watari J, Ishiyama S, Oda I, Ono H, Kaneko K, Yokoi C, Ueo T, Uchita K, Matsumoto K, Kanetsaka T, Morita Y, Katsuki S, Nishikawa J, Inamura K, Kinjo T, Yamamoto K, Yoshimura D, Araki H, Kashida H, Hosokawa A, Mori H, Yamashita H, Motohashi O, Kobayashi K, Hirayama M, Kobayashi H, Endo M, Yamano H, Murakami K, Koike T, Hirasawa K, Miyaoka Y, Hamamoto H, Hikichi T, Hanabata N, Shimoda R, Hori S, Sato T, Kodashima S, Okada H, Mannami T, Yamamoto S, Niwa Y, Yashima K, Tanabe S, Satoh H, Sasaki F, Yamazato T, Ikeda Y, Nishisaki H, Nakagawa M, Matsuda A, Tamura F, Nishiyama H, Arita K, Kawasaki K, Hoppo K, Oka M, Ishihara S, Mukasa M, Minamino H, Yao K. Evaluation of an e-learning system for diagnosis of gastric lesions using magnifying narrow-band imaging: a multicenter randomized controlled study. *Endoscopy* 49 (10): 957-67, 2017.

著書・総説

6. 島崎猛夫, 堂本貴寛, 宮下知治, 中田光俊, 元雄良治, 太田哲生, 源 利成. 膵がんの増殖, 浸潤と治療不応性を繋ぐ治療標的GSK3 β . *肝胆膵* 75: 769-75, 2017.

<学会発表>

国際学会

1. Shingo Shimozaki, Norio Yamamoto, Takahiro Domoto, Toshinari Minamoto, Robert M. Hoffman, Hiroyuki Tsuchiya. Therapeutic effect of glycogen synthase kinase-3 β inhibition against osteosarcoma via activation of β -catenin. The 19th International Society of Limb Salvage General Meeting. May 10 (Wed)-12 (Fri), 2017. Hotel Nikko Kanazawa, Kanazawa, Japan.
2. Nakanishi H, Doyama H, Ishikawa H, Yao K. Analysis of the factors associated with the poor improvement of the diagnostic ability for early gastric cancer using magnifying narrow-band imaging after taking e-learning system: A post-hoc analysis. Asian Pacific Digestive Week 2017, September 23-26, Hong Kong.
3. Takahiro Domoto, Ilya V. Pyko, Masahiro Uehara, Dilireba Bolidong, Toshinari Minamoto. Aberrant glycogen synthase kinase (GSK)3 β participates in tumor-promoting autophagy in colorectal cancer. The 9th International Conference on the International Society of Gastroenterological Carcinogenesis, November 17, 18, 2017, Kumamoto, Japan.
4. Masahiro Uehara, Takahiro Domoto, Satoshi Takenaka, Ilya Pyko, Takeo Shimasaki, Tomoharu Miyashita, Tetsuo Ohta, Toshinari Minamoto. Putative role of glycogen synthase kinase (GSK)-3 β in acquired resistance to gemcitabine (GEM) in pancreatic cancer. The 9th International Conference on the International Society of Gastroenterological Carcinogenesis, November 17, 18, 2017, Kumamoto, Japan.
5. Takeo Shimasaki, Satoko Yamamoto, Takahiro Domoto, Toshinari Minamoto. Influence of anti-cancer drug against exosome dynamics in pancreatic cancer cells. The 9th International Conference on the International Society of Gastroenterological Carcinogenesis, November 17, 18, 2017, Kumamoto, Japan.

国内学会

6. Mahmoud Shaaban Mohamed, Yosuke Kikuchi, Watanabe-Nakayama Takahiro, Azuma Taoka, Akiko Kobayashi, Masaharu Hazawa, Noriyuki Kodera, Takayuki Uchihashi, Toshinari Minamoto, Yoshihiro Fukumori, Toshio Ando, Richard W. Wong. Dynamics and behavior of cancer nuclear pore complexes as revealed by high-speed atomic force microscopy. 日本生化学会北陸支部第35回大会, 2017年6月3日(土), 金沢大学宝町キャンパス 医学部記念館, 金沢市.
7. Mahmoud Shaaban Mohamed, Yosuke Kikuchi, Watanabe-Nakayama Takahiro, Azuma Taoka, Akiko Kobayashi, Masaharu Hazawa, Noriyuki Kodera, Takayuki Uchihashi, Toshinari Minamoto, Yoshihiro Fukumori, Toshio Ando, Richard W. Wong. High-speed atomic force microscopy visualization of the nuclear pores dynamics in colon cancer cells. 第17回日本蛋白質科学会年会, 2017年6月20日(火)–22日(木), 仙台国際センター, 仙台市.
8. 源 利成. 金沢大学がん進展制御研究所 ヒト消化器がん組織バンク. 第3回クリニカルバイオバンク研究会シンポジウム, 2017年07月07日(金)–09日(日), 千葉大学亥鼻キャンパス 医学部記念講堂・同窓会館, 千葉市.

9. 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の解析. 第 48 回日本膵臓学会大会 京都 2017 年 07 月 14 日(金), 15 日(土), 京都市勧業館みやこめっせ, 京都市.
10. 富田泰斗, 三浦聖子, 藤田 純, 大西敏雄, 藤田秀人, 木南伸一, 中野泰治, 上田順彦, 小坂健夫, 源 利成. 大腸がんにおける CRD-BP の発現とがんの臨床病理学的特性や分子病態との関連解析. 第 72 回日本消化器外科学会総会, 2017 年 7 月 20 日(木) – 22 日(土), 石川県立音楽堂, ほか, 金沢市.
11. 金子真美, 伴登宏之, 小竹優範, 源 利成. 進行再発大腸がんにおける LINE-1 メチル化の化学療法効果予測や予後因子としての有用性. 第 72 回日本消化器外科学会総会, 2017 年 7 月 20 日(木) – 22 日(土), 石川県立音楽堂, ほか, 金沢市.
12. 堂本貴寛, 竹中 哲, 宮下知治, 上原将大, 太田哲生, 源 利成. ゲムシタビン獲得耐性膵がん細胞の幹細胞性と浸潤能における GSK3 β の作用. 第 26 回日本がん転移学会学術集会・総会, 2017 年 7 月 27 日(木), 28 日(金), 大阪国際会議場, 大阪市.
13. 竹中 哲, 宮下知治, 上原将大, 堂本貴寛, 源 利成, 太田哲生. 膵がん治療耐性に伴う幹細胞性と GSK3 β /STAT3 経路の機能解析. 第 26 回日本がん転移学会学術集会・総会, 2017 年 7 月 27 日(木), 28 日(金), 大阪国際会議場, 大阪市.
14. 阿部健作, 山本憲男, 堂本貴寛, 林 克洋, 武内章彦, 樋口貴史, 谷口裕太, 相羽久輝, 荒木麗博, 源 利成, 土屋弘行. 軟部肉腫に対する新しい分子標的治療の開発. 第 19 回骨軟部サマーセミナー, 8 月 19 日(土), 金沢大学医学部記念会館, 金沢市.
15. Mahmoud Shaaban Mohamed, Yosuke Kikuchi, Watanabe-Nakayama Takahiro, Azuma Taoka, Akiko Kobayashi, Masaharu Hazawa, Noriyuki Kodera, Takayuki Uchihashi, Toshinari Minamoto, Yoshihiro Fukumori, Toshio Ando, Richard W. Wong. Loss of nuclear pore selective barrier revealed by high-speed atomic force microscopy in colorectal cancer cells. 第 55 回日本生物物理学会第年会, 2017 年 9 月 19 日(火) – 21 日(木), 熊本大学 黒髪北地区, 熊本市.
16. Takahiro Domoto, Tomoharu Miyashita, Satoshi Takenaka, Masahiro Uehara, Tetsuo Ohta, Toshinari Minamoto. Glycogen synthase kinase 3 β facilitates invasive capacity in pancreatic cancer with acquired gemcitabine resistance. 堂本貴寛, 宮下知治, 竹中 哲, 上原将大, 太田哲生, 源 利成. GSK3 β はゲムシタビン獲得耐性膵がんの浸潤を促進する. 第 76 回日本癌学会学術総会, 2017 年 9 月 28 日(木) – 30 日(土), パシフィコ横浜, 横浜市.
17. Ilya V. Pyko, Takahiro Domoto, Mitsutoshi Nakada, Toshinari Minamoto. Sensitizing patient-derived stem-like cells to temozolomide by glycogen synthase kinase3 β inhibition. 第 76 回日本癌学会学術総会, 2017 年 9 月 28 日(木) – 30 日(土), パシフィコ横浜, 横浜市.
18. Masahiro Uehara, Takahiro Domoto, Satoshi Takenaka, Pyko Ilya, Takeo Shimasaki, Tomoharu Miyashita, Tetsuo Ohta, Toshinari Minamoto. Putative role of glycogen synthase kinase 3 β in acquired resistance to gemcitabine (GEM) in pancreatic cancer. 上原将大, 堂本貴寛, 竹中 哲, ピコ イリア, 島崎猛夫, 宮下知治, 太田哲生, 源 利成. 膵がんのゲムシタビン耐性獲得における glycogen synthase kinase (GSK)-3 β の役割. 第 76 回日本癌学会学術総会, 2017 年 9 月 28 日(木) – 30 日(土), パシフィコ横浜, 横浜市.

