平成29年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究成果報告書

2018.4

金沢大学がん進展制御研究所

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

	研究課題	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
研究代表者	所属・職名・氏名	九州工業大学情報工学研究院・教授・青木 俊介
	所属・職名・氏名	
研究分担者	所属・職名・氏名	
(適宜、行を追加して	所属・職名・氏名	
ください。)	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・松本邦夫
【研 究 目 的】 【研究内容·成果】	目指した。 in silico スクリーグ相互作用の予測法等を駆使 互作用部位、 HGF α 鎖とβ 銀 低分子化合物を探索するため 物立体構造ライブラリからし 複数種類同定することを目的 びに有機合成展開も視野に入 本研究の標的タンパク質の1	つである HGF の立体構造に着目し in silico スクリーニング手
(図表・説明図等を入れていただいても結構です。)	法官 Met HGF の Met Net Net Net Net Net Net Net Net Net N	展異的相互作用を選択的に阻害し、HGF による Met のリン酸化を阻定複数同定していた。そこで,さらに高い生理活性を有する化合 HGF α 鎖と β 鎖の化合物結合ポケット部位の選択と計算の初期設 NK1 部分と β 鎖の結晶構造 (PDB コード; 5CT10 と 4K3J) とを用い目しつつ剛体ドッキングとフレキシブルドッキングからなる複数 コス、さらに全方位結合シミュレーションを導入した新規のス約 15 万化合物ライブラリの中から,これら結合シミュレーシを利用したクラスタリング手法によるスクリーニングを多段階的は,化合物の 3 分子間の結合シミュレーションも行ない化合物にも確認した。最終的に候補化合物を α 鎖と β 鎖のスクリーニング入手した。これらの候補化合物に関して HGF に対する阻害活性のっていただいた。細胞ベースの Met 受容体リン酸化 ELISA アッセーニングからは IC50 値が 100 μ M 前後でのスクリーニングからは IC50 値が 100 μ M 前後でのスクリーニングがらは IC50 値が 100 μ M 前後でのスクリーニングがらは IC50 値が 100 μ M 前後でのスクリーニングがらな でありとなるの構造を有する化合物であった。この 2 種の化る共通母核構造を有するとが可能にない構造を有するとが可能にない構造を有するとが可能にない構造を用いることが可能にないの構造を用いることが可能にないの構造を用いることが可能にないの構造を用いることが可能にないの構造を用いることが可能にないの構造を用いることが可能にないの構造を用いることが可能にないの構造を用いることが可能にないの構造を用いることが可能にないの構造を用いることが可能にないの構造を用いることが可能にないの構造を用いることが可能にないの構造を用いることが可能にないの構造を用いることが可能にないの構造を用いることが表していたのは、HGF β 鎖構造と新規同定は展開も視野に入れた化合物設計
【成 果 等】	by in silico structure-bas Baba H, Maruoka T, Komatsu 2017;70:1057-1064 (2) In silico structure-bas by DOCK-GOLD tandem screet S, Maruoka T, Komatsu H, S (3)2,3-Butandione 2-monoxi	el class of small compounds with anti-tuberculosis activity sed drug screening. Taira J, Morita K, Kawashima S, Umei T, H, Sakamoto H, Sacchettini JC, <u>Aoki S</u> . J Antibiot (Tokyo). sed drug screening of novel antimycobacterial pharmacophores ning. Taira J, Ito T, Nakatani H, Umei T, Baba H, Kawashima sakamoto H, <u>Aoki S</u> . Int J Mycobacteriol. 2017; 6: 142-148. seme inhibits skeletal myosin II by accelerating ATP cleavage. T, <u>Aoki S</u> , Kodama T. Biochem Biophys Res Commun. 2017 Aug

(4) Tetrahydro-2-furanyl-2,4(1H,3H)-pyrimidinedione derivatives as novel antibacterial compounds against Mycobacterium. Koseki Y, Kanetaka H, Tsunosaki J, Munier-Lehmann H, <u>Aoki S</u>. Int J Mycobacteriol. 2017;6:61-69.

【学会発表】

(1) <u>青木俊介</u>、馬場弘樹、安恒英、酒井克也、松本邦夫、増殖因子受容体をターゲットとした 抗癌剤候補化合物の探索、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、2017 年 10 月 26 日、金沢市

【その他特筆事項】

(1) HGF (Hepatocyte Growth Factor).

Sato H, $\underline{Aoki\ S}$, Kato T, Matsumoto K.

Encyclopedia of Signaling Molecules, Second Edition, Springer, p2352-2364, 2017.

	研究課題	がん特有の代謝特性を利用した新規抗がん標的探索システム の構築と抗がん剤開発
研究代表者	所属・職名・氏名	大阪大学・博士研究員・浅井歩
	所属・職名・氏名	大阪大学・特任教授・石井秀始
研究分担者	所属・職名・氏名	大阪大学・寄附講座講師・今野雅允
(適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名	
\ /cav.;)	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・後藤典子
	胞は高増殖能・高転移能を7 解析とコンピュータによる 代謝における創薬標的の同気	
研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	解析とコンピュータによる in silico シミュレーションを組み合わせることで、One car 代謝における創薬標的の同定とその標的を阻害する抗がん剤の開発を試みた。	

【成 果 等】

【主な論文発表】

Asai A, Koseki J, Konno M, Kawamoto K, Gotoh N, Satoh T, Doki Y, Mori M, Ishii H.Drug Discovery of Antitumor Agents Targeting Methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 2 (MTHFD2).(submitted).

図2 候補化合物上位50例の MTHFD2への結合様式

【学会発表】

- ●One Carbon 代謝を標的とするがん幹細胞創薬の加速化:第5回がんと代謝研究会.
- がん細胞の転移に関与する One Carbon 代謝を標的とする創薬の新しい展開:第26回がん 転移学会.
- One Carbon 代謝を標的とする新規抗がん剤創薬:第76回日本癌学会学術総会.

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

	平成 29 年度 金沢大字が	6. 人進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	Rb が制御するニューロン代謝経路の解析
研究代表者	所属・職名・氏名	東京医科歯科大学・准教授・味岡逸樹
	所属・職名・氏名	
研究分担者	所属・職名・氏名	
(適宜、行を追加して	所属・職名・氏名	
ください。)	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・高橋智聡
【研究目的】	い、G1-S 期移行のブレーキ。 る Rb のリン酸化で解除され 同様に解除される。これらの その後、細胞分裂する場合 (context-specific) である	ミリー遺伝子(p107, p130)は細胞周期制御の中心的な役割を担として主に機能する。そのブレーキは、細胞外増殖シグナルによるが、逆遺伝学の手法で Rb ファミリーを急性的に欠損させても方法でブレーキ解除された細胞は細胞周期を S 期まで進めるが、方と細胞死を起こす場合があり、その運命は「文脈特異的」。本研究では、Rb ファミリーを欠損し、S 期を通過した後に増せるすニューロンで作動している代謝経路と、その役割を明ら得ることを目的とする。
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	昨年度までの研究により、細胞 S 期に進行した幼若ニューロ明らかとなった。そこで本年には、Rb-TKO (Rb Lox/Lox;ューロン特異的に Cre を発明する pCAG-Cre プラスミドをこれまでの研究により、MA CAG-Rb-TKO 細胞では Chk1 がで、MAP2-Rb-TKO 細胞でののので、MAP2-Rb-TKO 細胞でのののので、MAP2-Rb-TKO 細胞でのののので、MAP2-Rb-TKO 細胞でのののではで、MAP2-Rb-TKO 細胞でのののでは、MAP2-Rb-TKO 細胞でのののでは、MAP2-Rb-TKO 細胞でのののでは、MAP2-Rb-TKO 細胞でのののでは、MAP2-Rb-TKO 細胞でののでは、MAP2-Rb-TKO は、以上の結果を介した Chk1 活性抑制が重要を介した Chk1 活性抑制が重要ができない。また、Dnmt にしたい。また、Dnmt にしたい。また、Dnmt にしたい。また、Dnmt には、MAPAでは、	や周期のチェックポイントに関わるタンパク質 Chk1 の活性化が、コンの細胞分裂の実行及び細胞死の抑制に必要十分であることが達度は、Chk1 の活性化を制御する因子の解明を目指した。具体的p107 -/-; p130 Lox/Lox) マウス胎生 14 日目の大脳組織に、ニューカー・カー・カー・カー・カー・カー・カー・カー・カー・カー・カー・カー・カー・
【成 果 等】	Recovery after Neonata 2) Oshikawa M, et al., Dnm neuron division. Devel 3) Oshikawa M, et al., A Enhances Angiogenesis Jun;6(11).00183. 【学会発表】 1) 味岡逸樹「人工足場創學 2018.3.21 横浜	al Glial Fibers Promote Neuronal Migration and Functional l Brain Injury. Cell Stem Cell. 2018 Jan 4;22(1):128-137. t1-dependent Chk1 pathway suppression is protective against opment. 2017 Sep 15;144(18):3303-3314. If finity-Immobilization of VEGF on Laminin Porous Sponge in the Ischemic Brain. Adv Healthc Mater. 2017 関係による in vivo 脳組織工学」第 17 回日本再生医療学会総会 構造変換するタンパク質を用いる脳再生デバイスの創製」第 7 17.10.18 船堀

	平成 29 年度 金沢大学が	ぶん進展制御研究所 共同研究報告書	
	研究課題	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-κB の役割解明	
研究代表者	所属・職名・氏名	東京大学・教授・井上純一郎	
研究分担者 (適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名		
	所属・職名・氏名		
受入担当教員	職名・氏名	教授・後藤典子	
【研究目的】	乳癌は遺伝子発現パターンや治療標的分子が異なるサブタイプに分類されることが知られている。研究代表者はこれまでに乳癌細胞株を用いて難治性の Basal-like サブタイプ乳癌特異的に NF-κB-JAG1-NOTCH 経路ががん幹細胞の維持に関与していることを見出している。本研究では、この経路によるがん幹細胞の制御の臨床検体に由来する乳癌細胞における意義をサブタイプ特異性に着目して解析を行う。		
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	側に存在する Basal 上皮細胞 ウスの解析から管腔の内側に発生することが明らかとなった BRCA1 欠損を Basal-like 乳癌とよく 人名 で Basal-like 乳癌とよく なる で S・TAg マウスを 用いている で S・TAg マウスを 用いている で S・TAg マウスを 見出した アカな はこの で S・TAg マウスを はこの で S・TAg マウスを はこの で S・TAg マウスを はこの で S・TAg マロ が は で で で で で で で で で で で で で で で で で で	l-like 乳癌は正常乳腺の 2 層の管腔を形成する上皮細胞のうちを胞と似た性質を持つことが知られているが、近年の乳癌モデルで位置する Luminal 上皮細胞の比較的未分化な前駆細胞画分からてきた。p53 欠損マウスや T 抗原を乳腺特異的に発現するモラウスなどの乳癌がこの Luminal 前駆細胞を起源としてヒト質を示すことが知られているが、これらのマウスモデルではゲノスな遺伝子異常が起こることが知られており、原因因子や新規管理常シグナル伝達の特定には至っていない。中川いた研究を補完するため Basal-like 乳癌モデルマウスであるを行っており、Luminal 前駆細胞で強い SV40T 抗原発現が誘導このマウスではラットの C3 ペプチドプロモーター下で SV40プラによる p53 や Rb の不活化によるゲノム不安定化に誘導されるドライバーとなることが示唆される。ウスを用い、乳管内へレンチウイルスを導入することで Basal-like た。 CRISPR/Cas9 と gRNA を導入し、gRNA の配列特異的ないで引き起こして発癌を誘導することを目標とし、標的の癌抑制ので引き起こして発癌を誘導することを目標とし、標的の癌抑制ので引き起こして発癌を誘導することを目標とし、標的の癌抑制ので引き起こして発癌を誘導することを目標とし、標的の癌抑制ので引き起こして発癌を誘導することを目標とし、標的の癌抑制ので引き起こして発癌を誘導することを目標とし、標的の癌抑制ので引き起こして発癌を誘導することを目標とし、標的の癌抑制ので引き起こして発癌を誘導することを目標とし、標的の癌抑制ので引き起こして発癌を誘導することを目標とし、標的の癌抑制ので引き起こして発癌を誘導することを目標とし、原的の癌抑制ので引き起こして発癌を誘導することを関係している。	
【成 果 等】	Takahashi, H., Sawasaki, T. Iwai, K. and Inoue, J. HTLV Complex by Generating Ly Pathogens 13(1):e1006162 Yamamoto, M., Sakane, K. Goshima, N., Semba, K. ar epithelial and mesenchym 1210-1222 (2017). doi: 10.11 【学会発表】	Goto, E., Komatsu, G., Gohda, J., Saeki, Y., Tanaka, K., T., Inoue, S., Oshiumi, H., Seya, T., Nakano, H., Tanaka, Y., 7-1 Tax Induces Formation of the Active Macromolecular IKK ys63- and Met1-Linked Hybrid Polyubiquitin Chains. <i>PLos</i> (2017). doi: 10.1371/journal.ppat.1006162. "Tominaga, K., Gotoh, N., Niwa, T., Kikuchi, Y., Tada, K., and Inoue, J.* Intratumoral bidirectional transitions between al cells in triple-negative breast cancer. <i>Cancer Sci.</i> 108.11/cas.13246. tratumoral bidirectional transitions between epithelial and enegative breast cancer. 第 76 回日本癌学会学術総会、2017年 9	