19. Dilireba Bolidong, Takahiro Domoto, Tomoyuki Okumura, Yoshio Endo, Masahiro Uehara, Ilya V. Pyko, Tomoharu Miyashita, Toshinari Minamoto. Aberrant glycogen synthase kinase (GSK)3 β participates in proliferation of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC). ボリドン ディリレバ, 堂本貴寛, 奥村知之, 遠藤良夫, 上原将大, ピコイリア, 宮下知治, 源 利成. Glycogen synthase kinase (GSK)3 β の食道扁平上皮がん促進作用の検討. 第 76 回日本癌学会学術総会, 2017 年 9 月 28 日(木)–30 日(土), パシフィコ横浜, 横浜市.
20. Takeo Shimasaki, Satoko Yamamoto, Takahiro Domoto, Etsuko Kiyokawa, Tomiyasu Arisawa, Toshinari Minamoto. Influence of anti-cancer drug against exosome dynamics in pancreatic cancer cells. 島崎猛夫, 山本聡子, 堂本貴寛, 清川悦子, 有沢富康, 源 利成. 抗がん剤による膵癌細胞のエクソソーム動態への影響. 第 76 回日本癌学会学術総会, 2017 年 9 月 28 日(木)–30 日(土), パシフィコ横浜, 横浜市.
21. 阿部健作, 山本憲男, 堂本貴寛, 林 克洋, 武内章彦, 樋口貴史, 谷口裕太, 相羽久輝, 荒木麗博, 源 利成, 土屋弘行. 軟部肉腫に対する GSK3 β 阻害による新しい分子標的治療. 第 55 回日本癌治療学会学術集会, 10 月 20 日(金)–22 日(日), パシフィコ横浜, 横浜市.
22. 阿部健作, 山本憲男, 堂本貴寛, 林 克洋, 武内章彦, 樋口貴史, 谷口裕太, 相羽久輝, 源 利成, 土屋弘行. GSK3 β 阻害による軟部肉腫の新しい分子標的治療. 第 36 回日本整形外科学会基礎学術集会, 10 月 26 日(木)–27 日(金), 沖縄コンベンションセンター, 宜野湾市.
23. 堂本貴寛, Ilya V. Pyko, 上原将大, Dilireba Bolidong, 源 利成. Glycogen synthase kinase (GSK)3 β は大腸がんの腫瘍促進的オートファジーを誘導する. 第 28 回日本消化器癌発生学会総会, 2017 年 11 月 17 日(金), 18 日(土), メルパルク熊本, 熊本市.
24. 上原将大, 堂本貴寛, 竹中 哲, Ilya Pyko, 島崎猛夫, 宮下知治, 太田哲生, 源 利成. 膵がんのゲムシタピン耐性獲得における glycogen synthase kinase (GSK)-3 β の役割. 第 28 回日本消化器癌発生学会総会, 2017 年 11 月 17 日(金), 18 日(土), メルパルク熊本, 熊本市.
25. 島崎猛夫, 山本聡子, 堂本貴寛, 源 利成. 抗がん剤による膵癌細胞のエクソソーム動態への影響. 第 28 回日本消化器癌発生学会総会, 2017 年 11 月 17 日(金), 18 日(土), メルパルク熊本, 熊本市.

<講演, その他>

26. 源 利成. 医学部進学に関する対話と助言. 石川県立金沢泉丘高等学校 SSH 模擬講義, 2017 年 1 月 15 日(金), 金沢大学医学類, 金沢市.
27. 源 利成. 大腸がん研究から同定した治療標的: 難治, 希少がんへの展開. 埼玉大腸がん地域連携キャンサーボード, 2017 年 02 月 03 日(金), ラ・ボア・ラクテ, 川越市.
28. 源 利成. 消化器・難治がんの糖代謝特性と治療: 創薬標的 GSK3 β に着目して. 第 4 回山梨医学フォーラム, 2017 年 02 月 16 日(木), 山梨大学医学部 臨床小講堂, 山梨県中央市.

29. 源 利成. これまでの消化管がん研究の経緯(抜粋)といま進めている研究の概要. 金沢大学消化器内科2セミナー, 2017年02月24日(金), 金沢大学附属病院 会議室, 金沢市.
30. 堂本貴寛. オートファジーとがん治療. 金沢大学公開講座, 2017年05月27日(土), 金沢市西町教育研修館 サテライトプラザ, 金沢市.
31. 源 利成. がんの性質にもとづく新しい治療法ー消化器がん, 難治がんと希少がんへの取りくみー. 金沢大学公開講座, 2017年06月10日(土), 金沢市西町教育研修館 サテライトプラザ, 金沢市.
32. 源 利成. いましていること:がんの診療と研究. 日本科学技術振興機構:中高生の科学研究実践活動推進プログラム(学校活動型) 尾山台高等学校 特別授業, 2017年08月25日(金), 藤花学園 尾山台高等学校, 金沢市.
33. 源 利成. PESI-MS による大腸がんの *ex vivo* 診断と病態研究への応用. 第2回 PESI研究会, 2017年09月27日(水), TKP 横浜ランドマークタワー, 横浜市.
34. 中西宏佳. 炎症性腸疾患診療の現状:新たな治療選択. 立山会, 2017年11月4日(土), ホテルニューオータニ高岡, 高岡市.

<学会開催>

第110回日本消化器内視鏡学会北陸支部例会, 2017年11月19日(日), 石川県地場産業振興センター. 参加者:北陸三県の消化器内視鏡医, 研究者, 300名.

<外部資金>(2017年度が含まれる課題)

1. 2017年ー2018年度 科学研究費補助金(若手研究B):課題番号 17K15022
堂本貴寛(代表)
 課題:GSK3β が制御するがん特異的エネルギー獲得機構の解明とがん治療への応用
 研究経費: 3,300,000 円
2. 2017年ー2019年度 科学研究費補助金(基盤研究C):課題番号 17K08655
Richard Wong(代表), 源 利成(連携), ほか
 課題:核膜孔タンパク質とクロマチン相互作用による大腸がんの病態解明
 研究経費: 3,700,000 円
3. 2016年ー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
4. 2016年ー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

5. 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 GSK3 β 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
6. 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, 曾我朋義, 清尾康志(連携)
課題:GSK3 β 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
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

<奨学寄附金>

- (1) 源利成(受入れ) 2017年3月 財団法人石川県予防医学協会 563,760 円
(2) 源利成(受入れ) 2017年3月 財団法人石川県予防医学協会 300,000 円
(3) 源利成(受入れ) 2017年3月 金沢大学先端科学・イノベーション推進機構 21,000 円
(4) 源利成(受入れ) 2016年5月 株式会社アルプ 185,866 円

<共同研究>

- [1] 2017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), 源利成, ほか(分担)
課題:膵組織幹細胞/前駆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: 400,000 円
- [2] 2017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), 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ルゴリズム構築および分子病態解明
研究経費: 400,000 円

- [3] 2017 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), 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: 400,000 円
- [4] 2017 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), 源 利成, ほか(分担)
課題:膠芽腫の上皮間葉転換における GLUT1 の役割
研究経費: 500,000 円
- [5] 2017 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), 阿部健作, 源 利成, ほか(分担)
課題:軟部肉腫の GSK3 β を標的とする新規治療法の開発と分子メカニズム
研究経費: 200,000 円
- [6] 2017 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), 上原将大, 堂本貴寛, 源 利成, ほか(分担)
課題:膀胱がん治療耐性に伴う幹細胞性獲得機構における GSK3 β /STAT3 経路の機能解
析
研究経費: 200,000 円
- [7] 2017 年度 金沢大学がん進展制御研究所共同研究(一般)
澤田 武(代表), 中西宏佳, 源 利成, ほか(分担)
課題:大腸鋸歯状腺腫を前癌病変とする大腸発癌機構の分子学的解明
研究経費: 200,000 円

<特許出願>

国内出願

出願番号: 特願 2017-223106

発明者: ウォング ウィン チェン リチャード, マハモド シャーバノ モハンメド アベ
デラソロ, 小林亜紀子, 田岡 東, 中山隆宏, 菊池洋輔, 羽澤勝治, 源 利成,
福森義宏, 小寺哲幸, 安藤敏夫

出願者: 国立大学法人金沢大学

出願日: 2017 年 11 月 20 日

名 称: 高速原子間力顕微鏡による細胞小器官の観察のための試料の調製方法

<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や非コードRNAなどによるエピジェネティックな制御は、がんの発症・悪性化に深く関与することが知られており、その可逆的な性質から創薬の標的としても注目されている。私達は、ウイルス感染発がんモデルマウスを用いたがん関連遺伝子の網羅的探索から、ヒストンのメチル化修飾を制御する因子を多数同定してきた。これまでの解析から、これらの因子は、がん悪性進展の様々な局面（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）において重要な役割を果たすことがわかってきた。

<今年度の研究成果，進行状況と今後の計画>

1) がん細胞の EMT におけるヒストン脱メチル化酵素 KDM6A の解析

TGF- β 刺激によって EMT が誘導されるがん細胞株では、EMT の進行を司る遺伝子発現の制御において、ヒストン H3 の 27 番目の Lys (H3K27) のメチル化修飾が重要である。これまでに、H3K27 メチル化を担う酵素複合体 PRC2（ポリコム抑制複合体）が上皮細胞マーカーである E-cadherin などの標的遺伝子の発現を抑制して EMT を誘導することを明らかにした。今回、H3K27 の脱メチル化に関わる 2 つの酵素 KDM6A (UTX) と KDM6B (JMJD3) について、EMT における機能を解析した。KDM6A は、上皮系遺伝子の発現制御領域における PRC2 のリクルートや H3K27 のメチル化を阻害し、それら遺伝子の発現抑制をブロックすることによって、EMT 誘導を阻止することが示された。すなわち、KDM6A は EMT プロセスにおいて、PRC2 のアンタゴニスティックな制御因子として機能することがわかった（論文 2）。一方、KDM6B は、大量発現及びノックダウン、いずれの場合にも EMT の進行を誘導することが示され、PRC2 複合体や KDM6A と全く異なる種類の遺伝子の発現を制御している可能性が示唆された。現在、EMT の進行における JMJD3 の複雑な機能を理解するために、標的遺伝子の探索などの解析を進行している。

2) TGF- β 刺激で誘導される EMT における長鎖非コード RNA の役割

EMTの進行に必要な上皮系遺伝子の発現抑制には、その遺伝子の発現制御領域へのPRC2 (H3K27メチル化酵素複合体)のリクルートが重要である。このリクルートには、PRC2複合体のアクセサリ因子JARID2に加えて、TGF- β 刺激によって誘導・活性化される何らかの因子が必要であることが示唆されていた。今年度、私達は長鎖非コードRNA (lncRNA) のひとつであるMEG3が、JARID2と結合してJARID2とPRC2の相互作用を増強し、PRC2の標的遺伝子クロマチンへのリクルートをガイドすることを見いだした(論文1)。実際に、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の活性化と上皮系遺伝子の発現抑制、それに伴うEMTの部分的な進行が観察された。最近、MEG3とゲノム上で隣接する遺伝子であるMEG8 lncRNAが、MEG3と同様に、EMTに伴い発現誘導されること、さらに発現をノックダウンするとEMTが阻害されることを発見した。EMT関連遺伝子の発現解析から、MEG8はMEG3と標的遺伝子や作用点が異なっている可能性が示唆されている。これらの結果から、EMTのエピジェネティック制御において、lncRNAが中心的な役割を担っていることが示された。lncRNAは、近年様々な生命現象においてその役割が注目されている機能性分子である。悪性腫瘍においても発現異常が頻繁に報告されているが、その機能はまだ不明な点が多く、lncRNAの役割を解明することは、新しいアプローチによるがん治療法の構築に貢献できると考えられる。

3) がん抑制遺伝子候補JMJD5の乳がん悪性化における機能

がん抑制遺伝子候補として同定したエピジェネティック制御因子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きた。その結果、JMJD5はがん抑制遺伝子産物p53のシグナル経路を制御し、正常な個体発生に必須な因子であることが示された。今年度は、JMJD5とヒトのがん発症及び悪性化との関係性を重点的に調べた。TCGA (The Cancer Genome Atlas) データベースを利用した情報学的解析から、JMJD5低発現の乳がん患者群は、高発現群と比べて有意に予後が悪く、その約70%は悪性度の高い乳がんサブタイプとして知られる「トリプルネガティブ型 (TN) 乳がん」に属することがわかった。TN乳がん組織においては、JMJD5の発現量が、正常乳腺組織や他の乳がんサブタイプ (nonTN) と比べて低下しており、JMJD5遺伝子ヘテロ結合性欠失 (LOH) の割合が、nonTN乳がん組織より数倍高かった。さらに、乳がん細胞株を用いて細胞生物学的解析を行ったところ、低酸素環境のもとでJMJD5の発現が顕著に抑制されることや、JMJD5の発現をノックダウンすると細胞のスフィア形成能や浸潤能が上昇することを見いだした。これらの結果は、JMJD5の発現低下と乳がん悪性化との密接な関係性を示唆するものである。今後、JMJD5の発現低下の分子メカニズムや、がん悪性進展過程における役割を解析する計画である。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著

(研究室主体)

1. 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.*, 292(1):82-99, 2017.
2. Terashima M, Ishimura A, Wanna-Udom S and Suzuki T. Epigenetic regulation of epithelial-mesenchymal transition by KDM6A histone demethylase in lung cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 490(4):1407-13, 2017.

(共同研究)

3. Gunarta IK, Li R, Nakazato R, Suzuki R, Boldbaatar J, Suzuki T and Yoshioka K. Critical role of glioma-associated oncogene homolog 1 in maintaining invasive and mesenchymal-like properties of melanoma cells. *Cancer Sci.*, 108(8):1602-11, 2017.

< 学会発表 >

国際学会

1. Suzuki T. Functional characterization of histone methyl-modifying enzymes during malignant progression of cancer. The Joint International Symposium of Tumor Microenvironment and Precision Oncology. (Seoul 2017年5月)
2. Terashima M, Ishimura A, Tange S and Suzuki T. Epigenetic Regulation of Epithelial-Mesenchymal Transition in Cancer Cells. The 12th International Symposium of Institute Network. (Tokyo 2017年11月)

国内学会

1. Suzuki T, Terashima M and Ishimura A. Involvement of long noncoding RNA in the epigenetic regulation of epithelial-mesenchymal transition in cancer cells. 第76回日本癌学会学術総会 (横浜2017年9月)
2. Ishimura A, Tange S, Wanna-Udom S, Terashima M and Suzuki T. A Tumor Suppressive Role of *JMJD5* in Triple-negative Breast Cancer. 2017年度生命科学系学会合同年次大会 (神戸2017年12月)
3. Terashima M, Tange S, Wanna-Udom S, Ishimura A and Suzuki T. The mechanism of epigenetic regulation in TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition. 2017年度生命科学系学会合同年次大会 (神戸2017年12月)

4. Suzuki T, Terashima M, Wanna-Udom S and Ishimura A. Epigenetic regulation of epithelial-mesenchymal transition by KDM6A histone demethylase in lung cancer cells. 2017年度生命科学系学会合同年次大会（神戸2017年12月）
5. Terashima M. MEG3長鎖ノンコーディングRNAによる上皮間葉転換のエピジェネティック制御機構. HOKURIKU RNA CLUB（金沢2017年12月）

<外部資金>

1. 文部科学省科学研究費補助金, 基盤研究 (C), 研究代表者 鈴木健之, 1,100 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, 1,200 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 成人 T 細胞白血病 (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 がん関連遺伝子による乳癌の発症・悪性化におけるエピゲノム変化の解析
3. 中村 卓郎 部長 公益財団法人がん研究会がん研究所 骨軟部肉腫の悪性化における融合型転写因子とクロマチンリモデリングの役割
4. 柴田 幹大 准教授 金沢大学新学術創成研究機構 高速バイオ AFM を用いた動的クロマチン構造の解析
5. 丹下 正一郎 助教 徳島大学医学部人類遺伝学講座 エピジェネティック因子 JARID2 と長鎖非コード RNA との相互作用の解析

がん分子標的医療開発プログラム

腫瘍内科研究分野

<研究スタッフ>

教授	矢野 聖二	臨床教授	大坪 公士郎
准教授	衣斐 寛倫	講師	竹内 伸司
臨床准教授	山田 忠明 (H29年3月まで)	助教	山下 要
助教	西山 明宏	助教	谷本 梓
助教	北井 秀典 (H29年3月まで)	助教	福田 康二 (H29年11月から)
特任助教	小谷 浩 (H29年6月まで)	特任助教	足立 雄太 (H29年7月から)
特任助手	新井 祥子 (H29年12月から)	医員	谷口 寛和 (H29年3月まで)
医員	佐藤 悠城	特任助手	福田 康二 (H29年10月まで)
修士研究員	新井 祥子 (H29年11月まで)	修士研究員	王 融
事務補佐員	堂林 淳子	事務補佐員	小堀 朋子
事務補佐員	寺田 真莉奈	事務補佐員	木野 美雪

【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、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）の症例登録および治療を完了し、第 II 相試験の推奨用量を決定した。また、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）においても、第 II 相試験の症例登録をほぼ完了した。基礎研究においては、アレクチニブが様々な RET 融合遺伝子を有するがん細胞株に対して抗腫瘍効果を示すことを明らかにした。さらに、臨床的に治療に難渋する脳転移の *in vivo imaging* モデルを確立した。

また、診療部門である「がんセンター」において、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た。さらに、文部科学省大学教育再生戦略推進費：多様な新ニーズに対応する「がん専門医療人材（がんプロフェッショナル）」養成プランにおいて、超少子高齢化地域での戦略的がん医療人養成（北信がんプロ：金沢大、信州大、富山大、福井大、金沢医大、石川看護大）の採択に貢献し、事業展開の中心として教育推進活動を行った。

<2017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、平成 29 年 2 月末で登録を完了した 527 例を登録 76 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)である医師主導治験の治療を平成 29 年 5 月に完了し、第 II 相試験の推奨用量がボリノスタット 400mg/日であることを決定した。また、重治療歴を有する症例を対象とした本第 I 相試験で高い病勢制御率(83%)が得られることを明らかにした。(竹内, 谷本, 西山, 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：平成 28 年 3 月から開始した 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) において、第 I 相部分でアレクチニブの最大耐容量が 450mg 一日二回内服と決定したことを国際学会で発表した。さらに、第 II 相部分での症例登録をほぼ完了し、平成 30 年 1 月末で症例登録を終了する予定である。(竹内, 西山, 谷本, 矢野)
3. FGFR 遺伝子増幅肺がんの初期耐性機構の解析：FGFR1 遺伝子増幅は肺扁平上皮がんの 10-20%前後に認められるが、FGFR1 遺伝子増幅陽性肺がんに対する FGFR 阻害薬の臨床試験では十分な奏効が認められていない。細胞株とマウスゼノグラフトを用いた解析により FGFR1 遺伝子増幅肺がんでは FGFR1 以外の受容体による下流シグナルの活性化が初期耐性に関与していることを示した (足立, 衣斐, 小谷, 矢野)
4. RET 肺がんにおけるアレクチニブ感受性：ALK 阻害薬であるアレクチニブが、CCDC6-RET のみならず NCOA4-RET 融合遺伝子を有するがん細胞に対しても高い抗腫瘍効果を示すことを明らかにした。(新井, 北, 福田, 竹内, 矢野)
5. 脳転移の *in vivo imaging* モデル確立：EGFR 変異肺がんや NTRK1 融合遺伝子陽性大腸がん細胞株を脳に移植し脳転移を模倣した *in vivo imaging* モデルを確立し、脳転移に対する分子標的薬のスクリーニングに有用であることを明らかにした。(北, 新井, 福田, 竹内, 矢野)
6. 小細胞肺がんに対する分子標的治療開発：小細胞肺がん株(SBC-5)の多臓器転移モデルにおいて、MET 阻害活性を有するクリゾチニブが転移巣の増殖抑制効果を示すことを明らかにした。(谷口, 竹内, 新井, 福田, 矢野)