平成29年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

	平成 29 年度 金沢大学が	ん進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	肝がん細胞を用いた低酸素選択的抗転移剤の開発
研究代表者	所属・職名・氏名	徳島大学・教授・宇都義浩
	所属・職名・氏名	徳島大学・講師・山田久嗣
研究分担者	所属・職名・氏名	徳島大学・講師・淺田元子
(適宜、行を追加して	所属・職名・氏名	徳島大学・D3・芝 一休
ください。)	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・松本邦夫,准教授・遠藤良夫,准教授・滝野隆久
【研究目的】 【研究内容·成果】	MMP9 産生の抑制を介して抗転 リード分子として新たに分子 することを示した。そこで本年 read) に共通する骨格である: キサリンをリードとする抗転	
【	平成29年度は、AKT 阻害剤(AKT1/2 inhibitor, MK-2206, AKT1/2 inhibitor read)に共通する骨格である2,3-ジフェニルキノキサリンが抗転移剤として有用であるかの評価を行った(下図)。 のフェニレンジアミン及びベンジルを出発原料として,3-ジフェニルキノキサリンを合成し、最後に酸化反応を行い2,3-ジフェニルキノキサリン・1,4-ジオキシドを得た。2,3-ジフェニルキノキサリンは種々のがん細胞に対して有意な細胞増殖阻害活性を示したが、2,3-ジフェニルキノキサリンは種々のがん細胞に対して有意な細胞増殖阻害活性を示したが、2,3-ジフェニルキノキサリンー1,4-ジオキシドは有意な活性を示さなかった。次いで、両化合物の MMP9 産生抑制効果を評価した所 2,3-ジフェニルキノキサリンは濃度依存的に MMP9 産生を抑制したが、2,3-ジフェニルキノキサリンにのいて発育鶏卵を用いた in vivo 抗転移活性を評価したが溶解性が低く有意な活性を示さなかった。 最後に、2,3-ジフェニルキノキサリンについて発育鶏卵を用いた in vivo 抗転移活性を評価したが溶解性が低く有意な活性を評さなかった。 最後に、2,3-ジフェニルキノキサリンについて発育鶏卵を用いた in vivo 抗転移活性を評価したが溶解性が低く有意な活性を評さなかった。そこで、細胞内で還元されているかを評価した所、細胞内において還元を受けていないことが示された。以上の結果より、2,3-ジフェニルキノキサリンは抗転移剤として有用であるが抗転移活性を示すには細胞内において一電子還元を受ける必要があるため、フェニル基の一部を変えた化合物を新たに設計し合成を行った(下図)。まず、Benzoylformic acid 及び のphenylendiamine を出発原料とし、3-phenylquinoxaline 2(Iか-one を合成した。次に、過酸化水素を用いて酸化させることで2-chloro-3-phenylquinoxaline を合成した。次に、過酸化水素を用いて酸化させることで2-chloro-3-phenylquinoxaline 1,4-dioxide を合成した。最後に、チオフェノール、アニリン及びメチルアミンを用いて非酸化体及び酸化体の化合物 1-7 を合成した。まず、酸化体の低酸素細胞毒性を評価した。その結果化合物 2 及び 3 が低酸素選択性は低いが常酸素と比較して低酸素で有意な毒性を示した。最後に、各化合物の AKT 阻害活性を評価したところ、化合物 2 及び 3 が有意に AKT2 タンパク質発現及び AKT のリン酸化を有意に阻害した。結論として、AKT 阻害活性を有する低酸素サイトトキシンの合成に成功した。	
【成果等】	S, <u>Uto Y</u> , Design and Synt	各化合物の化学構造 da H, <u>Endo Y</u> , <u>Takino T</u> , <u>Sato H</u> , Kitazato K, Kageji T, Nagahiro hesis of Novel Anti-metastatic Hypoxic Cytotoxin TX-2137 cancer Research. 37(7), 3877-3883, 2017.
		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 年度 金沢大学が	らいます。 「ん進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	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
研究代表者	所属・職名・氏名	金沢大学・助教・遠藤 一平
	所属・職名・氏名	金沢大学・大学院生・上野 春菜
研究分担者	所属・職名・氏名	金沢大学・教授・吉崎 智一
(適宜、行を追加してください。)	所属・職名・氏名	
\/\cev\\;\	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・後藤 典子
【研究目的】	xenograft (CDX) モデルを用い 験などの研究が広く行われて れており実際の頭頸部癌患者 このような欠点を克服しうる した Patient-derived xenog	対立された細胞株 (Cell line)を移植した Cell line-derived で、新規バイオマーカー探索や新薬開発における薬剤感受性試きた。しかし頭頸部癌 CDX モデルは癌の heterogeneity が失わての臨床モデルとしては不完全であるという欠点を抱えていた。ロモデルとして実際の癌患者の腫瘍組織を免疫不全マウスに移植てaft (PDX) モデルを用いた研究が近年国内外で行われるようにない癌 PDX モデルの preclinical model としての有用性を検証する
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	①対象と方法 2015 年 12 月~2017 年 9 月に本研究参加同意のえられた 25 名の頭頸部がん患者の腫瘍組織を NOD-SCID マウスへ移植した。移植した腫瘍が 1000mm3 程度に増大えられた場合、犠牲死の上腫瘍を摘出した。摘出腫瘍は HE 染色像で組織型・分化度について患者腫瘍との相同性を確認できた場合、「生着」とした。摘出腫瘍は、5 代目まで別のマウスへ継代した。患者腫瘍と PDX の組織型・分化度について HE 染色で評価した。また患者腫瘍と PDX の EGFR・p53 発現について免疫組織学的に評価した。 ②結果 1) 生着率について 全症例で 5/25(20%)、手術症例で 5/18(28%)、生着症例で 0/7(0%)であった。	

2) 手術症例患者背景について

生着症例は下咽頭癌 2 例、舌癌 1 例、喉頭癌 1 例、副鼻腔癌 1 例の 5 例であった。手術検体 断端陽性、術後 CCRT が実施された症例に有意に生着がえられた(P<0.05)。平均年齢、性別、 喫煙習慣、検体の部位(原発 or 転移リンパ節)、組織型(SCCorSCC 以外)、TNM、ステージでは 患者背景と生着の有無に有意差を認めなかった。

3) HE 染色像

患者腫瘍と PDX において 5 例全例で組織型・分化度が一致した。

4) IHC 像 (EGFR·p53 発現)

患者腫瘍と PDX において 5 例全例で EGFR 発現が相似し、4 例で p53 発現が相似した。舌癌 PDX において患者腫瘍と比較して p53 発現の増強を認めた。

③考察

頭頸部癌 PDX の生着率は nude mouse で 17% (Peng et al. 2013) 54% (Keysar et al. 2013)、NSG mouse で 45% (Klinghammer et al. 2015) 85% (Kimple et al. 2013) と報告によりばらつきはあるが、諸家の報告と比較して当科のおける頭頸部癌の NOD-SCID マウスへの生着率は低いといえる。移植手技の見直しや NSG mouse への変更について今後検討したい。当科の頭頸部癌 PDX は手術検体断端陽性で術後 CCRT が実施された症例で有意に生着した。生着例で無病生存率と全生存率が低い(Stewart et al. 2013)、転移のリスクが高い(Garrido-Laguna et al. 2011)という報告があり、より悪性度の高い腫瘍で生着率が高いと考えられる。

④今後の展望

実際の患者と PDX モデルのシスプラチンの奏功性の相関について検討し、頭頸部癌 PDX の臨床モデルとしての有用性を検証する予定である。また抗癌剤等の薬剤を細胞の中から外へ排出する膜タンパクである ABC-transporter 発現 PDX モデルを作成して、抗癌剤投与によるタンパク発現変化や薬剤耐性への影響を評価する。

【成 果 等】	【主な論文発表】
	執筆中
	【学会発表】
	当科における頭頸部癌 PDX モデル 5 例の検討
	(2018/2/22~24 第 36 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会)
	【その他特筆事項】

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

	,,,,,	*心些展制御研先別 共同研先報言書 T
	研究課題	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
研究代表者	所属・職名・氏名	国立がん研究センター研究所・基礎腫瘍学ユニット 独立ユニット長・大木理恵子
	所属・職名・氏名	国立がん研究センター研究所・基礎腫瘍学ユニット・研修生 大塚 旬子
研究分担者 (適宜、行を追加して	所属・職名・氏名	国立がん研究センター研究所・基礎腫瘍学ユニット・研修生 江沢 一星
ください。)	所属・職名・氏名	121/\ _
	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	腫瘍遺伝学研究分野 教授・大島 正伸
【研究目的】	第2位を占めている。その中死亡している。死因となる」において、喫緊の研究課題で本研究により、悪性胃がん明し、新しい胃がん治療薬が的には、Gan マウスを p53	5死亡者は約100万人に達しており、全世界のがん死亡者数の中でも日本は特に胃がん多発国であり、毎年約5万人が胃がんでこうな悪性の胃がんの効果的な治療と診断法の開発は、特に日本である。 モデルマウスを作製するとともに、胃がん悪性化機構の本態を解 / 診断薬の開発につながる研究成果を得たいと考えている。具体 欠損マウスと掛け合わせ、ヒト悪性化胃がんを分子機序から再現 デルを作製し詳細な解析を行う。
【研究内容・成果】 (図表・説明図等 を入れていただ いても結構で す。)	本共同研究は平成22年 製に成功している。p53を野 的遺伝子が転写誘導されてい ウスには見られない浸潤が認 た。これまでの双方向の共同	E度から続いており、これまでに p53 遺伝子欠損 Gan マウスの作生型で持つ Gan マウスの胃癌では p53 が活性化しており、p53 標いる。さらに、p53 欠損 Gan マウスの胃癌組織では、通常の Gan マスのおい、p53 欠損が実際にがんの悪性化を引き起こす事が示される研究の成果を基盤にした研究により、共同利用・共同研究拠点性化進展機構の解明に貢献する論文を発表した(Scientific
	p53 遺伝子欠損 Gan マウスを	用い、以下の解析を進めた。
	せる。p53を野生型で持つマ	(K19-Wnt1/C2mE transgenic mouse)と p53 欠損マウスを掛け合わ ウス、p53 を持たないマウスから生じたがん組織を採取した。p53 ごは、通常の Gan マウスには見られない浸潤が認められ、p53 欠損 起こす事が示された。
		VA を精製した。p53 を野生型で持つ Gan マウスの胃癌では p53 が 伝子が転写誘導されていた。今後、マイクロアレイ発現解析によ 伝子群を同定する。
	1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	な p53 結合部位を ChIP-chip 解析により同定している。そこで、 の中から、p53 結合が認められる遺伝子、すなわち p53 の直接の
	4. 同定した遺伝子が、胃が	んの発生及び悪性化とどのように関わるか解析する。
	I = = = = = = = = = = = = = = = = = = =	員 Gan マウスで発症した癌を解析することにより、胃癌の悪性化 いるか明らかにしたいと考えている。
【成 果 等】	【主な論文発表】 <外国語論文>	
	1. Ohtsuka J, Oshima H, Ez Functional loss of p53 coop	zawa I, Abe R, Oshima M, <u>Ohki R</u> . erates with the in vivo microenvironment to promote malignant
	progression of gastric can Scientific Reports, 8, 22	

doi: 10.1038/s41598-018-20572-1.

2. Magi S, Iwamoto K, Yumoto N, Hiroshima M, Nagashima T, <u>Ohki R</u>, Garcia-Munoz A, Volinsky N, Kriegsheim AV, Sako Y, Takahashi K, Kimura S, Kholodenko BN, Okada-Hatakeyama M. Transcriptionally inducible Pleckstrin homology-like domain family A member 1 attenuates ErbB receptor activity by inhibiting receptor oligomerization.

J Biol Chem, jbc. M117. 778399, 2017.

doi:10.1074/jbc.M117.778399.

3. Sakata N, Yamaguchi Y, Chen Y, Shimoda M, Yoshimatsu G, Unno M, Sumi S, <u>Ohki R</u>. Pleckstrin homology-like domain family A, member 3 (PHLDA3) deficiency improves islets engraftment through the suppression of hypoxic damage.

PLoS One, 12:e0187927, 2017.

doi: 10.1371/journal.pone.0187927.

4. Yamamoto Y, Nagasato M, Rin Y, Henmi M, Ino Y, Yachida S, <u>Ohki R</u>, Hiraoka N, Tagawa M, Aoki K.

Strong antitumor efficacy of a pancreatic tumor-targeting oncolytic adenovirus for neuroendocrine tumors.

Cancer Med, 6(10):2385-2397, 2017.

doi: 10.1002/cam4.1185.