<今後の計画>

1. 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。
2. 肺がんの中枢神経系病変における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。
3. 肺がんの免疫チェックポイント阻害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, 頭頸部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. Takeuchi S, Yoshimura K, Fujiwara T, Ando M, Shimizu S, Nagase K, Hasegawa Y, Takahashi T, Katakami N, Inoue A, Yano S. Phase I study of combined therapy with vorinostat and gefitinib to treat BIM deletion polymorphism-associated resistance in EGFR-mutant lung cancer (VICTROY-J): a study protocol. **J Med Invest** 2017; 64(3.4): 321-5.
2. Takeuchi S, Murayama T, Yoshimura K, Kawakami T, Takahara S, Imai Y, Kuribayashi Y, Nagase K, Goto K, Nishio M, Hasegawa Y, Satouchi M, Kiura K, Seto T, Yano S. Phase I/II study of alectinib in lung cancer with RET fusion gene: study protocol. **J Med Invest** 2017; 64(3.4):317-20.
3. Arai S*, Kita K*, Tanimoto A, Takeuchi T, Fukuda K, Sato H, Yano S. In vitro and in vivo anti-tumor activity of alectinib in tumor cells with NCOA4-RET. **Oncotarget** 2017; 8(43):73766-73. *: equally contribution
4. Kita K*, Arai S*, Nishiyama A, Taniguchi H, Fukuda K, Wang R, Yamada T, Takeuchi S, Tange S, Tajima A, Nakada M, Yasumoto K, Motoo Y, Murakami T, Yano S. In vivo imaging xenograft models for the evaluation of anti-brain-tumor efficacy of targeted drugs. **Cancer Med** 2017 ; 6(12): 2972-83. *: equally contribution
5. Taniguchi H, Yamada T, Takeuchi S, Arai S, Fukuda K, Sakamoto S, Kawada M, Yamaguchi H, Mukae H, Yano S. Impact of MET inhibition on small-cell lung cancer cells showing aberrant activation of the hepatocyte growth factor/MET pathway. **Cancer Sci** 2017;108(7): 1378-85.
6. Takeuchi S, Fukuda K, Yamada T, Arai S, Takagi S, Ishii G, Ochiai A, Iwakiri S, Itoi K, Uehara H, Nishihara H, Fujita N, Yano S. Podoplanin promotes progression of malignant pleural mesothelioma by regulating motility and focus formation. **Cancer Sci** 2017 ;108(4): 696-703.
7. Kotani H, Adachi Y, Kitai H, Tomida S, Bando H, Faber AC, Yoshino T, Voon DC, Yano S, Ebi H. Distinct dependencies on receptor tyrosine kinases in the regulation of MAPK signaling between BRAF V600E and non-V600E mutant lung cancers. **Oncogene In**

press.

8. Kitai H, Ebi H. Key roles of EMT for adaptive resistance to MEK inhibitor in KRAS mutant lung cancer. **Small GTPases** 2017; 8:172-6.
9. Adachi Y, Watanabe K, Kita K, Kitai H, Kotani H, Sato Y, Inase N, Yano S, Ebi H. Resistance mediated by alternative receptor tyrosine kinases in FGFR1-amplified lung cancer. **Carcinogenesis** 2017; 38(11): 1063-72.
10. 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** 2017; 16(3): 506-15. *: equally contribution
11. 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** 2017; 23(12): 3139-49.
12. Taniguchi H, Takeuchi S, Fukuda K, Nakagawa T, Arai S, Nanjo S, Yamada T, Yamaguchi H, Mukae H, Yano S. Amphiregulin triggered EGFR activation confers in vivo crizotinib-resistance of EML4-ALK lung cancer and circumvention by EGFR inhibitors. **Cancer Sci** 2017; 108(1): 53-60.

(共同研究)

1. Yamada T, Amann JM, Tanimoto A, Taniguchi H, Shukuya T, Timmers C, Yano S, Shilo K, Carbone DP. Histone deacetylase inhibition enhances the antitumor activity of a MEK inhibitor in lung cancer cells harboring RAS mutations. **Mol Cancer Ther** 2017 Oct 27; [Epub ahead of print]
2. Tsunozuka Y, Tanaka N, Fujimori H, Togashi Y, Baba S, Takeuchi K, Katayanagi K, Kurumaya H, Kitade H, Atagi S, Yano S. The case of double primary lung adenocarcinomas with an EGFR mutation and ALK translocation successfully treated with alectinib at the post-surgical recurrence. **J Med Invest** 2017; 64(3.4): 305-7.
3. Izumi K, Shigehara K, Nohara T, Narimoto K, Kadono Y, Nanjo S, Yamada T, Ohtsubo K, Yano S, Mizokami A. Androgen replacement therapy for cancer-related symptoms in male advanced cancer patients: study protocol for a randomised prospective trial (ARTFORM study). **J Med Invest** 2017; 64(3.4): 202-4.

4. Yoshino T, Arnold D, Taniguchi H, Pentheroudakis G, Yamazaki K, Xu RH, Kim TW, Ismail F, Tan IB, Yeh KH, Grothey A, Zhang S, Ahn JB, Chong D, Chen LT, Kopetz S, Eguchi-Nakajima T, Ebi H, Ohtsu A, Cervantes A, Muro K, Taberero J, Minami H, Ciardiello F, Douillard JY. Pan-Asian adapted ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer; A JSMO - ESMO initiative endorsed by CSCO, KACO, MOS, SSO and TOS. **Ann Oncol** 2017 Nov 16; [Epub ahead of print]
5. Song KA, Niederst MJ, Lochmann TL, Hata AN, Kitai H, Ham J, Floros KV, Hicks MA, Hu H, Mulvey HE, Drier Y, Heisey DAR, Hughes MT, Patel NU, Lockerman E, Garcia AR, Gillepsie S, Archibald HL, Gomez-Caraballo M, Nulton TJ, Windle B, Piotrowska Z, Sahingur SE, Taylor SM, Dozmorov MG, Sequist LV, Bernstein BE, Ebi H, Engelman JA, Faber AC. Epithelial-to-mesenchymal transition antagonizes response to targeted therapies in lung cancer by suppressing BIM. **Clin Cancer Res** 2017 Oct 19; [Epub ahead of print]
6. Soh SX, Siddiqui FJ, Allen JC, Kim GW, Lee JC, Yatabe Y, Soda M, Mano H, Soo RA, Chin TM, Ebi H, Yano S, Matsuo K, Niu X, Lu S, Isobe K, Lee JH, Yang JC, Zhao M, Zhou C, Lee JK, Lee SH, Lee JY, Ahn MJ, Tan TJ, Tan DS, Tan EH, Ong ST, Lim WT. A systematic review and meta-analysis of individual patient data on the impact of the BIM deletion polymorphism on treatment outcomes in epidermal growth factor receptor mutant lung cancer. **Oncotarget** 2017; 8(25): 41474-86.

総説

1. 矢野聖二. がんの分子標的療法の進歩 **整形・災害外科** 60(6): 807-11, 2017
2. 衣斐寛倫. KRAS 遺伝子変異肺がんに対する分子標的治療 **分子呼吸器病** 21: 1-2, 2017
3. 衣斐寛倫. 分子標的薬の併用 2) BRAF V600 変異を有する大腸がんに対する BRAF 阻害薬+EGFR 阻害薬併用療法 **腫瘍内科** 19: 663-8, 2017
4. 衣斐寛倫. カペシタビン、ドキシフルリジン **抗悪性腫瘍薬コンサルトブック**: 230-4, 2017
5. 衣斐寛倫, 矢野聖二. 68 抗悪性腫瘍薬(分子標的薬) **Pocket Drugs 2017**: 497-516, 2017
6. 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** 114(4): 700-9, 2017

7. 大坪公士郎, 蒲田敏文. 他科のエキスパートにお尋ねしますーここを教えてくださいただけますか? 膵臓編 **画像診断** in press
8. 岡崎充善, 田島秀浩, 山口貴久, 牧野 勇, 大島慶直, 中沼伸一, 林 泰寛, 宮下知治, 大坪公士郎, 太田哲生. 膵・胆管合流異常に合併した胆嚢腺扁平上皮癌の 1 例. **胆道** 31(5): 844-9, 2017
9. 谷本梓, 矢野聖二. EGFR-TKI の耐性機序と耐性克服 **腫瘍内科** 19: 519-25, 2017

<学会発表・国内>

1. 第 114 回日本内科学会講演会 大坪公士郎, 足立雄太, 谷本 梓, 小谷 浩, 西山明宏, 竹内伸司, 衣斐寛倫, 矢野聖二. 当科における FOLFIRINOX 療法, GEM+nab-PTX 療法導入後の膵癌化学療法の治療成績. 2017 年 4 月 東京
2. 第 114 回日本内科学会講演会 西山明宏, 谷口寛和, 谷本 梓, 小谷 浩, 北井秀典, 竹内伸司, 山田忠明, 衣斐寛倫, 大坪公士郎, 矢野聖二. 進行甲状腺癌に対するレンパチニブの効果と安全性. 2016 年 4 月 東京
3. 第 57 回日本呼吸器学会 矢野聖二. 肺がんの新規分子標的治療を開発するトランスレーショナルリサーチ. 2017 年 4 月 東京
4. 第 103 回日本消化器病学会総会 大坪公士郎, 山下 要, 田島秀浩, 太田哲生, 井上 大, 蒲田敏文, 池田博子, 本田五郎, 全 陽, 矢野聖二. 主膵管狭窄に対して ENPD 留置下連続膵液細胞診を施行した症例に関する検討. 2017 年 4 月 東京
5. 第 21 回日本がん分子標的治療学会学術集会 矢野聖二. KRAS 変異がんの治療開発の最新情報. 2017 年 6 月 福岡
6. 第 21 回日本がん分子標的治療学会学術集会 衣斐寛倫. MAPK 変異腫瘍における分子標的治療薬耐性の解明と新規治療開発. 2017 年 6 月 福岡
7. 第 21 回日本がん分子標的治療学会学術集会 衣斐寛倫. 分子標的治療薬および分子標的療法耐性の克服への挑戦. 2017 年 6 月 福岡