5. Takikawa M, Ohki R.

A vicious partnership between AKT and PHLDA3 to facilitate neuroendocrine tumors.

Cancer Science, 108(6):1101-1108.

doi:10.1111/cas.13235, 2017.

<日本語論文>

- 6. 友杉充宏、川瀬竜也、冨永航平、<u>大木理恵子</u>。新規がん抑制遺伝子 PHLDA3 は膵神経内分 泌腫瘍攻略における最も重要な分子の1つである 胆と膵, 38, pp. 1345-1355, 2017.
- 7. <u>大木理恵子</u>。概論-古くても、まだまだ新しい、最も有名ながん抑制遺伝子 p53 実験医学, 35, pp. 2322-2328, 2017.
- 8. 川瀬竜也,<u>大木理恵子</u>。p53の新たな細胞保護、がん化促進経路。 実験医学, 35, pp. 2335-2339, 2017.
- 9. 滝川雅大, <u>大木理恵子</u>。野生型・変位型 p53 を標的とした抗がん剤の現状。 実験医学, 35, pp. 2367-2368, 2017.

【学会発表】

口頭発表(国内7 国外1)

1. Identification of a novel p53 downstream pathway important in neuroendocrine tumor development.

Rieko Ohki. p53 international workshop 2017年7月. 於:シンガポール 国外

- 2. 知られざる p53 の肖像画~最も有名ながん抑制遺伝子 p53 の新機能~
- 大木理恵子 第76回日本癌学会学術総会2017年9月.於:横浜 国内
- 3. Identification of a novel p53 downstream tumor promotion pathway, p53-IER5-HSF1 pathway, that contributes to tumor progression. Rieko Ohki. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会(ConBio2017)2017年11月、於:神戸 国内
- 4. がんの生物学・分子生物学 大木理恵子 日本がん治療認定医機構 JBCT 教育セミナー 2017 年 11 月. 於:幕張メッセ 国内
- 5. PH domain-only protein PHLDA3 is a novel p53-regulated repressor of Akt and a novel tumor suppressor of neuroendocrine tumors-towards development of tailor-made therapies for neuroendocrine tumors-

Rieko Ohki, The 22nd Korea-Japan Cancer Research Workshop 2017年12月. 於:東京 国内

- 6. がんの分子生物学 大木理恵子 日本臨床腫瘍学会 第31回教育セミナー 2018年3月、 於:東京 国内
- 7. IER5 is a p53-reguated activator of HSF1 that contributes to promotion of cancer. Rieko Ohki, OISTセミナー 2018年3月. 於:OIST 国内
- 6. がんの分子生物学 大木理恵子 日本臨床腫瘍学会 がんゲノム医療講習会 2018 年 3 月、於:東京 国内

ポスター発表(国内4 国外2)

1. A p53 target gene IER5 generates a novel hypo-phosphorylated active form of HSF1 and contributes to tumor progression. Shotaro Yamano, Yoshinori Asano, Tatsuya Kawase, Rieko Ohki. p53 international workshop 2017年7月. 於:シンガポール 国外

- 2. PHLDA3 is a novel tumor suppressor of pituitary neuroendocrine tumors. Yu Chen, Maiko Minegishi, Kozue Saito, Benjamin Tycko, Syouzou Yamada, Hideo Namiki, Kentaro Semba, Rieko Ohki. p53 international workshop 2017年7月. 於:シンガポール 国外
- 3. がん抑制遺伝子 p53 機能喪失を伴った胃がんモデルを用いた胃がんの悪性化機構の解明 大塚 旬子、江澤一星、安部良、大島正伸、大木 理恵子 第76回日本癌学会学術総会 2017 年 9月. 於:横浜 国内
- 4. がん抑制遺伝子 PHLDA3 の下垂体腺腫における機能喪失性変異の同定と機能解析 冨永 航平, 西川 雷羅, 山口 陽子、永田 喜三郎, 大木 理恵子 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio 2017) 2017 年 11 月、於:神戸 国内
- 5. Akt 抑制因子 PHLDA3 の新規結合分子 PH3IP1, PH3IP2 は Akt 活性を制御する 山口 陽子、西川 雷羅、陳 妤、斎藤 梢、広川 貴次、八田 知久、夏目 徹、近藤 格、永田 喜三郎、大木 理恵子 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017) 2017 年 11 月、於:神戸 国内
- 6. がん抑制遺伝子 p53 機能喪失を伴った胃がんモデルを用いた胃がんの悪性化機構の解明 大塚 旬子、江澤一星、安部良、大島正伸、大木 理恵子 平成 29 年度金沢大学がん進展制御 研究共同利用・共同研究拠点シンポジウム・成果発表会 2017 年 10 月. 於:金沢東急ホテル 国内

【その他特筆事項】

• 実験医学 2017年9月号 Vol. 35 No. 14

知られざる p53 の肖像〜がん抑制/促進の二面性からアイソフォームの機能、標的遺伝子の 選択機構まで〜

を企画した。知られざる p53 の肖像画

- ・2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017) にて、下記のワークショップを主催。 知られざる p53 の肖像画
- ~ "ゲノムの守護神"にとどまらない p53 の新機能~

研究課題		転写因子 RUNX1 エンハンサーeR1 を用いた癌幹細胞の純化:異なる組織の癌幹細胞に共通する発癌分子基盤の探索
研究代表者	所属・職名・氏名	熊本大学・教授・大里元美
	所属・職名・氏名	
研究分担者	所属・職名・氏名	
(適宜、行を追加してください。)	所属・職名・氏名	
(/2.2 \ 0/	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・平尾敦
【研究目的】		

【研究目的】

癌幹細胞研究をすすめるためには癌細胞集団より極少数しか存在しない癌幹細胞を同定・分離(純化)する必要がある。この目的のために細胞表面マーカーを用いた方法が広く用いられているが造血系以外の組織においてはまだ不十分な点が多い。別の純化法として、幹細胞に特異的な遺伝子の発現制御領域下にレポーター遺伝子を発現させる方法もある。申請者は転写因子 Runx1 の造血幹細胞特異的エンハンサーeR1 を同定し報告した。また eR1 は造血系以外の比較的広範囲な組織に共通した新たな正常および癌幹細胞のマーカーとなりうることが示唆されたので、本研究ではその可能性を検証し、さらに異なる組織の癌幹細胞に共通する発癌分子基盤の探索を行う。

【研究内容·成果】

(図表・説明図等を入れていただいても結構です。)

1. 白血病及び他組織における癌幹細胞の同定・純化

a) 白血病幹細胞の純化

変異 Kras 導入により惹起されるマウス白血病モデルに eR1 レポーター (eR1-EGFP Tg) マウスを交配させたうえで、白血病細胞を eR1 活性 (GFP 陽性) 群と eR1 非活性 (GFP 陰性) 群に分画採取し、 $in\ vitro$ および $in\ vivo$ の実験を行い増殖能など白血病原性につながる細胞の性質を比較した。 $in\ vivo$ 実験としては野生型マウスへ白血病細胞を移植して白血病を引き起

こすことができるかを検討 した。GFP 陽性群からは白 血病が起こるが、GFP 陰性 群からは殆ど起こらないと いう結果を得た(**図1**)。 また GFP だけによる純化で は癌幹細胞の頻度が十分に 高くないという結果も見ら れたので、GFP に加え c-Kit など幹細胞マーカーも組み 合わせて白血病幹細胞の濃 縮を可能な限り高めること を図り、最終的に白血病幹 細胞を 200 細胞に 1 個とい うレベルまで濃縮すること に成功した。これらの結果 は eR1 が白血病幹細胞のマ ーカーになりうることを示 していると考えられる。

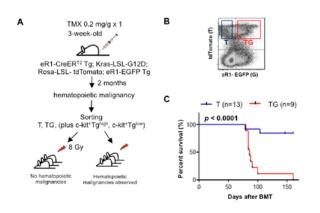


図1、Runx1エンハンサーeR1は白血病幹細胞マーカーである。 変異Krasで惹起された白血病細胞をtdTomatoで、eR1活性を持つ細胞をEGFP でマーク、Tomato (+) GFP(-) T分画とTomato (+) GFP(+) TG分画に分けて採取移 植し白血病原性を比較したところ(A, B) TG分画からは全例で白血病が起 こったがT分画からは殆ど起こらなかった(C)。

b) 造血系以外の組織幹細胞における eR1 活性

eR1-EGFP Tg マウスの GFP シグナルは造血系に限らず 比較的多くの組織において見られ、eR1 は広範な組織に共通した新たな正常および癌幹細胞のマーカーとなりうることが示唆されたのでその可能性を検証した。昨年度の胃についての報告 (Matsuo et al., Gastroenterology 2017) に引き続き本年度は<u>乳腺および乳癌</u>に於ける解析結果を国際学会や日本癌学会・分子生物学会などにおいて発表した。これ以外にも<u>中枢神経(脳)</u>における解析を行い脈絡叢における幹細胞活性など興味深い知見を得た。悪性脳腫瘍において eR1 活性を指標にneurosphere 形成能の高い細胞を純化濃縮できるかの検討も行っている。

2. 白血病と他組織の癌幹細胞に共通する分子基盤の探索

純化濃縮された白血病癌幹細胞および対照となる細胞の間で発現に差のある遺伝子を同定するための発現マイクロアレイ解析、また eR1 オリゴ DNA に結合する複合体構成分子に差があるかを SILAC プロテオミクス法を用いて検討した。差の見られた分子リストの中より幾つかの分子を選び今後さらに詳細な解析を行ってゆく予定である。

【成 果 等】

【主な論文発表】

- 1. Marsman J, Thomas A, <u>Osato M</u>, O'Sullivan JM, Horsfield JA. A DNA contact map for the mouse Runx1 gene identifies novel hematopoietic enhancers. **Scientific Reports** 17:13347, 2017
- 2. Tsukada M, Ota Y, Wilkinson A, <u>Osato M</u>, Nakauchi H, Yamazaki S. In vivo generation of engraftable murine hematopoietic stem cells by Gfi1b, c-Fos and Gata2 overexpression within teratomas. **Stem Cell Reports** 9:1024-1033, 2017
- 3. Selvarajan V, Osato M, Nah SG, Yan J, Tae-Hoon C, Voon DC, Ito Y, Ham MF, Salto-Tellez M, Shimizu N, Choo SN, Fan S, Chng WJ, Ng SB. RUNX3 is oncogenic in natural killer/T-cell lymphoma and is transcriptionally regulated by MYC. **Leukemia** 31:2219-2227, 2017
- 4. Liau WS, Tan SH, Lawton LN, Wang CQ, Feng H, Tergaonkar V, Gong Z, <u>Osato M</u>, Young RA, Look AT, Sanda T. Aberrant Activation of the *GIMAP* Enhancer by the Oncogenic TAL1 Complex Contributes to T-cell Leukemogenesis. **Leukemia** 31: 1798-1807, 2017
- 5. Zhou J, Chan ZL, Bi C, Lu X, Chong P, Chooi JY, Cheong LL, Liu SC, Ching YQ, ZhouY, Osato M, Tan TZ, Ng CH, Ng SB, Zeng Q, Chng WJ LIN28B Activation by PRL-3 Promotes Leukemogenesis and a Stem Cell-like Transcriptional Program in AML. **Molecular Cancer Research** 482: 994-1000, 2017

【学会発表】

2018年1月24-25日 滋賀県大津市 平成29 年度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 成果発表会、(演題) Enhancer for Runx1, eR1: a powerful tool in stem cell and cancer biology (口演)大里元美

2017 年 12 月 6-9 日 神戸 生命科学系学会合同年次大会 ConBio2017 (演題 1) Runx1 enhancer element marks stem cells in multiple organs (演者)山村明寛、大里元美、伊藤嘉明ほか、(演題 2) Identification of eR1 that marks luminal stem/progenitor cells in mammary gland (演者) 松尾純一、大里元美、伊藤嘉明ほか

2017年11月12-15日 Philadelphia, USA 21st International RUNX Conference (演題) Enhancer for *Runx1*, eR1: a powerful tool in stem cell and cancer biology (口演)大里元美