8. 第 21 回日本がん分子標的治療学会学術集会 西山明宏, 山田忠明, 新井祥子, 谷本 梓, 竹内 伸司, 矢野 聖二. NTRK1 遺伝子異常を有する大腸癌細胞株における TRK 阻害薬 Entrectinib 耐性機構の解明とその克服. 2017 年 6 月 福岡
9. 第 21 回日本がん分子標的治療学会学術集会 谷本 梓, 竹内 伸司, 矢野 聖二. EGFR 変異肺がんにおける 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. 2017 年 6 月 福岡
10. 第 21 回日本がん分子標的治療学会学術集会 新井祥子, 谷本 梓, 西山明宏, 竹内伸司, 矢野聖二. NCOA4-RET に対するアレクチニブの阻害効果. 2017 年 6 月 福岡
11. 第 48 回日本膵臓学会大会 大坪公士郎, 山下 要, 三宅邦夫, 矢野聖二. 胆汁を用いた膵胆道疾患における癌抑制型 miRNA のメチル化異常に関する検討. 2017 年 7 月 京都
12. 第 15 回日本臨床腫瘍学会学術集会 矢野聖二. 分子標的薬の獲得耐性と耐性克服治療. 2017 年 7 月 神戸
13. 第 15 回日本臨床腫瘍学会学術集会 衣斐寛倫, 岡本 涉, 高吉琴絵, 廣中秀一, 本間義崇, 中西良太, 野村尚吾, 設楽紘平, 大津 敦, 吉野孝之. SCRUM-Japan GI-SCREEN: Efficient Identification of Cancer Genome Alterations in Advanced Small Intestine Cancer. 2017 年 7 月 神戸
14. 第 15 回日本臨床腫瘍学会学術集会 大坪公士郎, 山下 要, 足立雄太, 谷本 梓, 西山明宏, 竹内伸司, 衣斐寛倫, 矢野聖二. 膵癌化学療法に合併した薬剤性間質性肺疾患症例の検討. 2017 年 7 月 神戸
15. 第 15 回日本臨床腫瘍学会学術集会 竹内伸司, 矢野聖二. 医師主導治験による肺がんの新規分子標的治療の開発. 2017 年 7 月 神戸
16. 第 15 回日本臨床腫瘍学会学術集会 谷本 梓, 竹内伸司, 矢野聖二. HDAC3 inhibition overcomes BIM deletion polymorphism-mediated osimertinibresistance in EGFR-mutant lung cancer. 2017 年 7 月 神戸
17. 第 15 回日本臨床腫瘍学会学術集会 佐藤悠城, 藤本大智, 上原慶一郎, 富井啓介, 今井幸弘, 石田佳央理, 今岡由紀, 林 健太郎, 福岡順也. 4 種類の PD-L1 免疫染色法 (28-8, 22C3, SP142, SP263) による染色性の相違と既治療非小細胞癌患者の Nivolumab の治療効果との検討. 2017 年 7 月 神戸
18. 第 26 回日本がん転移学会学術集会総会 西山明宏, 山田忠明, 北 賢二, 新井祥子, 福田康二, 谷本 梓, 竹内伸司, 田嶋 敦, 矢野聖二. NTRK1 遺伝

子異常を有する大腸癌細胞株における TRK 阻害薬 Entrectinib 耐性機構の解明とその克服. 2017年7月 大阪

19. 第26回日本がん転移学会学術集会総会 王 融, 山田忠明, 新井祥子, 竹内伸司, 松井順二, 小野田尚佳, 矢野聖二. ヒト未分化甲状腺がん脳転移 in vivo イメージングモデルを用いたレンバチニブ治療の検討. 2017年7月 大阪
20. 第76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. 2017年9月 横浜
21. 第76回日本癌学会学術総会 衣斐寛倫, 小谷 浩, 足立雄太. BRAF 変異腫瘍におけるシグナル伝達系の違いを利用した新規治療戦略. 2017年9月 横浜
22. 第76回日本癌学会学術総会 竹内伸司. 肺がんの分子標的治療薬耐性を制御する HDAC 阻害による新規治療戦略. 2017年9月 横浜
23. 第76回日本癌学会学術総会 王 融, Wan Wei, Li Qi, Peng Shunli. 肺癌において NF-kB/MET の抑制が放射線治療及び EGFR 阻害剤に対する感度を強める. 2017年9月 横浜
24. 第59回日本消化器病学会大会 大坪公士郎, 山下 要, 池田博子, 矢野聖二. 一般演題膵癌症例における EUS-FNA 検体を用いた各種上皮間葉転換 (EMT) マーカーに関する検討. 2017年10月 福岡

<学会発表・国際>

1. The AACR Annual Meeting 2017. 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. 2017年4月 Washington, D.C., USA
2. Best of ASCO 2017-3rd Singapore Society of Oncology Annual Scientific Meeting. Yano S. Gefitinib versus vinorelbine+cisplatin as adjuvant treatment in stage II-III A Non-Small cell lung cancer with EGFR-activating mutation (ADJUVANT): A randomized, Phase III Trial (CTONG 1104). 2017年7月 Singapore
3. Best of ASCO 2017-3rd Singapore Society of Oncology Annual Scientific Meeting. Yano S. Circumvention of EGFR-TKI resistance associated with East Asian specific BIM deletion polymorphism. 2017年7月 Singapore
4. European Society for Medical Oncology (ESMO) 2017 Congress. Yano S, Arai S, Kita K,

Tanimoto A, Takeuchi S. Anti-tumor activity of alectinib in the orthotopic in vivo imaging model with NCOA4-RET fusion positive tumor cells. 2017年9月 Madrid, Spain

5. Kanazawa University Cancer Research Institute the 50th Anniversary International Symposium 2017. Yano S. Challenge to overcome targeted drug resistance. 2017年10月 Kanazawa, Japan
6. European Society for Medical Oncology (ESMO) Asia 2017 Congress. Hase T, Takeuchi S. Ando M, Hata A, Kenmotsu H, Fujiwara T, Shimizu S, Nagase K, Yoshimura Y, Katakami N, Takahashi T, Hasegawa Y, Yano S. Phase I study of combined therapy with vorinostat and gefitinib to treat BIM deletion polymorphism-associated resistance in EGFR-mutant lung cancer (VICTROY-J) 2017年11月 Singapore
7. European Society for Medical Oncology (ESMO) Asia 2017 Congress. Nosaki K, Takeuchi S. Takahara S, Kawakami T, Yoh K, Kono Y, Horiike A, Seto T, Goto K, Yoshimura K, Imai Y, Murayama T, Yano S. Safety of alectinib in non-small cell lung cancer patients with RET fusion gene (ALL-RET): results from the dose-finding portion of a phase 1/2 study. 2017年11月 Singapore

<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
50,194千円
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
39,862千円
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
14,115千円
4. 日本医療研究開発機構 革新的がん医療実用化研究事業
矢野聖二 研究分担者

- 遺伝子スクリーニング基盤（LC-SCRUM-Japan）を利用した、MET遺伝子異常陽性の進行非小細胞肺癌に対する治療開発を目指した研究 500千円
5. 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 3,800千円
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 100千円
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 20,000千円
8. 日本医療研究開発機構 革新的がん医療実用化研究事業
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 2,000千円
9. 国際共同研究加速基金 日本学術振興会
衣斐寛倫 研究代表者
PI3KおよびERKパスウェイを標的としたKRAS変異腫瘍に対する新規治療開発（国際共同研究強化） 11,000千円
10. 基盤研究（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 1,100千円
11. 日本医療研究開発機構 臨床研究口治験推進研究事業
衣斐寛倫 研究分担者
産業連携全国がんゲノムスクリーニング(SCRUM-Japan)患者レジストリを活用したBRAF遺伝子変異陽性切除不能進行・再発大腸がんを対象にした医師主導治験 500千円

12. 基盤研究 (C) 日本学術振興会
大坪公士郎 研究代表者
膵癌における早期エピゲノム診断を目指したマイクロRNA発現異常領域の同定
900千円
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
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
3,000千円
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
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
4,000千円
15. 基盤研究 (C) 日本学術振興会
竹内伸司 研究代表者
アポトーシス抵抗性に起因する変異型選択的EGFR-TKI耐性克服治療の開発
1,100千円
16. 基盤研究 (C) 日本学術振興会
山下 要 研究分担者
膵癌における早期エピゲノム診断を目指したマイクロRNA発現異常領域の同定
100千円
17. 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
900千円
18. 共同研究 エーザイ株式会社
矢野聖二 研究代表者
各種ヒト癌細胞株の脳転移マウスモデルにおけるレンバチニブの薬効評価
2,000千円
19. 高松宮妃癌研究基金研究助成金
矢野聖二
肺がん脳転移の分子標的薬耐性を克服する研究
2,000 千円

20. 北國がん基金研究助成金
衣斐寛倫
フィードバック機構の抑制に基づくMAPK変異腫瘍に対する新規治療薬開発
1,000千円
21. 日本イーライリリー株式会社研究助成金
西山明宏
抗癌剤耐性の小細胞肺癌に対するイメージングモデルを用いた新規治療法の開発
1,000千円
22. ノバルティスファーマ研究助成金
谷本 梓
ALK 融合遺伝子陽性肺癌におけるアポトーシス抵抗性因子の解明と克服治療の開発
500千円

<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
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 阻害薬耐性をポ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融合遺伝子陽性肺癌に対するアレクチニブの有効性を明らかにする研究」

3. 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」

4. 金沢医科大学病理学 I 平田英周

「脳転移肺癌細胞の薬剤応答と耐性のキネティクス解析」

5. 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癌上皮間葉転換を標的とした治療法の開発」

6. 山梨大学山梨大学大学院研究部医学域社会医学講座 三宅邦夫

「膵癌の早期診断を目指したマイクロRNA発現・エピゲノム異常領域の同定」

7. Duke-NUS Graduate Medical School Singapore ONG, Sin Tiong

「肺癌におけるBIM遺伝子多型に起因したEGFR阻害薬耐性をポ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 久野 耕嗣

准教授 遠藤 良夫

【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。

<2017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 in vitro感染系の確立を進めている。本年は新規にヒト肝細胞分画およびnon-parenchymal cellsから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DMSOを添加する分化誘導法では、肝細胞様細胞はHBVレセプターが高発現であると共にHBV mRNA合成を亢進する転写因子HNF4AなどのmRNAも増加していて複合的な理由からHBV高感受性細胞となったものと考えられる。さらに、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-アミノレブリン酸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）は従来の光線力学的治療（PDT）で用いられるポルフィリン関連化合物とは異なり、がん細胞内でヘム合成系酵素群によりプロトポルフィリン（PpIX）に代謝されて光感受性物質として活性化され、殺細胞効果を発揮する。我々はALAとの同時処理により細胞内PpIX量を増加させてPDT効果を増強する低分子化合物のスクリーニングを実施し、シッフ塩基化合物TX-816を見出した。最近、TX-816の2-クロロ-4-ニトロアニリンを4-アルキルアニリン（C=2からC=6）に

置換した誘導体を合成し、ALA-PDT 効果増強活性の比較検討を行った。アルキル基の鎖長を変えた 4-アルキルアニリン誘導体はいずれも TX-816 の加水分解産物で活性本体である 3,5-ジクロロサリチルアルデヒド (DCSA) よりも強い ALA-PDT 効果増強作用を示し、中でも 4-ペンチルおよび 4-ヘキシルアニリンを導入した誘導体の増強作用がより強いことが明らかになった。さらに、DMSO 溶液中での安定性を調べたところ 4-アルキルアニリン誘導体は TX-816 に比較し 5-10 倍安定性が向上していることも明らかになった。以上の結果より、アルキル基を導入することで安定性と膜透過性を高め、がん細胞内で活性化されるプロドラッグ型誘導体の分子設計が可能であることが示され、現在さらなる誘導体の分子設計と活性評価を実施している。

ADAMTS-1 の雌生殖機能における役割の解析 (久野)

ADAMTS-1^{-/-}マウス (129/B6 遺伝子背景) は、腎盂尿管移行部閉塞症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、分娩前の ADAMTS-1^{-/-}マウスの子宮組織の変化について調べるため、妊娠 19 日目分娩前のマウスから子宮横断面の HE 染色標本を作製し、子宮各層の断面積を測定した。その結果、ADAMTS-1^{-/-}マウスの子宮では、野生型マウスと比較して脱落膜層の断面積が有意に減少していることが分かった。また妊娠 19 日目分娩前の ADAMTS-1^{-/-}マウスから調製した子宮条片では、野生型マウスのものと比較して自発収縮能の低下が認められた。これらの結果から、ADAMTS-1^{-/-}マウスの子宮では脱落膜層が減少しているために分娩前の脱落膜層の活性化が十分に起こらず、子宮平滑筋の自発収縮能の低下に繋がっている可能性が示唆された。今後、ADAMTS-1^{-/-}マウスの子宮組織のさらに詳しい組織学的解析を行って分娩時の子宮活性化における ADAMTS-1 の役割を調べるとともに、子宮頸管熟化過程についても解析を行い、ADAMTS-1 の分娩過程全般における役割を明らかにする。また 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. Shinohara Y, Endo Y (Contributed equally), Abe C, Shiba I, Ishizuka M, Tanaka T, Yonemura Y, Ogura SI, Tominaga M, Yamada H, Uto Y: Development of a novel Schiff base derivative

for enhancing the anticancer potential of 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2017 Oct 19. pii: S1572-1000(17)30442-8. doi: 10.1016/j.pdpdt.2017.10.014.

2. Shiba I, Kouzaki R, Yamada H, Endo Y, Takino T, Sato H, Kitazato K, Kageji T, Nagahiro S, Uto Y: Design and Synthesis of Novel Anti-metastatic Hypoxic Cytotoxin TX-2137 Targeting AKT Kinase. Anticancer Res. 2017 Jul;37(7):3877-3883. DOI:10.21873/anticancer.11768
3. Yonemura Y, Endo Y, Canbay E, Liu Y, Ishibashi H, Mizumoto A, Hirano M, Imazato Y, Takao N, Ichinose M, Noguchi K, Li Y, Wakama S, Yamada K, Hatano K, Shintani H, Yoshitake H, Ogura SI: Photodynamic Detection of Peritoneal Metastases Using 5-Aminolevulinic Acid (ALA). Cancers (Basel). 2017 Mar 1;9(3). pii: E23. doi: 10.3390/cancers9030023. Review.
4. Li Z, Takino T, Endo Y, Sato H: Activation of MMP-9 by membrane type-1 MMP/MMP-2 axis stimulates tumor metastasis. Cancer Sci. 2017 Mar;108(3):347-353. doi: 10.1111/cas.13134. Epub 2017 Mar 16.

<学会発表>

1. 遠藤良夫, 宇都義浩, 安部千秋, 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対する耐性化機構 日本薬学会第 137 年会 2017 年 3 月 24 日 (金) ~27 日 (月) (仙台, 仙台国際センター)
2. Yoshio Endo, Uto Yoshihiro, Obata Tohru, Chiaki Abe, Shun-ichiro Ogura, Yutaka Yonemura: Development of novel Schiff base derivative for enhancing the anticancer potential of ALA-based photodynamic therapy シッフ塩基誘導体の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感受性増強作用 第 76 回日本癌学会学術総会 2017 年 9 月 28 日 (木) ~30 日 (土) (横浜, パシフィコ横浜)
3. Dilireba Bolidong, Takahiro Domoto, Tomoyuki Okumura, Yoshio Endo, Masahiro Uehara, Ilya V. Pyko, Tomoharu Miyashita, Toshinari Minamoto: Aberrant glycogen synthase kinase (GSK)3 β participates in proliferation of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) Glycogen synthase kinase (GSK) 3 β の食道扁平上皮がん促進作用の検討 第 76 回日本癌学会学術総会 2017 年 9 月 28 日 (木) ~30 日 (土) (横浜, パシフィコ横浜)
4. 黒木和之, 志村瞳: DMSO は iPS 細胞より分化誘導した肝細胞への HBV 感染を高める 第 65 回日本ウイルス学会学術集会 2017 年 10 月 24 日~26 日 (大阪, 大阪国際会議場)
5. 黒木和之, 志村瞳: iPS 細胞より分化誘導した肝細胞を用いた HBV in vitro 感染系 第 40 回日本分子生物学会年会 2017 年 12 月 6 日~9 日 (神戸, 神戸ポー

トアイランド)

6. 生水真紀夫, 多久和陽, 岡本安雄, 松島綱治, 久野耕嗣 (°発表者): マウス分娩過程における ADAMTS-1 の役割の解析 第40回日本分子生物学会年会 (生命科学系学会合同年次大会) (2017年12月, 神戸)

<外部資金>

1. AMED 肝炎等克服実用化等研究事業 分担: 黒木和之
直接経費: 1,923,077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: 700千円
3. 科学研究費補助金 (基盤研究C) 分担: 遠藤良夫
直接経費: 600千円
4. 寄付金: 遠藤良夫
直接経費: 1,000千円

<共同研究>

1. HBV in vitro 感染系と HBV 感染制御法の開発 (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. 肝がん細胞を用いた低酸素選択的抗転移剤の開発 (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)

新學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。

<2017年の研究成果, 進捗状況>

1. KRAS/BRAF 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)

1. Kotani H, Adachi Y, Kitai H, Tomida S, Bando H, Faber AC, Yoshino T, Voon DC, Yano

- S, **Ebi H.** Distinct dependencies on receptor tyrosine kinases in the regulation of MAPK signaling between BRAF V600E and non-V600E mutant lung cancers. *Oncogene* In press.
2. Adachi Y, Watanabe K, Kita K, Kitai H, Kotani H, Sato Y, Inase N, Yano S, **Ebi H.** Resistance mediated by alternative receptor tyrosine kinases in FGFR1-amplified lung cancer. *Carcinogenesis*. 38:1063-1072, 2017.
 3. Kitai H, **Ebi H.** Key roles of EMT for adaptive resistance to MEK inhibitor in KRAS mutant lung cancer. *Small GTPases*. 8:172-176, 2017.

(共同研究)

1. Song KA, **Ebi H.**, et al (30 人中 28 番目). Epithelial-to-mesenchymal transition antagonizes response to targeted therapies in lung cancer by suppressing BIM. *Clin Cancer Res*. 2017 doi:10.1158/1078-0432.CCR-17-1577. [Epub ahead of print]
2. Yoshino T, **Ebi H.**, et al (26 人中 19 番目). Pan-Asian adapted ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer; A JSMO - ESMO initiative endorsed by CSCO, KACO, MOS, SSO and TOS. *Annals of Oncology* 2017 doi: 10.1093/annonc/mdx738. [Epub ahead of print]
3. Soh SX, **Ebi H.**, et al (29 人中 11 人目). A systematic review and meta-analysis of individual patient data on the impact of the BIM deletion polymorphism on treatment outcomes in epidermal growth factor receptor mutant lung cancer. *Oncotarget*. 8:41474-41486, 2017.

著書・総説

1. 衣斐寛倫 KRAS 遺伝子変異肺がんに対する分子標的治療 21:1-2, 2017
2. 衣斐寛倫 分子標的薬の併用 2) BRAF V600 変異を有する大腸がんに対する BRAF 阻害薬+EGFR 阻害薬併用療法 腫瘍内科 19:663-668,2017
3. 衣斐寛倫 カペシタビン, ドキシフルリジン 抗悪性腫瘍薬コンサルトブック (分担執筆) 南博信編集 p230-234 南光堂 改訂第2版 2017年
4. 衣斐寛倫, 矢野聖二 68 抗悪性腫瘍薬 (分子標的薬) Pocket Drugs 2017, 福井次矢監修 p497-516 医学書院

<学会発表>

1. 衣斐 寛倫, MAPK 変異腫瘍における分子標的治療薬耐性の解明と新規治療開発,

第 21 回日本がん分子標的治療学会学術集会 シンポジウム 2 分子標的治療薬および分子標的療法耐性の克服への挑戦 2017 年 6 月, 福岡

2. 衣斐寛倫, 岡本渉, 高吉琴絵, 廣中秀一, 本間義崇, 中西良太, 野村尚吾, 設楽紘平, 大津敦, 吉野孝之 SCRUN-JAPAN GI-SCREEN: Efficient Identification of Cancer Genome Alterations in Advanced Small Intestine Cancer 第 15 回日本臨床腫瘍学会学術集会 一般口演 3-5 2017 年 7 月 神戸
3. 衣斐寛倫 小谷浩, 足立雄太, 矢野聖二 BRAF 変異腫瘍におけるシグナル伝達系の違いを利用した新規治療戦略. 第 76 回日本癌学会学術総会 English Oral Session (E16-1) 2017 年 9 月 横浜

<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 20,000千円
2. 国際共同研究加速基金 日本学術振興会 研究代表者 衣斐寛倫
PI3KおよびERKパスウェイを標的としたKRAS変異腫瘍に対する新規治療開発
(国際共同研究強化) 11,000千円
3. 日本医療研究開発機構 革新的がん医療実用化研究事業 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 2,000千円
4. 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 1,100千円
5. 日本医療研究開発機構 「臨床研究口治験推進研究事業 研究分担者 衣斐寛倫
産業連携全国がんゲノムスクリーニング(SCRUM-Japan)患者レジストリを活用したBRAF遺伝子変異陽性切除不能進行・再発大腸がんを対象にした医師主導治験 500千円
6. 北國がん基金研究助成金 研究代表者 衣斐寛倫
フィードバック機構の抑制に基づくMAPK変異腫瘍に対する新規治療薬開発 1,000千円

<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 富田秀太
2. BRAF non-V600E 変異腫瘍に対する新規治療開発
国立がん研究センター東病院消化管内科 坂東英明, 吉野孝之
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
University of Michigan Medical School Yasuyuki Hososno, Arul Chinnaiyan

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 (Yr 1) Zachary YONG (Co-supervisor: Prof. Masanobu 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 considered the single greatest causal factor. We are interested in two aspects of gastric epithelial 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.