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

	平成 29 年度 金沢大学が	ん進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	がん幹細胞制御における代謝システムの解明
研究代表者	所属・職名・氏名	東京大学 先端科学技術研究センター・特任准教授・大澤 毅
	所属・職名・氏名	
研究分担者	所属・職名・氏名	
(適宜、行を追加して	所属・職名・氏名	
ください。)	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・平尾 敦
【研究目的】	低酸素・低栄養という腫瘍微告してきた。低酸素・低栄養ることが示唆されるが、その性化における"代謝と栄養シ	水小環境や血管新生が重要な役割を果たす。これまで申請者は、 水小環境が癌の悪性化と治療抵抗性に関与することを見いだし報 をで生存する癌細胞は、癌幹細胞の維持を促進し悪性化に寄与す の詳細な"代謝システム機構"は不明である。本研究は、がん悪 、グナル"がどのようにがん幹細胞維持に関与するかを解明し、 に相乗効果が期待できる標的分子の探索など治療への応用のため
【研究内容・成果】		境が重要な役割を果たす。申請者らはこれまで低酸素・低栄養・
(図表・説明図等を入	低 pH という腫瘍微小環境が	癌の悪性化を促進することを報告してきた。本研究では、がん微
れていただいても結	小環境における"癌代謝と栄 を駆使して研究を行った。	養シグナル伝達機構の解明"を種々の癌細胞株や in vivo マウス
構です。)		「プトームやメタボロームなどのオミクス統合解析から"代謝と
	栄養シグナル"の解明という	分野横断的な共同研究を展開することを目的とした。
	研究項目としては、以下の2項目について研究を行った。	
	【1】 <u>低酸素・低栄養におけるがん幹細胞維持に必須な代謝経路の解明</u> 申請者は低酸素・低栄養が癌の悪性化に関与することを報告しているが、腫瘍微小環境で	
	亢進する癌代謝物がどのように代謝さらには悪性化に関与するかは不明である。既に我々は、	
	低酸素・低栄養において種々の癌細胞に共通して幾つかの代謝産物質や脂質代謝経路が亢進	
	することを発見しており、これらが癌の悪性化にどう関わるか検討した結果、TCA サイクルと脂質分解経路について ¹³ C 安定同位体標識をしたグルタミン網羅的なトレース実験から低	
	酸素条件下ではグルタミンから還元型の TCA サイクルが回ることを見出した、一方、低酸素・	
	低栄養では順方向に TCA サイクルが回ることを発見した。	
		幹細胞における栄養シグナルの関与
	をマイクロアレイ解析、オ PI3K-AKT-mTOR シグナル 機能解析を行い、グルタミン	て低酸素・低栄養で特異的に発現誘導される特徴的な遺伝子群ントロジー解析、パスウェイ解析から発見している。また、 伝達系や FOXO 転写因子の関与の解析と共にこれら標的候補の 異存的な FOX 転写遺伝子群の候補を見出した。今後も本共同研 な経路の律速酵素の発現誘導のメカニズムの解明と②アミノ酸欠
		は一般の特殊時系の光視誘導のアガーへムの解析と@デミノ酸ス ・制御機構の解明を新規に試みる。また、グルタミン異存的な FOX
	転写因子群を含めた転写遺伝	子群のがん幹細胞における役割について si/shRNA やゲノム編集
		腫瘍移植実験において検討する予定である。
【成 果 等】	【主な論文発表】 1. Yamamoto R, <u>Osawa T</u> e	et al Overexpression of p54nrb/NONO induces differential EPHA6
	splicing and contributes to 10510-10524.	castration-resistant prostate cancer growth. <i>Oncotarget</i> , 2018, 9(12),
	2. Kondo A & Osawa T. Est	ablishment of an extracellular acidic pH culture system. JoVE, 2017,
	129, e56660. 3. Kondo A <i>et al.</i> and Osawa	T. Long non-coding RNA JHDM1D-AS1 promotes tumor growth by
		response to nutrient starvation. <i>Molecular and Cellular Biology</i> , 2017,
	【その他特筆事項】	
	大澤毅、血管生物医学若手最 年3月2日-3日、熊本	:優秀賞(2018年): (第一回血管生物医学会若手研究会): 2018
		9年先端モデル動物支援プラットフォーム成果発表会、2018年
	1月24日~25日 大津	

1月24日~25日、大津

平成29年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

	平成 29 年度 金沢大学が	「A進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	マウス神経幹細胞ならびに脳腫瘍におけるがん抑制遺伝子産 物 MTAP の機能解析
研究代表者	所属・職名・氏名	慶應義塾大学・訪問研究員・大西 伸幸
研究分担者 (適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名	
受入担当教員	 職名・氏名	教授・平尾 敦
【研究目的】	色体の欠損、中でも CDKN2A、 に関与していると考えられて ン合成で産生される MTA (me る酵素であるが、MTAP 欠損に 性化にどのように影響するか 脳腫瘍モデルを用いて正常細 発がんおよび悪性化過程にお	plastoma multiforme: GBM)に特徴的な染色体異常である 9 番染 CDKN2B、MTAP遺伝子の共欠損は GBM の発症や悪性化のプロセスいるが詳細については分かっていない。特に、MTAP はポリアミthylthioadenosine)を分解し、methionine と ATP の合成に関わてよるポリアミン組成やエネルギー産生の変化が GBM の発症や悪いについては不明である。本研究では、マウス神経幹細胞や in vivol胞や腫瘍形成過程における MTAP の機能について解析し、GBM のほける MTAP の役割を明らかにしたいと考えている。
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	に、ヒトGBMにおいて高頻度にレトロウイルスを用知の形で、高い細胞密度で周囲の脳スGBMモデルを構築していまりますを挿入後マウスが表情で、さらに、申請者は東子が見る。さらに、申請者はモデルの別種の形成に成功してデルの別がでは、中のをガラスキャピラリーする側脳室に遺伝子導入でいるがラスキャピラリーでありをガラスキャピラリーでありをガラスキャピラリーでありをガラスキャピラリーであいて、正常細胞を見いて、正常細胞現を見いて、正常細胞現を見いて、正常細胞現を引きが、にK-RAS V12を強制発現も解したと表表でいている。	性脳腫瘍の性状を理解し新たな治療戦略を考案することを目的に異常がみられるがん抑制遺伝子 Cdkn2a の欠損(KO)マウス NSCs性型 H-RAS (H-RAS V12)を導入し同系マウス脳内に移植することに実質に浸潤性に増殖し、ヒト GBM に酷似した特徴を有するマウる(Neoplasia. 13:784-91. 2011)。さらに、申請者は piggyBacとを伴わずに Cdkn2a KO マウス NSCs のトランスポゾン配列にがんへの移植により上記同様に脳腫瘍を形成することに成功していBac systemと in vivo エレクトロポレーションを組み合わせるの構築も進めている。具体的には、2種類の piggyBac system 用シクターならびに K-RAS V12と shCdkn2aを同時に発現するベクタを生型マウス新生児脳室に直接インジェクションし、NSCs が存在ために電極を当てて in vivo エレクトロポレーションを行い、の形成された脳腫瘍は病理学的所見より、移植モデル同様にと免疫組織化学的所見から Nestin(未分化マーカー)陽性部位と免疫組織化学的所見から Nestin(未分化マーカー)陽性部位と発症が混在する不均一な腫瘍であった。本研究ではこれらの実験形成過程における MTAP の機能解析を行った。マウス神経幹細胞ると、活性酸素の増強に伴い Cdkn2a遺伝子の発現が誘導される。析したところ、Cdkn2a遺伝子に比べると穏やかではあるが Mtap 見られた。現在はこの発現誘導機序について解析を進めながら、遺伝子を強制発現/発現抑制させることで腫瘍形成能への影響をある。
【成 果 等】	【主な論文発表】 1. Development of a functi Saito Y et al. <i>Biochem Bio</i> 2. Activation of Trans Cancer-associated Fibrobla Homolog 2, and Ability to	conal thyroid model based on an organoid culture system. Sophys Res Commun. 497(2):783-789. 2018 forming Growth Factor Beta 1 Signaling in Gastric asts Increases Their Motility, via Expression of Rhomboid 5 Induce Invasiveness of Gastric Cancer Cells. Interology. 153:191-204.e16. 2017

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

	平成 29 年度 金沢大字か	「ん進展制御研究所 共同研究報告書 	
	研究課題	抗がん免疫応答におけるケモカイン受容体 XCR1 発現樹状細胞 および XCR1 の機能的意義の解明	
研究代表者	所属・職名・氏名	和歌山県立医科大学先端医学研究所・教授・改正 恒康	
	所属・職名・氏名	和歌山県立医科大学先端医学研究所・准教授・邉見 弘明	
研究分担者	所属・職名・氏名		
(適宜、行を追加して	所属・職名・氏名		
ください。)	所属・職名・氏名		
受入担当教員	職名・氏名	教授・向田 直史	
【研究目的】	樹状細胞(DC)は、抗原提示細胞として機能し、抗がん免疫に重要な役割を果たすが、機能的特性の異なるいくつかのサブセットに分けられる。本研究では、細胞傷害性 (CD8) T 細胞への分化を誘導する能力の高い樹状細胞サブセット (ケモカイン受容体 XCR1 を発現する樹状細胞、XCR1+DC) に焦点を当て、その樹状細胞サブセットが、恒常性維持あるいは抗がん免疫応答にどのように関与しているのかを解明し、XCR1+DC を標的とした抗がん免疫療法の確立を目指す。		
【研究内容・成果】	1. 遺伝子改変マウスを用い	た、XCR1+DC の動態、機能的意義の解明	
(図表・説明図等を入		系を確立し、XCR1+DC を選択的かつ構成的に欠失するマウス	
れていただいても結		って、がん発症における XCR1+DC の機能的意義の解明を進めて	
構です。)	_	を腹腔内注射後、DSS を経口投与し、大腸がんを誘発させるモデ	
	ルで解析したが、XCR1-DTA マウス、コントロールマウスいずれにおいても大腸がんが発生し、その数や大きさは有意差は見られなかった。次に、APC 遺伝子のヘテロ変異(APCΔ716)による腸管ポリープ、腺腫モデル(Oshima et al. PNAS 1995)にて解析するために、APCΔ716マウスと XCR1-DTA マウスの交配を進めている。文献的には 20-30 週令で腫瘍が発生するが、当施設では 35 週を過ぎてはじめて腫瘍が発生することが分かってきた。さらに、DMBA+TPA		
	当地級とは35週を過ぎとはしめて腫瘍が発生することが力がうとされ。さらに、DMBA+1FA の塗布による皮膚がんモデルの実験系の確立を進めている。		
	2. 抗原と XCL1 の融合タンパクによる抗がん免疫応答の誘導		
	卵白アルブミン(OVA)由来	その抗原ペプチド(OT-I)と XCR1 のリガンド(マウス XCL1、	
	共に投与することにより、O 疫応答が誘導できたが、この を前投与した場合に、免疫チ た。これらの結果から、mXG	nXCL1-OVA) は、免疫アジュバント(二本鎖 RNApoly(I:C)) とVA を発現するメラノーマ細胞株(B16-OVA)に対する抗がん免抗がん効果は XCR1 欠損マウスで消失した。また、mXCL1-OVA エックポイント阻害剤(抗 PD-1 抗体)の効果の増強が認められ CL1-OVA の抗がん効果は XCR1 を介した作用であること、そし、クポイント阻害剤と併用できることが示された。	
【成果等】	【主な論文発表】 Brewitz, S. Eickhoff, S. Dähling, T. Quast, S. Bedoui, R. A. Kroczek, C. Kurts, N. Garbi, W. Ba M. Iannacone, F. Klauschen, W. Kolanus, T. Kaisho, M. Colonna, R. N. Germain, W. Kastenm 2017. CD8+ T cells orchestrate pDC-XCR1+ dendritic cell spatial and functional cooperativ optimize priming. Immunity 46:205-219.		
	required for Cholera toxin-induc Japanese Society for Immunolog I. Sasaki, T. Orimo1, H. Hemmi methionine metabolism in chole	aka, Y. Fukuda, I. Sasaki, T. Kaisho. An Ets family member, Ets2 is ced arginase-1 gene expression. The 46th Annual Meeting of the gy 2017.12.12-14. Sendai, Japan. The description of the gy 2017.12.12-14. Sendai, Japan. The description of the gy 2017.12.12-14. Sendai, Japan.	
	【その他特筆事項】		