<2017 research achievement and future plan>

We have been studying the regulation and production of the cytokine IL23A in epithelial cells. In a previous study, we observed the induction of IL23A expression in gastric epithelial cells following infection with *Helicobacter pylori*, an important gastric pathogen and a major risk factor to human gastric cancer. This was enhanced by inflammatory signals associated with gastric carcinogenesis, including IL-1 α/β , TNF- α and NOD-1. Importantly, this cooperation is dependent on the tumor suppressor proteins RUNX3 and RUNX1. We have now extended our investigation to intestinal epithelial cells. In addition to being a closely related cell type, similar biological interplays between infection, inflammation and carcinogenesis are at work in the intestinal epithelium. Notably, a recent report describes a strong induction of *IL23A* following DSS-induced colitis in murine intestine. We are currently assessing the contribution of mitogenic and inflammatory signals on the regulation of *IL23A* and observed a strong crosstalk between MAPK and NF- κ B pathways. This is significant because 1) inflammatory signals are important for the regeneration of intestinal epithelium after injury; 2) aberrant activation of MAPK due to *Kras* and *BRAF* mutation is frequently observed in human intestinal cancers. Therefore, IL23A could be a key mediator between inflammation and regeneration, and its mis-regulation by oncogenic MAPK could have an immunomodulatory effect during

intestinal carcinogenesis. In the coming year, we aim to complete our *in vitro* investigations in cancer cell lines and further our study using *in vivo* approaches.

【 Achievements 】

<Publications (Book Chapter)>

1. **Voon DC** and Thiery JP. (2017) *The Emerging Roles of RUNX Transcription Factors in Epithelial-Mesenchymal Transition*. Adv Exp Med Biol. **962**:471-489.

<Publications (Review)>

1. **Voon DC**, Huang RY, Jackson RA, Thiery JP. (2017) *The EMT spectrum and therapeutic opportunities*. Mol Oncol. **11**(7):878-891.

<Publications (Collaboration)>

1. Kotani H, Adachi Y, Kitai H, Tomida S, Bando H, Faber AC, Yoshino T, **Voon DC**, Yano S, Ebi H. (2018) *Distinct dependencies on receptor tyrosine kinases in the regulation of MAPK signaling between BRAF V600E and non-V600E mutant lung cancers*. Oncogene, **37**(13):1775-1787.

2. Krishnan V, Chong YL, Tan TZ, Kulkarni MD, Bin Rahmat MB, Tay LS, Jokhun DS, Ganesan A, Chuang LSH, **Voon DC**, Gv S, Thiery JP, Ito Y. (2017) *TGF- β promotes genomic instability after loss of RUNX*. Cancer Res., **78**(1):88-102.

3. Nakayama M, Sakai E, Echizen K, Yamada Y, Oshima H, Han TS, Ohki R, Fujii S, Ochiai A, Robine S, **Voon DC**, Tanaka T, Taketo MM and Oshima M. (2017) *Intestinal cancer progression by mutant p53 through the acquisition of invasiveness associated with complex glandular formation*. Oncogene, **36**(42):5885-5896.

4. Selvarajan V, Osato M, Nah GS, Yan J, Tae-Hoon C, **Voon DC**, Ito Y, Ham MF, Salto-Tellez M, Shimizu N, Choo SN, Fan S, Chng WJ, Ng SB. (2017) *RUNX3 is oncogenic in natural killer/T-cell lymphoma and is transcriptionally regulated by MYC*. Leukemia, **31**:2219-2227.

<Symposiums >

1. **Voon DC**. *Exploring the mechanisms underlying EMT-induced cellular plasticity and tumorigenicity*. 11th International Symposium of the Institute Network. 25-26th Jan 2017.

Tokushima, **Japan**.

<2017 research funds >

1. 新学術創成研究機構 異分野融合研究推進費 [研究代表者 : Dominic Voon]
「Computer modeling of cancer stem cell models」 1,000 千円
2. 新学術創成研究機構 異分野融合研究推進費 [研究代表者 : Dominic Voon]
「The role of Nuclear Pore Complex in epigenetic regulation of cellular plasticity」 1,000 千円

<Collaborations >

(Overseas)

Yoshiaki Ito (Cancer Science Institute of Singapore)

「*Characterization of epithelial IL23A Complex*」

<Others Contribution >

2016-2017 The Curiosity Seminar Series, KU-CRI.

Organizer

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、Ca²⁺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. 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
3. Wnt/ β -cateninシグナルとミトコンドリア融合因子の関連
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>

1. Noguchi M, **Kasahara A**. Mitochondrial dynamics coordinate cell differentiation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017 Jun 17. pii: S0006-291X (17)31225-1. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.06.094.
2. 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 surface glycan expression and sensitivity to killer lymphocytes in glioma stem-like cells. *EMBO J*. 2017 36:1493-1512. *Contributed equally to this work

<学会発表>

1. “Mitochondrial dynamics in gefitinib-resistant lung adenocarcinoma cells”
Noguchi N., Kohno S., Takahashi C., Gotoh N., Kohno T., Hirao A., Scorrano L.,

- Kasahara A. Padua-Mit-Innsbruck “Mitochondrial Conference” 12-14 Sep 2017, Padua, Italy, Poster presentation
2. “*Mitochondrial dynamics in gefitinib-resistant lung adenocarcinoma cells*”
Kasahara A., Noguchi M., Kohno S., Takahashi C., Gotoh N., Kohno T., Scorrano L., Hirao A. EMBO-FEBS Lecture Course “Mitochondria in life, death and disease”, 9-13 Oct 2017, Brindisi, Italy, Poster presentation
 3. “Mitochondrial dynamics in tumour malignancies: retrograde control from mitochondria” Kasahara A. International workshop on mitochondrial dynamics, 14 Dec 2017, Osaka Japan, Invited talk presentation

<外部資金>

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）若手研究（B）
「がん悪性化におけるミトコンドリア逆行性制御の解明」
1,700千円 2年間

<共同研究>

学内

高橋智聡，河野晋，後藤典子

「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】

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している。同時に、学内および海外との共同研究として、カスパーゼ-1 依存的細胞死の機序と役割の解明および細菌感染に対する宿主免疫応答の機序解明を行っている。今年度は共同研究に注力し、カスパーゼ-1 のアポトーシス誘導活性を新たに発見し、その分子機序を詳細に解明した。また、カスパーゼ-1 依存的細胞死がリステリア感染の化学療法モデルにおいて治療効果を促進することを見出した。さらに、肺炎球菌の病原因子がカルパインを介して宿主のインターロイキン-1 α 産生応答を惹起することを明らかにし、それが感染臓器での病態形成に寄与する可能性を指摘した。今後の共同研究の展開として、カスパーゼ-1 依存的アポトーシスの生理的・病理的役割を探索する予定である。また、本プロジェクトのテーマである免疫チェックポイント阻害療法への耐性機序の探索も引き続き進めていく予定である。

【研究業績】

<発表論文・著書>

1. Fang R, Wu R, Du H, Jin M, Liu Y, Lei G, Jiang B, Lei Z, Peng Y, Nie K, Tsuchiya K. Pneumolysin-Dependent Calpain Activation and Interleukin-1 α Secretion in Macrophages Infected with *Streptococcus pneumoniae*. *Infect. Immun.* **85**: e00201-17. (2017)

<学会発表>

土屋晃介（筆頭演者）“Caspase-1 serves as an apoptosis-initiating caspase in the absence of Gasdermin D (GSDMD)” 第46回日本免疫学会学術集会準備室, 2017年12月12日, 仙台市

土屋晃介（筆頭演者）“シンポジウム「がん・免疫 -研究と臨床の最前線-」
Caspase-1 依存的細胞死の分子機序と生理的役割, 日本薬学会・北陸支部第 129
回例会, 2017 年 11 月 26 日, 金沢市

土屋晃介（筆頭演者）“Caspase-1 serves as an apoptosis-initiating caspase in the
absence of Gasdermin D (GSDMD)” Cytokines 2017, 2017 年 10 月 31 日, 金沢市

土屋晃介（筆頭演者）Pyroptosis はアンピシリンによるリステリア感染治療を促
進する. 第 26 回日本 Cell Death 学会学術集会, 2017 年 7 月 24 日, 東京都大田区

<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」

<外部資金>

平成 29 年度
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」 延長分

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 】

(1) 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。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。そこで本研究では、大腸がんにおけるドライバー候補遺伝子に関し、がん化能を実験的に検証することで新規ドライバー遺伝子の同定に結びつけることを目的とした。本年は、マウス腸上皮オルガノイドと CRISPR-Cas9 システムを用いて、大腸がん抑制候補遺伝子のがん化能検証を行う実験系を確立した。この実験系を用いて新規大腸がん抑制遺伝子を 3 つ同定した。今後は、これら 3 つの遺伝子のがん化における機能解析を進める。