	平成 29 年度 金沢大学が	ぶん進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	上皮管腔形成とがん進展に関与する Src 制御タンパク質の解析
研究代表者	所属・職名・氏名	大阪大学・助教・梶原健太郎
TT etc () Let etc	所属・職名・氏名	
研究分担者	所属・職名・氏名	
(適宜、行を追加して	所属・職名・氏名	
ください。)	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・松本邦夫
【研究目的】	で、正常細胞の三次元組織形らがん細胞の浸潤にアプロー因子(HGF)による上皮管腔形一の Met と協調してシグナーらかになっている。一方、腎現と比較して予後が極めて思	ていたシステムを悪用して浸潤していると考えられている。そこ が成(上皮管腔形成)の分子メカニズムを明らかにして、そこか -チすることを目指した。申請者が見いだした Rsp1 は肝細胞増殖 形成の初期過程に重要なタンパク質である。Rsp1 は HGF レセプタ ル伝達経路を制御することで、形態変化に関与していることが明 活細胞がんにおいて Rsp1 と Met がともに高発現の場合、単独高発 悪かった。しかし、その原因は不明である。本研究では、がん進 らかにすることを目的とする。
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	Rsp1の発現の確認はじめに、がん細胞における Rsp1 の発現を解析した結果、多種類の高浸潤性のがん細胞で高発現であることが明らかになった。特に、トリプルネガティブ乳がん細胞では高発現が多く、MDA-MB-231 細胞では Rsp1 と Met がともに高発現であった。これに対して、比較的低浸潤性の乳がん細胞 MCF-7 や T-47D では両タンパク質とも低発現であった。これらの結果から、Rsp1 はがんの浸潤に重要である可能性が示唆された。Rsp1 ククダウンがん細胞の解析 Rsp1 を siRNA でノックダウンした MDA-MB-231 細胞を作製した。コントロール細胞は HGF 処理によって形態がさらにスピンドル化し、ラメリポディアを多数形成するが、Rsp1 ノックダウン細胞ではそのような形態変化が抑制されていた。さらに HGF による浸潤能の亢進も、ノックダウンによって抑制されていた。これらの結果から、Rsp1 のノックダウンによって、HGF-Met システムの機能不全が生じている可能性が考えられた。そこで、Rsp1 ノックダウン細胞の Met の発現量を解析したところ、その減少が確認された。次に、Met の局在を観察したところ、細胞膜から初期エンドソームに移行している様子が認められた。以上の結果から、Rsp1 は Met の細胞膜上での安定的局在に重要なタンパク質であり、Rsp1 が減少した場合には Met は分解系オルガネラに誤移行する可能性が示唆された。本研究成果のまとめと考察 Rsp1 は Met の細胞膜上の安定的局在に重要なタンパク質であり、HGF-Met システムの機能維持に重要である。がん細胞では、両タンパク質が高発現状態にあり、HGF-Met システムの機能維持に重要である。がん細胞では、両タンパク質が高発現状態にあり、HGF-Met システムの機能維持に重要である。がん細胞では、両タンパク質が高発現状態にあり、HGF 刺激をより高効率に授受する状態になっていると考えられる。これによって HGF によるがん細胞の浸潤の亢進が起こると推測される。	
【成 果 等】	生物学会大会. 仙台国際 2) 梶原健太郎, 松本邦夫, 金沢大学がん進展制御研 2017年10月26日 3) 梶原健太郎, 松本邦夫, 2017年度生命科学系学会 ポスター発表	形態形成における活性化 Src の時空間的制御. 第 69 回日本細胞 デセンター. 2017 年 6 月 13 日 岡田雅人. 上皮形態形成における活性化 Src の時空間的制御. 研究所共同利用・共同研究拠点シンポジウム. 金沢東急ホテル. 岡田雅人. 上皮形態形成における活性化 Src の時空間的制御. 会合同年次大会. 神戸ポートアイランド. 2017 年 12 月 9 日 ・形態形成における活性化 Src の時空間的制御. 第 69 回日本細胞

生物学会大会. 仙台国際センター. 2017年6月13日

ム. 大阪大学銀杏会館. 2017年9月20日

5) 梶原健太郎. 上皮形態形成における活性化Srcの時空間的制御. 第9回若手研究フォーラ

6) 梶原健太郎, 松本邦夫, 岡田雅人. 上皮形態形成における活性化 Src の時空間的制御.

- 2017年度生命科学系学会合同年次大会.神戸ポートアイランド.2017年12月8日
- 7) 杉原充哉, 梶原健太郎, 松本邦夫, 岡田雅人. がん進展における Src 局在化タンパク質と c-Met の機能解析. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会. 神戸ポートアイランド. 2017年12月6日
- 8) 杉原充哉, 梶原健太郎, 松本邦夫, 岡田雅人. がん進展における Src 局在化タンパク質と c-Met の機能解析. 第 10 回若手研究フォーラム. 大阪大学銀杏会館. 2018 年 3 月 14 日

【その他特筆事項】

アウトリーチ活動

ひらめき☆ときめきサイエンス(日本学術振興会)顕微鏡で見るがん細胞:がんの謎を探る. 大阪大学微生物病研究所. 2017 年 8 月 18 日

平成 29 年度 金沢大学がん准展制御研究所 共同研究報告書

	平成 29 年度 金沢大学が	K. A. 進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	HGF-Met 蛋白質間相互作用を制御するための構造基盤の構築 と阻害剤設計
研究代表者	所属・職名・氏名	大阪府立大学大学院理学系研究科・准教授・木下誉富
7T 27 17 40 ±2.	所属・職名・氏名	
研究分担者 (適宜、行を追加して	所属・職名・氏名	
(適且、1)を追加してください。)	所属・職名・氏名	
(70.0.1.0)	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・松本邦夫
【研究目的】	など複数の組織において再生態といえるのが、がん細胞の潤・転移を強力に促すことか標的になる。したがって、Hoながる新規制がん分子になる	は Met 受容体を介して多彩な生理機能を発揮する。HGF は肝臓 Eや保護を担う生理活性タンパク質である。一方、悪性腫瘍の本 もつ高い浸潤・転移能である。HGF は様々ながんに対して、浸 ら、HGF-Met 受容体系はがんの浸潤・転移阻止につながる分子 GF-Met 系を阻害する分子は、がんの浸潤・転移・成長阻害につ 。本研究はインシリコ創薬技術を中核として HGF と Met の相 ・間実剤の創成を目的としている
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	互作用面を標的とする低分子阻害剤の創成を目的としている。 HGF の β 鎖にある、Met 受容体の結合に関与する分子内ポケットの構造に着目したインシリコスクリーニングを行い、HGF-Met 結合阻害アッセイやバイオアッセイによって リード化合物を選択した。リード化合物の最適化のための主たる方法として、標的ポケット構造への化合物のフィッティング状態を分子レベルで明らかにし、Structure・Based Drug Design (SBDD) により標的分子への親和性や特異性を向上させる分子設計法を用いる。本研究ではリード化合物と HGF・β 鎖の結合様式の詳細を知るために、HGF/k4・β 鎖と阻害剤との複合体 X 線結晶構造解析を試みた。 九州工業大学・青木俊介准教授がインシリコ技術を駆使して見出した、HGF・Met 相互作用を阻害する注目化合物と HGF/β・k4 との複合体について結晶を調製した。高エネルギー研究所BL17Aにおいて 3.55 Å分解能までの X 線回折データを収集し、分子置換法による結晶構造解析を行った。低分解能解析にもかかわらず、 X 鎖及び k4 ドメインの主鎖構造を決定することができた(図1)。結晶中ではβ鎖の Met 結合部位が向かい合った、握似的ダイマー構造を形成していることがわかった。しかしながら、アミノ酸側鎖の大部分と化合物に相当する電子密度は観測されず、全構造解析には至っていない。今後は結晶化条件の最適化あるいは宇宙実験などを行いながら良質結晶を調製し、高分解能構造解析を進めて、化合物の結合様式を明らかにする。	
【成 果 等】	metastasis model, Clin. Can. 2. <u>T. Kinoshita</u> , T. Hashimot structure discloses the poter 7, Biochem. Biphys. Res. Co. 【学会発表】 1. <u>木下誉富</u> 、宇宙実験による AIST/JAXA 研究交流会~ 東京 【その他特筆事項】	K. Kita, R. Wang, S. Arai, K. Fukada, A. Tanimoto, S. Takeuchi, S. ya, T. Kinoshita, S. Yano, Foretinib overcomes entrectinib resistance I G667C mutation in NTRKI fusion-positive tumor cells in a brain neer Res., in press. o, Y. Sogabe, H. Fukada, T. Matsumoto, M. Sawa, High-resolution nitial for allosteric regulation of mitogen-activated protein kinase kinase mmun. 493, (2017) 313-317. S MAP2K7 キナーゼの結晶高品質化及び高分解能 X 線構造解析、産学それぞれの立場から見たタンパク質結晶構造解析への期待

174-181.

平成29年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

	平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題マウス消化管腫瘍の形態の複雑さを制御する分子機構の解明
研究代表者	所属・職名・氏名 金沢医科大学 病理学 I・教授・清川悦子
 研究分担者	所属・職名・氏名 金沢医科大学 病理学 I・助教・市川壮彦
例 九月15日	所属・職名・氏名 九州大学大学院医学研究院 系統解剖学分野・助教・ 今村(滝川)寿子
受入担当教員	職名・氏名 教授・大島正伸
【研究目的】	転移能を有する腫瘍は、マウスの原発巣においても、培養した類器官においても腺管構造
	が複雑になる傾向がある。これまでの共同研究において確立した、腺腫形成マウスからの類器官の数日間のライブイメージングによって、悪性度の低い類器官では細胞増殖に伴ってほぼ球形の類器官の径が大きくなった後、内腔が保持されないために縮んで腺管が陥入するのに対し、複数の遺伝子変異を導入した悪性度の高い類器官では、小さい管腔構造を基底側に複数形成し、複雑な腺管を形成する傾向があることを明らかにしてきた。本申請課題では、この複雑な形態・動態を呈する機構を数理モデルを用いて明らかにすることを目的とした。
【研究内容・成果】	DAPI E-Cadherin pMLC
	るかをまず検討した。大島研究室で樹立されたマウス消化管腫瘍細胞株 AKTP (ApcD716/-, KrasG12D/+, Tgfβr2-/-, Trp53R270H/-; Sakai, Can Res., 2018) から類器官を作製しアクチン収縮のマーカーとして、リン酸化 Myosin Light Chain (pMLC)に対する抗体で染色したが、基底
	側あるいはラテラル側に染色されることがほとんどであり、アピカル側で染色されることはなかった(左上図)。 そこで、アピカル側での収縮を介さないモデルとして、曲げ弾性(細胞形状制御の程度)と
	増殖速度をパラメータに組み込んだ数理モデルを構築した(左図)。曲げ弾性が弱く、細胞増殖が速いと複雑な腺管を形成することがおかった。曲げ弾性とは「類器官外周の硬さ/柔らかさ」を表現するものであるが、「細胞が揃った形を保つ制御の強さ」とも解釈できる。つ
	まり曲げ弾性が弱い条件では、細胞形状が比較的自由に変わるといえる。データは載せていないが、曲げ弾性が強い場合、内腔の面積(類器官では体積に相当)を一定に保持することが変形するために必要であることがわかった。この数理モデルを検証するためには、曲げ弾性の指
	遅い 増殖速度 速い 数埋モアルを検証するためには、曲け弾性の指標として計測すべきパラメータを決めること
【成果等】	が必要であるが、現時点では候補が絞れておらず、今後継続して進めていく予定である。 【主な論文発表】
I'M A 41	なし
	【学会発表】 市川 壮彦、中山 瑞穂、坂井絵梨、今村(滝川)寿子、大島 正伸、清川 悦子 「腸管オルガノイドを用いた腫瘍形成過程の観察」 平成 29 年度 共同利用・共同研究拠点シンポジウム・成果発表会 平成 29 年 10 月 金沢
	【その他特筆事項】 なし

平成 29 年度 金沢大学がん准展制御研究所 共同研究報告書

	平成 29 年度 金沢大学が	ぶん進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	APC (adenomatous polyposis coli)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(継続)
研究代表者	所属・職名・氏名	理化学研究所・ユニットリーダー・清末優子
	所属・職名・氏名	理化学研究所・テクニカルスタッフ・野木泰作
研究分担者	所属・職名・氏名	
(適宜、行を追加して	所属・職名・氏名	
ください。)	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・大島正伸
【研究目的】	APC 変異に起因する染色体の が、腫瘍進展や発がんの過程	につながる APC 変異を有する培養非がん細胞モデルを用いて、分配エラーの原因となる分子機構を明らかにしてきた。この現象 ことがのように関与しているのかを調べるため、大島研究室より・受け、腸管切片の蛍光免疫染色による分子機能/活性測定や、組の解析を行う。
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	と細胞の悪性化に関わる分子腫瘍における染色体再編成マウスの小腸ポリープから抗comparative genomic hybridiza 失しやすい領域が認み子が存在性化に関連する遺伝培養細胞の単した。 大人の地域の多くは、との関連を対してもいるといった。 大人の一般はほとんから、不明なとりをはいるというでは、 大人の一般はは知りの知りに、 大人の一般はは知りの知りに、 大人の一般はは知りの知りに、 大人の一般はは知りの知りに、 大人の一般に、 大人の一般に、 大人の一般に、 大人の一般に 大人の	はの存在やパターンを調べるため、Apc△716 由出したゲノムのアレイ CGH (array-based ation) 解析を行ったところ、増幅または欠 (図1)、そのような領域に腫瘍の増大や悪 きする可能性が考えられた。Apc△716 マウス の表現型解析を行うと(図2)、細胞機能と を見出すことができた。 重や系列に依存して特異的な染色体再編パ ときされてきたが(Beroukhim et al., Nature 因となるメカニズムと腫瘍の悪性化との関 った。今回 Apc△716 マウスを用いて得ら を存に有利な遺伝子型を獲得する新 さがった。 4716 マウスを用いて今後さらに、 の悪性化を促進する、細胞がん化に いかし未解明のまま残されている機
【成 果 等】	【主な論文発表】	
	変異腫瘍における反復性 清末 優子, 2017/10/25-26 2. 第 4 回理研/カロリンス "A two-step mechanism fo Yoshihiro Kawasaki, Tomo Kouyama, Atsushi Niida, F	研究所 共同利用・共同研究拠点シンポジウム/ポスター発表"APC 性遺伝子コピー数変異の 2 段階メカニズム" 5 (金沢) か研究所/SciLifeLab 合同シンポジウム/ポスター発表 rr recurrent somatic copy number alteration in APC mutant tumours" oko Hamaji, Koji Owada, Taisaku Nogi, Yuping Wu, Miwa Okada, Yuta Koshi Mimori, Toshihiko Kuroda, Takao Senda, Miho Ohsugi, Katsumi er O. Widlund, Kazuyuki Kiyosue, Norio Yamashita, Masahiko Morita,

Hideo Yokota, Satya N. V. Arjunan, Wei-Xiang Chew, Koichi Takahashi, Wesley R. Legant, Bi-Chang Chen, Eric Betzig, Ron Smits, Riccardo Fodde, Hiroko Oshima, Masanobu Oshima,

M. Mark Taketo, Tetsu Akiyama, Yuko Mimori-Kiyosue, 2017/11/16-17 (神戸)

- 3. 2017 年度生命科学学会合同年会/ポスター・ロ頭発表 "格子光シート顕微鏡により取得した細胞分裂装置 3 次元動態の時空間情報解析" 山下 典理男, 森田 正彦, Wesley R. Legant, Bi-Chang Chen, Eric Betzig, 横田 秀夫, 清末 優子, 2017/12/6-8 (神戸)
- 4. 日台ナノメディシンシンポジウム/口頭発表

"Identification of a Key Molecular Pathway that Contributes to Recurrent Somatic Copy Number Alterations Using Lattice Light-sheet Microscopy"

Yuko Mimori-Kiyosue, 2018/1/25-26 (神戸)

5. 第5回バイオナノフォトニクス研究会 "格子光シート顕微鏡による超解像 3D ライブイメージング― 次世代ライブイメージングの今後の展望 —"

清末優子, 2018/3/16 (大阪)

- 1. 本共同研究による主要な論文は現在投稿中である。
- 2. 本共同研究により化合物ライブラリーの提供を受けているが、今年度報告書の作成時点では実験が完了していないため、今回は報告することができなかった。
- 3. プレス発表: 産経新聞連載エッセイ "細胞の秘密を探す旅" 清末 優子, 2017/11/9 朝刊 24 面

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

	.,,,,	への進展が呼ばれた。 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
	研究課題	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
研究代表者	所属・職名・氏名	国立がん研究センター研究所ゲノム生物学研究分野・分野長・ 河野隆志
研究分担者	所属・職名・氏名	国立がん研究センター研究所ゲノム生物学研究分野・研究員・ 中奥敬史
(適宜、行を追加して	所属・職名・氏名	
ください。)	所属・職名・氏名	
	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・後藤典子
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	子が認いたい。 一大いない。 一大い。 一大いない。 一大、 一大い。 一大い。 一大い。 一大い。 一大い。	・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
【成 果 等】	author). Oncogenic fusion lung cancer through a 15;76(4):974-83.(本共同研究 2. Nakaoku T, Kohno T*, et a Resistance to Vandetanib. 【学会発表】 1. RET 融合遺伝子陽性肺がん塚 綾香、河野 隆志、第76 [2. Identification of mecha スター、中奥 敬史、河野 隆内 3. RET 融合遺伝子陽性肺がん	(co-first author), … Kohno T*, Gotoh N*(co-corresponding gene CD74-NRG1 confers cancer stem cell-like properties in IGF2 autocrine/paracrine circuit, Cancer Res. 2016, 究支援による発表). 1. A Secondary RET Mutation in the Activation Loop Conferring Nature Communications. 2018, 9, 625 ルにおける薬剤耐性メカニズムの解明, ポスター、中奥 敬史、大回日本癌学会学術総会、2017/09/29、国内 nisms of drug resistance in RET-rearranged lung cancer. ポ志、18th World Conferrence on Lung Cancer、2017/10/10、国ルにおける薬剤耐性メカニズムの解明, ポスター、中奥 敬史、河空会学術総会、2017/10/14、国内

平成29年度 金沢大学がん准展制御研究所 共同研究報告書

	平成 29 年度 金沢大学が	%心進展制御研究所 共同研究報告書	
	研究課題	腫瘍幹細胞を標的とした造血器腫瘍の治療戦略の確立	
研究代表者	所属・職名・氏名	佐賀大学・准教授・小島研介	
	所属・職名・氏名		
研究分担者	所属・職名・氏名		
(適宜、行を追加して	所属・職名・氏名		
ください。)	所属・職名・氏名		
受入担当教員	職名・氏名	教授・平尾 敦	
【研究目的】	持に必須とされる。FOXO MCL-1 の発現制御に関係する 高発現が認められ(Blood 2	55) は FOXO (Nature 2010;463:676) と並び、がん幹細胞の維と BMI-1 は、いずれもミトコンドリア膜電位安定にかかわるるが、MCL-1 は急性白血病、一部の悪性リンパ腫のがん幹細胞で009;114:5034)、造血器腫瘍の治療標的として期待される分子で阻害治療による造血器腫瘍の治療戦略の可能性について検証をお	
【研究内容・成果】	-	-]	
(図表・説明図等を入	急性骨髄性白血病については	、BMI-1 タンパク発現量が予後を規定することを明らかにし、そ	
れていただいても結		・コンドリア細胞死を p53 非依存性に誘導することを示した。患	
構です。)	· · · · · · · · · · · · · · · · · ·	幼弱な CD34+C381ow/-の幹細胞分画が BMI-1 阻害に対して感受け PI3K-AKT B1実による MCI-1 発現抑制によって誘道されること	
	性が高いこと、さらに細胞死は PI3K-AKT 阻害による MCL-1 発現抑制によって誘導されること を明らかにした。本研究成果は、Blood Cancer J. 2017;7(2):e527 に論文報告した。		
	【悪性リンパ腫について】		
【成果等】	悪性リンパ腫については、予後不良でかつ腫瘍発生メカニズムが比較的均一なマントル細胞リンパ腫(MCL)を対象に検討をおこなった。MCL は t (11;14) と Cyclin D 過剰発現を特徴とする難治性腫瘍で、再発例に BTK 阻害剤 ibrutinib (IBR)が保険適用となったが、単剤での効果は持続せず、有効な治療戦略の確立と耐性克服が求められる。BMI-1 はがん幹細胞 (CSC)の生存・維持に重要である。MCL では CSC が side-population (SP)分画に含まれ、この分画、特に再発時に BMI-1 発現が増加する。PTC596 は新規に合成された BMI-1 阻害剤である。PTC596 は固形癌を対象にした第一相試験で安全性が確認され、推奨第2相投与量(RP2D)も決定されているから、臨床応用を念頭に抗腫瘍効果を検証した。PTC596 は MCL 細胞に対する増殖抑制効果と細胞死誘導効果を示し、BMI-1 の基礎発現量が多いほど、PTC596 感受性が増加した。PTC596 感受性は p53 の変異ステータス、基礎タンパク量の影響を受けなかった。IBR に比較して PTC596 は SP 分画を高率に減少させ、これらの併用はミトコンドリア細胞死経路を増強した。本研究成果は、Oncotarget に修正投稿中である。 【今後の展開】CSC を標的とした分子標的治療は既存治療の限界を打破する、もしくはその治療効果を増強する可能性があり、今後の臨床応用が期待される。		
//////// · · · · · · · · · · · · · · ·	Fujisawa M, Matsue K, Weet S, <u>Kojima K</u> . The novel p53-independent mitochondr Blood Cancer J. 2017;7(2): 【学会発表】 ・ <u>Kojima K</u> , Maeda A, Okamo Downregulation of BMI-1 by in mantle cell lymphoma. をアトランタ) ・前田綾、木村晋也、小島研本癌学会学術総会(2017年9	oto S, Nishida Y, Cao L, Weetall M, Branstrom A, Kimura S. the small molecule PTC596 induces mitochondrial apoptosis 59th ASH Annual Meeting and Exposition (2017年12月9日、	

Maeda A, Nishida Y, Kimura S, <u>Kojima K</u>. Targeting of BMI-1 by the novel small molecule

研究会 (2018年1月26日、横浜)。

PTC596 in mantle cell lymphoma. Oncotarget 修正投稿中。

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書		
	研究課題	EB ウィルス関連上咽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
研究代表者	所属・職名・氏名	金沢大学附属病院耳鼻咽喉科頭頸部外科・講師・近藤 悟
attraction () I as the	所属・職名・氏名	金沢大学医学系耳鼻咽喉科頭頸部外科・教授・吉崎 智一
研究分担者	所属・職名・氏名	金沢大学医学系耳鼻咽喉科頭頸部外科・大学院生・井本 智子
(適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名	
\ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・高橋 智聡
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入れていただいても結構です。)	が明という。子は種類を関いている。子は種類を関いている。子は種類を関いている。子には一点をできた。のでは、一点のでは	た検討: する Sparc の発現と EBV 感染の指標である EBER の in situ 数のサンプルで行い、腫瘍細胞には EBER が発現し、周囲の細胞 ることを確認した。また EBV 陰性上咽頭癌症例では、腫瘍周囲の 弱く有意差を認めず、EBV 陽性の場合と EBV 陰性の場合では明ら めた。
【成 果 等】	【主な論文発表】	
	【学会発表】	
	【その他特筆事項】	
	I C VIETN 手ず決】	

	研究課題	皮膚発がんにおけるケモカインシステムとマクロファージ極
		性に関する分子病理学的研究
研究代表者	所属・職名・氏名	和歌山県立医科大学・教授・近藤稔和
TITLES () LEI de	所属・職名・氏名	和歌山県立医科大学・講師・石田裕子
研究分担者	所属・職名・氏名	和歌山県立医科大学・助教・野坂みずほ
(適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名	
(/cev.)	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・向田直史
研究内容・成果】	ファージの役割は未だ不明な 性質を有する heterogeneity 性が種々の疾患に関与するこ ージの極性に着目し、M1・	限に関与することが知られている.特に皮膚発がんおけるマクロな点が多い.マクロファージは単一の細胞集団ではなく,異なるな貪食単核細胞集団で,近年はM1・M2とマクロファージの極ことが知られている.そこで,皮膚発がん部におけるマクロファーがM2マクロファージ極性とケモカインレセプター発現との関連,皮膚がんの発症の分子メカニズムを解明することが本研究の
(図表・説明図等を入れていただいても結構です。)	C57BL/6 マウスを遺伝子背景用いた. 2) 腫瘍形成 DMBA(100 μ g/200 μ 1 acetor して腫瘍形成を誘導し、各マ2. 研究成果 1) 野生型マウスにおいて T 伝子発現が、未知理の皮発がんモデルにおいて 2)) 野生型マウスでは、内内 20 週目では薬 80%のマウスでは、カスでは、マクロファージの表別では、マクロファージの浸透性が優位であった(図 1). WT CD68 gated CD68 gated CD68 gated S02	性マクロファージ浸潤が顕著に観察された. しかしながら, KO マ 潜水有意に減弱していた. エマクロファージの極性 について検討したところ, WT マウスで潤が優位であった. 一方, KO マウスでは M1 型マクロファージのまた CX3CR1 発現が M2 型マクロファージの約 40%に認められた.
【成 果 等】	<u>T</u> . Essential involvement of	M, Kuninaka Y, Hemmi H, Sasaki I, Kaisho T, Mukaida N, Kondo of the CX3CL1-CX3CR1 axis in bleomycin-induced gulation of fibrocyte and M2 macrophage migration. Sci

Rep. 2017 Dec 4;7(1):16833. doi: 10.1038/s41598-017-17007-8.

【学会発表】

平成 29 年度はなし.

【その他特筆事項】 平成 29 年度はなし.