(2) がん組織の遺伝学的不均一性は、腫瘍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。しかし、多様なサブクローンを作り出し、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。Sleeping Beauty (SB) トランスポゾンを用いた挿入変異誘発法を用いると、多様な遺伝子変異を有する遺伝学的に不均一な細胞集団を人為的に作り出し、マウス生体内で競合させることで腫瘍形成に寄与した遺伝子の同定が可能となる。

本研究では、SB 挿入変異誘発法により遺伝学的に不均一な細胞集団を作成することで、ドライバー遺伝子プロファイルが転移の際にどのように変化するかを明らかにすることを目的とした。本年は、SB 挿入変異誘発システムが導入されたマウスの腸オルガノイドを作成し、増殖因子非依存的に増殖できるオルガノイドへと不死化させた。今後は、この細胞を用い大腸がん転移モデルを作成する。

<発表論文>

1. Sarah P. Short, Jumpei Kondo, Whitney G. Smalley-Freed, **Haruna Takeda**, Michael R. Dohn, Anne E. Powell, Robert H. Carnahan, Mary K. Washington, Manish Tripathi, D. Michael Payne, Nancy A. Jenkins, Neal G. Copeland, Robert J. Coffey and Albert B. Reynolds P120-Catenin is an obligate haploinsufficient tumor suppressor in intestinal neoplasia. *J Clin Invest.*, Epub ahead of print (2017)
2. **Haruna Takeda** and Etsuko Kiyokawa. “Activation of Erk in ileal epithelial cells engaged in ischemic-injury repair” *Sci. Rep.* Epub ahead of print (2017)

<学会発表>

1. 武田はるな 「マウスモデルを用いた消化器がん和脳腫瘍の悪性化に関わる遺伝子の同定と機能評価」2018年3月9日 ジャパン・キャンサーリサーチ・プロジェクト 平成29年企業向け成果発表会
2. 武田はるな 「マウスモデルを用いた大腸がんドライバー遺伝子の同定と機能評価」 共同利用・共同研究拠点シンポジウム 10月26日 石川県金沢市
3. Haruna Takeda, “Identification of driver genes promoting colorectal tumorigenesis” Japan cancer association meeting (Yokohama, Japan), 28-30 Sep, 2017 Oral presentation
4. Haruna Takeda, “Sleeping Beauty transposon mutagenesis identifies genes involved in colorectal tumor progression” Tumor microenvironment and precision oncology (Seoul, Korea), 22&23 May 2017 Invited Speaker
5. Haruna Takeda, “Identification of colorectal cancer driver genes” XVIth KICancer & StratCan Retreat (Djurönäset, Sweden), 25&26 Sep 2017 Poser presentation
6. Haruna Takeda, “Sleeping Beauty transposon identifies genes involved in colon cancer development”, Alberta-Japan AMED workshop for medical innovation (Alberta, Canada), 24-25 Feb, 2017 Poster presentation

<外部資金>

1. 武田はるな ; 卓越研究員事業 H29年度
2. 文部科学省科学研究費補助金 基盤研究(B) 「大腸がんの形成及び治療薬抵抗性獲得に関わるドライバー遺伝子の同定」代表 武田はるな 平成29-32年度 17,550千円 (平成29年度 1,950千円)
3. 内藤記念次世代育成支援研究助成金 「マウスモデルを用いた消化器がん形成に関わる遺伝子の機能評価」 代表 武田はるな 平成28-30年度 6,000千円 (平成29年度 2,000千円)
4. MSD 生命科学財団 「大腸がんの転移に関与する遺伝子の同定」 代表 武

- 田はるな 平成 29-30 年度 3,000 千円 (平成 29 年度 1,500 千円)
5. 日本医療研究開発機構研究費 次世代がん医療創生研究事業「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評価機能」
代表 武田はるな 平成 28-29 年度 13,500 千円 (平成 29 年度 6,500 千円)
6. 武田科学振興財団 「トランスポゾン挿入変異誘発を用いた薬剤抵抗性獲得に関与する遺伝子の同定」 代表 武田はるな 平成 29 年度 2,000 千円

基礎統計

決算額（運営費交付金）

（単位：千円）

区 分		平成 25 年度	平成 26 年度	平成 27 年度	平成 28 年度	平成 29 年度
運営費交付金		567,178	589,380	603,234	584,800	539,525
内 訳	人件費	382,253	464,514	433,247	451,496	404,750
	物件費等	184,925	124,866	169,987	133,304	134,775

科学研究費補助金（間接経費を含む）

（単位：千円）

研究種目	平成 25 年度		平成 26 年度		平成 27 年度		平成 28 年度		平成 29 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	4	41,600	5	87,710	3	33,670	4	34,450	5	35,100
基盤研究（A）	1	15,210	1	14,560	2	23,140	2	20,800	3	36,270
基盤研究（B）	4	35,620	5	28,560	3	19,110	4	22,620	5	21,450
基盤研究（C）	15	25,805	13	21,450	12	20,410	12	19,370	13	21,060
挑戦的萌芽研究	4	5,590	6	11,650	6	12,090	3	4,810	1	910
挑戦的研究（萌芽）									4	13,650
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）	7	15,210	8	15,080	8	15,340	12	24,959	10	18,590
研究活動スタート支援	0	0	2	2,860	3	4,290	2	2,730	2	2,730
特別研究員奨励費	0	0	0	0	0	0	1	1,170	3	2,940
国際共同研究加速基金	0	0	0	0	1	14,300	0	0	0	0
最先端・次世代研究開発支援プログラム	2	75,390	0	0	0	0	0	0	0	0
合 計	37	214,425	40	181,870	38	142,350	40	130,909	46	152,700

外部資金（間接経費を含む）

（単位：千円）

研究種目	平成 25 年度		平成 26 年度		平成 27 年度		平成 28 年度		平成 29 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	9	155,459	10	181,827	10	367,280	11	355,400	10	408,031
受託事業経費	0	0	2	2,965	1	2,500	1	2,600	1	2,400
補助金	2	14,500	2	22,240	1	19,070	1	9,000	1	9,000
民間等との共同研究	5	24,650	12	36,256	8	10,240	2	4,360	2	17,000
寄附金	23	32,635	14	18,774	18	17,752	29	36,753	28	29,080
合 計	39	227,244	40	262,062	38	416,842	44	408,113	42	465,511

土地・建物

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

教育活動

大学院生・研究生数

平成30年5月1日現在

			先進がん モデル 共同研究 センター	がん幹細胞 研究 プログラム	がん微小 環境研究 プログラム	がん分子 標的探索 プログラム	がん分子標的 医療開発 プログラム	合計 (人)	
大学院生	医薬保健学総合研究科	修士課程	I	1				27	
			II						
		博士課程	I				1		
			II	3	2		2		
			III	1	3	2	2		
			IV		4	2	3		
	医学系研究科	博士課程	I						
			II						
			III						
			IV				1		
	先進予防医学研究科	博士課程	I						1
			II			1			
			III						
			IV						
	自然科学研究科	前期課程	I						1
II									
後期課程		I							
		II				1			
		III							
		IV							
研究生（特別研究学生含む）				1		2	1	4	

※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30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）
	ナレーズワン大学	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. 金沢大学がん進展制御研究所50周年記念国際シンポジウム

Cancer Research Institute, Kanazawa University The 50th Anniversary International Symposium

目的：金催創立50周年を記念して、世界でもトップレベルにある研究者をシンポジストとして迎え開催。

日時：平成29年10月25日(水)
13:00~15:50

場所：金沢東急ホテル

来場者数：221名

プログラム：

①セッション1：

「Lgr5⁺ stem cells in epithelial homeostasis, regeneration and cancer」

Nick Barker(金沢大学がん進展制御研究所
リサーチプロフェッサー・シン
ガポールA*STAR Institute of
Medical Biology)

「Epigenetic silencing of RNF144A promotes breast cancer progression by enhancing the

stability of HSPA2 protein」

Da-Qiang Li (中国復旦大学)

②セッション2：

「Lessons learned in translating preclinical studies in TGF- β kinase inhibitor drug development: Rationale for combinatorial therapy regimens」

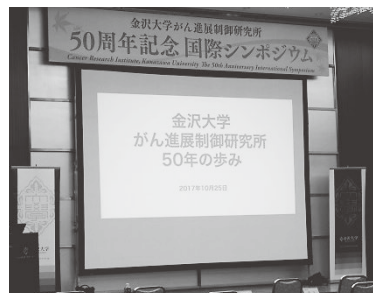
Seong-Jin Kim (韓国ソウル国立大学)

「Exploiting Wnt secretion pathways for therapeutic benefit」

David Virshup (シンガポール Duke-NUS
Medical School)

「Mechanism and circumvention of targeted drug resistance in central nervous system metastasis」

矢野 聖二 (金沢大学がん進展制御研究所)



2. 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29年度は国内の共同研究採択者全員（採択総数56件）が一堂に集い、口頭またはポスターにより成果を発表。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10月26日(木)
8:00~12:30

場 所：金沢東急ホテル

来場者数：96名

プログラム：

①共同研究採択者によるポスター発表

②セッション1：

「上皮形態形成における活性化Srcの時空間的制御」

梶原健太郎（大阪大学微生物病研究所）

「ケモカイン受容体XCR1発現樹状細胞のがん

免疫応答における役割」

邊見 弘明（和歌山県立医科大学先端医学研究所）

「乳がん幹細胞の潜在転移に伴う独自の幹細胞性制御機構の獲得」

下野 洋平（神戸大学大学院医学研究科）

③セッション2：

「大腸の発がんと進展における「進化のシフト」について」

三森 功士（九州大学病院別府病院）

「ニュートリオミクスから迫るがんの病態解明と治療戦略」

大澤 毅（東京大学先端科学技術研究センター）

「マウスモデルを用いた大腸がんドライバー遺伝子の同定と機能評価」

武田はるな（金沢大学がん進展制御研究所）