平成 29 年度 金沢大学がん准展制御研究所 共同研究報告書

	平成 29 年度 金沢大学が	入進展制御研究所 共同研究報告書
研究課題		PGAM による協調的解糖系制御解明と癌抑制の探求
研究代表者	所属・職名・氏名	京都大学医学部准教授 近藤祥司
	所属・職名・氏名	京都大学医学部ポスドク 三河拓己
研究分担者	所属・職名・氏名	京都大学医学部実験補助 柴田瑛莉
(適宜、行を追加 してください。)	所属・職名・氏名	
U (\ /E \ \ '\.)	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授 高橋 智聡
【研究目的】	半ばである。解糖系を標的とには、癌特異的な解糖系代謝ののワールブルグ効果への関正常細胞での PGAM 活性を温す PGAM の新規結合タンパク(キ見出した。これら基盤データ	進)は多くの癌で観察されるが、解糖系阻害剤の治療応用は道 する癌治療では重篤な副作用の危険性がある。この問題の克服 制御の深い理解が必要である。我々は、解糖系酵素 PGAM そのも 与に注目している。PGAM の病態に基づく制御機構を解明すれば、 字しつつ、PGAM を標的とした治療開発が可能となる。近年我々は、 ナーゼ X)との協調作用による解糖系代謝調節という生命現象を を確立し、新規アプローチ(これら結合阻害)による癌抑制と
【研究内容・成果】 (図表・説明図等 を入れていただ いても結構で す。)	PGAM は、解糖系酵素の 10 個の一つでしかない。しかし我々や他グループにより、PGAM の多面的生物学的効果(老化抑制、抗酸化力亢進、ミトコンドリア代謝抑制、解糖系代謝亢進、ペントースホスフェート経路活性化)が報告されている。我々も in vitro で PGAM 強発現による解糖系亢進・ミトコンドリア抑制効果(近藤他 Can Res 2005)を世界初報告したが、我々の心臓特異的 PGAM トランスジェニックマウスでは、ミトコンドリア代謝異常はあるが解糖系代謝は正常(奥田他 PlosONE 2013)で、in vitroデータと乖離が見られた。これらの知見より、PGAM による in vivo 生物学的効果の解明には、全身の網羅的解析が必要と考えられ、新たに PGAM-cKO マウスや全身発現型 PGAM-Tg マウスを作成し解析を進めている。現時点で意外だが、これら PGAM モデルマウスで in vivo 全身糖代謝(インスリン抵抗性、高脂肪負荷、経口糖負荷、ストレプトゾシン負荷など糖尿病や肥満検証など)は正常であった(未発表)。しかし我々は臓器・組織特異性の可能性を考慮し、最近 in vivo 皮膚での PGAM による劇的な代謝効果を見出した(未発表)。さらに、ある培養細胞でも in vivo 同様の PGAM による代謝効果の再現に成功した。これら in vivo と in vitro の条件を指標に、網羅的な分子探索を行い、新規 PGAM 結合因子としてキナーゼ X 同定に成功した。実際、PGAM とキナーゼ X は免疫沈降法により、その結合が証明された(図 1、未発表)。さらに PGAM とキナーゼ X の共発現や、キナーゼ X 阻害剤による、協調的代謝制御効果も確認された(未発表)。よって今後はその分子メカニズムの解明が急務となる。 図1 PGAM とキナーゼ X 結合	
【成 果 等】	The interplay between autopanticancer therapy. Biol 10.1111/brv.12337. 【学会発表】 2017年9月28日 Novel re. 2017年7月14日 細胞老化	における解糖系代謝とメタボライト がんと代謝研究会 札幌es in organismal ageing & Glycolysis in cellular senescence

	研究課題	国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	
777777人士士	所属・職名・氏名	東京大学・助教・坂本毅治	
研究代表者		未示八于 切状 次平秋山	
研究分担者	所属・職名・氏名		
(適宜、行を追加して	所属・職名・氏名		
ください。)	所属・職名・氏名		
	所属・職名・氏名		
受入担当教員	職名・氏名	教授・後藤典子	
【研究目的】	性を持つ治療法の開発が望ま することを明らかとしてきた ることから、MT1-MMP/Mint3 そこで本研究では、MT1-MMP/I に関わるかを明らかにするこ	J薬の持つ特異性と抗がん剤の持つ汎用性という一見矛盾する特れる。我々は MT1-MMP/Mint3 ががん組織特異的に HIF を活性化。HIF は抗がん剤耐性や幹細胞性に関わる遺伝子の発現を制御す阻害と抗がん剤併用はがん組織特異的な細胞障害が期待される。Mint3 による HIF 活性化が固形がんの抗がん剤抵抗性にどのようとで、がん組織標的薬によるターゲティングと抗がん剤による新たな治療法の開発を目指す。	
【研究内容・成果】	・Mint3 ノックダウン細胞の	樹立	
(図表・説明図等を入れていただいても結		int3 による HIF 活性化機構と抗がん剤抵抗性について解析を行	
構です。)		ターを用いて、ヒト乳がん細胞株 MDA-MB-231、MDA-MB-468、ヒ	
	ト上文	のMint3 安定ノックダウン細胞を作製した。	
	・Mint3 ノックダウン細胞を用いた in vitro での抗がん剤抵抗性の解析 まず、MDA-MB-231 細胞の in vitro でのドキソルビシン感受性について MTT アッセイを行った。 Mint3 のノックダウンは MDA-MB-231 細胞の in vitro でのドキソルビシン感受性に影響を与え なかった。		
	・Mint3 ノックダウン細胞を用いた in vivo での抗がん剤抵抗性の解析 次に、コントロールおよび Mint3 ノックダウン MDA-MB-231 細胞をヌードマウス皮下に移植し、マウスにドキソルビシンを投与した。その結果、コントロールに比べ Mint3 ノックダウン細胞ではドキソルビシン投与により腫瘍退縮がより顕著に起こったことから、Mint3 が in vivoでのドキソルビシン感受性に関わっていることが示唆された。そこで、コントロールおよびMint3 ノックダウン MDA-MB-231 細胞の腫瘍の遺伝子発現についてアレイ解析を行った。その結果、抗がん剤耐性との関連が報告されている遺伝子 X の発現が Mint3 ノックダウン腫瘍で有意に低下していた。一方、in vitroでの培養下では遺伝子 X の発現は腫瘍に比べて低く、Mint3 ノックダウンによる発現の影響を受けなかった。以上のことから、遺伝子 X が in vivoの環境特異的に Mint3 により発現誘導される可能性が示唆された。		
【成 果 等】	【主な論文発表】		
	【学会発表】		
	【その他特筆事項】		

平成 29 年度 金沢大学がん准展制御研究所 共同研究報告書

	十成 23 千度 並代八子が	ん進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	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
研究代表者	所属・職名・氏名	金沢大学大学院循環器病態内科学・医員・澤田 武
	所属・職名・氏名	がん進展制御研究所腫瘍制御研究分野・大学院生・中西宏佳
研究分担者	所属・職名・氏名	札幌医科大学・教授・佐々木泰史
(適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名	札幌医科大学・講師・山本英一郎
(/CCV 0/	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・源 利成
【研究目的】	分子学的発癌機構を明らかに されている Wnt 経路関連分 た、拡大内視鏡、narrow bar 組織学的所見との統合解析に の対象とすることを目的とす	
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	の対象とすることを目的とする。	
【成果等】	【主な論文発表】 【学会発表】 平成 30 年度の日本消化器病表する予定である。 【その他特筆事項】	週間(消化器病学会総会)、日本癌学会、欧州消化器病週間で発

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

		ん進展制御研究所 共同研究報告書
研究課題		がん幹細胞特異的代謝フラックスの解明
研究代表者	所属・職名・氏名	大阪大学・情報科学研究科・教授・清水 浩
THE RES A. LET HA	所属・職名・氏名	大阪大学・情報科学研究科・教授・松田史生
研究分担者	所属・職名・氏名	大阪大学・情報科学研究科・博士前期課程学生・荒木千絵
(適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名	大阪大学・情報科学研究科・博士前期課程学生・上原ひかる
(/CCV 0)	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・髙橋智聡
【研究目的】	転移や薬剤抵抗性の制御が十 形質の獲得機序とがん細胞が れている。昨年度までに、中 を測定する代謝モデル構築、 ックスを決定するシステムを 損マウス軟部腫瘍由来細胞株 細胞に対して代謝フラックス	歩した今日においてもがん死が減少しないのは、がんの再発・一分に実現されていないためである。最近、このようながん悪性獲得し得る「未分化性」、すなわち、がん幹細胞の関連が注目されて謝物質中の「3C標識パターンから細胞内代謝フラックス分布培養条件、分析条件設定など、炭素中心代謝経路においてフラ開発した。本年度では、これまで確立した手法を用いて、p53欠と p53 変異体のフラックス比較解析、および、異なるがん種の解析を実施した。また、標的代謝酵素の阻害を予測することをコン解析法を基盤構築を行った。
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入れていただいても結構です。)	中ツ(p53KO) 時のでは株の 用化の代が明から、デて外域に対して、	*生物学的に解析し、がん悪性進展制御法の新たなブレークスルロ代謝のフラックス解析システムを構築し、これを用いてがんクス解析を行った。p53 欠損マウス軟部腫瘍由来細胞株の「3°C代記・1-13°C]グルコースを投与したp53 ノックアウトマウス軟部腫瘍由恐内代謝中間体を経時的に回収し、GC-MS を用いて「3°C 標識濃縮タから解析プラットフォーム(OpenMebius)を用いて代謝フラックこの細胞に正常なp53 の機能を一部保持したp53 変異体を再構所を行った。その結果、変異型p53 再構成株ではコントロール株経路のフラックスには変化がないのに対し、解糖系のフラックスには変化がないのに対し、解糖系のフラックスに、グルタミンの取り込みは80%に減少しており、TCAサイクスも70%程度に減少していた。「10代謝を解析することを目的としてヒトがん細胞3 株の代謝フを試みた。MCF7(ヒト乳がん由来細胞株)、HeLa(ヒト子宮頸肝がん由来細胞株)を培養した。[1-13°C]グルコースを含む培地を拡大を推定に成功した。解糖系とペントースリン酸経路の分岐比をな差はなかったが、TCAサイクルに流入する代謝フラックスにきたもにリンゴ酸NADPで対かに表しているのでは、アリンで予測することが可能となれば、予測結果を表した。場別では、がんの悪性進展メカニズムの理解や新しい創薬が期待される。本研究では、これらの目的に対してがん細胞のるがカムワイドな代謝反応を計算機上で統一的に取り扱うことので議論可能なプラットフォームが構築できた。
【成 果 等】	central carbon metabolism, 【学会発表】 1. 上原ひかる、荒木千絵、ラックス解析によるがんば、つくば国際会議場エス・前田昂亮、岡橋伸幸、枚	Toya, Hiroshi Shimizu, Learning from quantitative data to understand <i>Biotechnology Advances</i> , 35 , 971-980 (2017) 前田昂亮、岡橋伸幸、松田史生、高橋智聡、清水浩、 ¹³ C 代謝フ細胞中心代謝株間比較、第 65 回質量分析総合討論会 2017 つくポカルつくば、5 月 17-19 日 2017 年 公田史生、清水浩、代謝阻害剤投与直後のがん細胞中心代謝変動シフト解析、第 65 回質量分析総合討論会 2017 つくば、つくば国ご、5 月 17-19 日 2017 年

- 3. 荒木千絵、前田昂亮、岡橋伸幸、松田史生、清水浩、抗がん剤処理によるがん細胞代謝 フラックス変動の解析、第 5 回がんと代謝研究会、北海道大学、7 月 13 日、14 日 2017 年
- 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、¹³C 代謝フラックス解析を用いた中央代謝のがん細胞株間比較、第 5 回がんと代謝研究会、北海道大学、7月13日、14日2017年
- 5. 岡橋伸幸、河野晋、松田史生、高橋 智聡、清水 浩、In vitro 腫瘍細胞における中心代 謝経路の¹³C 代謝フラックス解析法の構築、第 42 回日本医用マススペクトル学会年会、 一橋講堂、9月 14日、15日 2017 年
- 6. 上原ひかる、荒木千絵、前田昂亮、岡橋伸幸、河野晋、松田史生、高橋智聡、清水浩、 がん幹細胞特異的代謝フラックスの解明、金沢大学がん進展制御研究所国際シンポジウム、金沢市、10月 25日、 2017 年
- 7. 荒木千絵、前田昂亮、岡橋伸幸、松田史生、清水浩、パクリタキセル処理に対するヒト 乳がん由来細胞株 MCF-7 の代謝アダプテーション、第 11 回メタボロームシンポジウム、 ホテル阪急エキスポパーク、11 月 13-14 日、 2017 年
- 8. 上原 ひかる、荒木 千絵、前田 昂亮、岡橋 伸幸、松田 史生、清水 浩、がん細胞株間 の中央代謝フラックス比較、第 11 回メタボロームシンポジウム、ホテル阪急エキスポパーク、11 月 13-14 日、 2017 年

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

	平成 29 年度 金沢大学が	ん進展制御研究所 共同研究報告書 	
	研究課題	線維芽細胞による ECM 代謝を介した腫瘍形成・がん幹細胞維 持機構の解明	
研究代表者	所属・職名・氏名	慶應義塾大学・講師・下田将之	
研究分担者 (適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名	慶應義塾大学・准教授・大塚崇	
	所属・職名・氏名	順天堂大学・客員教授・岡田保典	
	所属・職名・氏名		
	所属・職名・氏名		
受入担当教員	職名・氏名	教授・平尾 敦	
【研究目的】	炎症細胞などの多種の細胞、 その中でも、がん関連線維芽 構成成分であり、がんの進展 一タに基づきマウスおよびヒ	分から構成され、間質成分としては線維芽細胞、血管内皮細胞、細胞膜表面や細胞間に局在する細胞外マトリックスが含まれる。 細胞(cancer-associated fibroblast: CAF)は腫瘍間質の主要な に関わることが知られている。本研究では、マイクロアレイデ ト由来 CAF において高発現するメタロプロテアーゼを同定・検)細胞 - 間質相互作用における CAF 特異的メタロプロテアーゼ かにすることを目的とする。	
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	CAF はがん間質の主要な構成成分であり、種々のがん組織において、CAF の存在が悪性度と相関していることが報告されている。我々は、これまで内因性のメタロプロテアーゼ阻害因子である Tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP)分子を欠損した Timp 欠損線維芽細胞の解析を行い、Timp 欠損線維芽細胞がメタロプロテアーゼ活性依存的にヒト CAF に類似した活性化線維芽細胞形質を呈することを報告してきた。CAF 形質維持にはメタロプロテアーゼ活性が重要と考えられるが、本活性を制御する CAF 由来メタロプロテアーゼについては明らかとなっていない。本研究では、マイクロアレイデータに基づきマウス由来 CAF において発現が変動するメタロプロテアーゼおよび TIMP 分子の探索を行い、数種のメタロプロテアーゼがマウス由来 CAF において高発現していることを見出した。マウス由来 CAF において高発現するメタロプロテアーゼのうち matrix metalloproteinase-13 (MMP-13)はヒト肺がん由来初代培養CAF においても発現上昇が見られるとともに、その発現レベルは CAF マーカーの一つである alpha-smooth muscle actin (α-SMA) の発現レベルと正の相関が認められた。さらに、腫瘍形成における間質細胞由来 MMP-13 の役割を解析するため、マウスがん細胞株を野生型あるいは Mmp13 遺伝子欠損マウスの皮下に移植し、それぞれのマウスにおける腫瘍発育や組織学的な変化を観察・比較した。野生型マウスでは明瞭な腫瘍が形成されるのに比べて、Mmp13 遺伝子欠損マウスでは腫瘍の有意な縮小が認められるとともに、組織学的にα-SMA 陽性間質細胞の減少が見られた。以上の結果から、MMP-13 は CAF 形質維持や腫瘍形成において重要な役割を果たしている可能性があると示唆される。現在野生型および Mmp13 遺伝子欠損線維芽細胞を用いて、腫瘍形成およびがん (幹) 細胞 - 間質相互作用における CAF で発現する MMP-13 の意義について解析を進めている。		
【成 果 等】	Res. 2017;1864:1989-2000. 【学会発表】 <u>下田将之</u> 、依田昌樹、大塚崇	oproteinases in extracellular vesicles. Biochim Biophys Acta Mol Cell 、岡田保典 線維芽細胞による ECM 代謝を介した腫瘍形成・が 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	

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

究課題	潜在転移乳がん細胞の幹細胞性を特徴づける MEF 2 シグナルの解析
所属・職名・氏名	神戸大学大学院医学研究科・准教授・下野洋平
所属・職名・氏名	金沢大学がん進展制御研究所・特任助教・西村建徳
所属・職名・氏名	神戸大学大学院医学研究科・大学院生・向山順子
所属・職名・氏名	神戸大学大学院医学研究科・教授・南博信
所属・職名・氏名	神戸大学大学院医学研究科・教授・鈴木 聡
職名・氏名	教授・後藤典子
	所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名

【研究目的】

乳がんの転移は、時として治療による寛解後 10 年以上経過してから出現するが、再発転移に中心的な役割をもつ「潜在転移乳がん幹細胞」を特徴づける分子機構は明らかではない。本研究では、原発巣と転移巣よりそれぞれ分離した乳がん幹細胞の遺伝子およびマイクロ RNA 発現の比較検討結果をもとに、低酸素応答、マイクロ RNA と MEF2 シグナルに特に着目して、潜在転移がん幹細胞に特有の幹細胞性の維持機構を解析する。原発巣と比べ治療が極めて困難である転移巣のがん幹細胞の性質を解明する研究を通じて、乳がん患者の予後改善に大きく貢献できる知見を得ることを目指す。

【研究内容・成果】 (図表・説明図等 を入れていただ いても結構で す。)

乳がん手術検体を用いて樹立した潜在転移 乳がん幹細胞の解析モデル(**図1**)を用いて、 潜在転移した乳がん幹細胞で特徴的に発現す る一連の遺伝子およびマイクロRNAを解明して きた。これらの検討から、潜在転移乳がん幹細 胞は、1. 細胞増殖シグナル活性の低下、2. 低 酸素応答の低下 3. 転写因子 MEF2 シグナルの 亢進、4. 上皮間葉転換の抑制、の点で原発巣 のがん幹細胞とは大きく異なることが明らか



図1. 転移乳がん幹細胞の解析モデル

ヒト乳がんの手術検体を直接マウスの乳腺領域に移植したヒト乳がん 異種移植マウスでは、肺や肝臓などの臓器に肉眼的には確認できない 微小な転移巣がみられる。本モデルの転移がん幹細胞は、細胞周期の 進行が抑えられた潜在転移状態にある。

になった。今年度は、低酸素応答、マイクロ RNA と MEF2 シグナルに特に着目して、以下の検討を行った。

1. 低酸素応答誘導性 miR-210 による幹細胞性制御因子 MEF2A の発現抑制

低酸素応答や、それにより誘導される転写因子 HIF1 は、がんの進展に重要である。ヒト乳がん異種移植マウス由来の乳がん細胞では、マイクロ RNA miR-210 の発現が低酸素応答により約60倍に発現上昇した。つぎにルシフェラーゼアッセイにて、MEF2Aの miR-210 標的候補配列をもつルシフェラーゼプラスミドの活性が、miR-210 により約60%抑制されることを確認した。同様の解析にて、さらに複数の miR-210 標的候補遺伝子を同定した。MEF2A は幹細胞性制御遺伝子 KLF の発現上昇を誘導すると考えられることから、今後さらに検討を進める。

2. 潜在転移がん幹細胞で発現低下しているマイクロ RNA による転移抑制作用

潜在転移乳がん幹細胞で発現が低下している一連のマイクロ RNA を対象として、免疫不全マウスを用いた肝転移モデルによる検討を行った。潜在転移がん幹細胞で発現低下しているマイクロ RNA の強制発現により、乳がん細胞の潜在転移が顕著に抑制された(図2)。

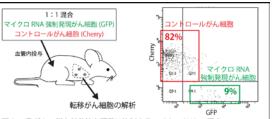


図2. 乳がんの潜在転移能を顕著に抑制するマイクロ RNA の同定 転移乳がん幹細胞で発現低下しているマイクロ RNA を強制発現した乳がん細胞 とコントロール乳がん細胞を 1:1に混合し、マウスに経静脈的に移植した。 肝臓に生着したがん細胞の大部分はコントロールがん細胞であった。 したがって、このマイクロ RNA は転移巣の成立を阻害することが示唆される。

したがって、同定されたマイクロ RNA は、がん幹細胞の潜在転移の成立に必須であることが示唆される。

【成 果 等】

【主な論文発表】

- 1. Kondo H, Shimono Y, Mukohyama J, Tanaka Y, Shibuya N, Minami H, Kakeji Y, Suzuki A. Discordance of *MCM7* mRNA and its intronic microRNA levels under hypoxia. *Anticancer Research*, 37(7): 3885-3890, 2017.
- 2. Kunimasa K, Nagano T, Shimono Y, Dokuni R, Kiriu T, Tokunaga S, Tamura D, Yamamoto M, Tachihara M, Kobayashi K, Satouchi M, Nishimura Y. Glucose metabolism targeting therapy and withaferin A are effective for EGFR-TKI induced drug tolerant persisters. *Cancer Science*, 108(7): 1368-1377, 2017.
- 3. Tatara T, Mukohara T, Shimono Y, Yamasaki T, Imamura Y, Funakoshi Y, Toyoda M, Kiyota N, Takao S, Kono S, Kakeji Y, Minami H. Expression of programmed death-1 in sentinel lymph nodes of breast cancer. *Journal of Surgical Oncology*, in press, 2017.
- 4. Mukohyama J, <u>Shimono Y</u>, Minami H, Kakeji Y, Suzuki A. Roles of microRNAs and RNA-Binding Proteins in the Regulation of Colorectal Cancer Stem Cells. *Cancers*, 9(10): e143, 2017.

【学会発表】

- Shimono Y, Isobe T, Turtoi A, Mukohyama J, Mukohara T, Suzuki A, Castronovo V, Minami H. MicroRNA-mediated upregulation of the WNT signaling activities in human breast cancer stem cells. Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, 2017.
- 2. Mukohyama J, Iwakiri D, Zen Y, Mukohara T, Minami H, Kakeji Y, <u>Shimono Y</u>. Detection of EBV BamHI W region in surgical cancer specimens is a useful method to evaluate the risk of lymphomagenesis inpatient derived-tumor xenograft. Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, 2017.
- 3. <u>下野 洋平</u>、西村 建徳、向山 順子、渋谷 尚樹、鈴木 聡、後藤 典子. 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. 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、2017 年.
- 4. <u>下野 洋平</u>、 久森 重夫、 Piero Dalerba, 向山 順子、磯部 大地、南 博信、鈴木 聡. Coordinated action of miRNAs for the regulation of normal and colon cancer stem cells. 第 15 回 幹細胞シンポジウム、2017 年.
- 5. <u>下野 洋平</u>、久森 重夫、磯部 大地、向山 順子、渋谷 尚樹、掛地 吉弘、南 博信、鈴木 聡. Identification of cancer-stem-cell-suppressor microRNAs through the analyses of human epithelial differentiation program. 第 76 回日本癌学会学 術総会、2017 年.
- 6. 向山 順子、<u>下野 洋平</u>、磯部 大地、Qingjiang Hu、渋谷 尚樹、 山下 公大、三森 功士、南 博信、掛地 吉弘、鈴木 聡. miR-221-QKI5 axis regulates tumorigenicity of human colorectal cancer stem cells. 第 76 回日本癌学会学術総会、2017 年.
- 7. <u>下野 洋平</u>、久森 重夫、Piero Dalerba、磯部 大地、向山 順子、 渋谷 尚樹、 掛地 吉弘、南 博信、鈴木 聡. Coordinated up-regulation of multiple microRNAs with tumor suppressive properties during human colon epithelial differentiation. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会、2017 年.
- 8. <u>下野 洋平</u>、西村 建徳、鈴木 聡、後藤 典子. オルガノイド培養を用いた転移乳 がん幹細胞の幹細胞性制御機構の解析. 第1回がん三次元培養研究会、2017年.

【その他特筆事項】

特になし。

	平成 29 年度 金沢大学	がん進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	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
研究代表者	所属・職名・氏名	奈良先端科学技術大学院大学・教授・末次志郎
	所属・職名・氏名	
研究分担者	所属・職名・氏名	
(適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名	
< /c≥ (°,)	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・高橋智聡
【研究目的】	られる細胞突起との関連が モデルとなるがん抑制遺伝- その結果、IRSp53 のタンパ	ペク質は細胞突起を形成するタンパク質であり、がん細胞に多く!示唆されるがその役割は明らかではない。私たちは、がん形成の子 TP53 の欠損マウスの発がんにおける IRSp53 の影響を調べた。ク質量の減少は、TP53 欠損マウスの寿命を延ばすことを見いだい見を踏まえ、IRSp53 のがん形成における役割をマウスの病理解心に検討する。
研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 講です。)	ウスと、高頻度のがん発症に合わせる事により、フィロポートの結果、フィロポートのにはすことをみいたのものに重要であるか、あらればする血におけは見られなかった。 は著なかに、CRISPR/Cas9のト細胞を作成した。 アウトがよりであるがであるがでは、でであるがです。 大変があるがであるがであるがです。 であるが、では、CRISPR/Cas9のようでは、 でのでは、ででは、これでは、 でのでは、では、 でのでのでは、 でのでのでは、 でのでは、 でのでのでのでのでは、 でのでのでのでのでのでのでのでのでのでのでのでのでのでのでのでのでのでのでの	形成を誘導するタンパク質をコードする遺伝子のノックアウトでより短命化するがん抑制遺伝子欠損ノックアウトマウスを掛けず、ア形成タンパク質のがん形成における影響を調べた。生存で、ア形成タンパク質の欠損は、がん抑制遺伝子欠損マウスのでした。平成29年度には、フィロポディア形成が、がん細胞をひれて、がん細胞と周囲の組織との相互作用に重要であるか、なの様子を検討することなどによって調べた。血管新生についてはた。次に、がん細胞を正常マウスに移植することを試みた。移れ系を用いて3種のがん細胞のフィロポディア形成タンパク質がたらの細胞はいずれも増殖に低下が見られた。また、フィロストの細胞はいずれも増殖に低下が見られた。また、フィロストの一般はいずれも増殖に低下が見られた。また、フィロストの一般はいずれも増殖に低下が見られた。また、フィロストルの一般にある活性があることも見出した。実際に、フィロストルの一般にある分泌小胞の測定を行なっており、この結果をある。
【成 果 等】	【主な論文発表】 【学会発表】 BAR ドメインとリポクオリ 末次 志郎 2017.06.13	ティによる細胞膜の形態制御、第 69 回日本細胞生物学会大会、
	【その他特筆事項】	

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

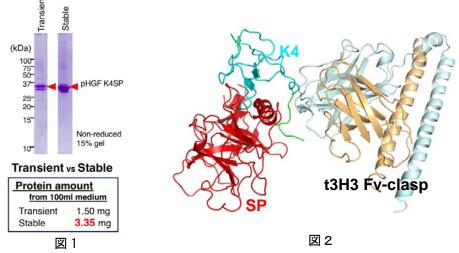
		・ん進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	hiPS 細胞誘導 3 次元腎組織の血管内皮網状構造を応用した in vitro 灌流培養系および Wilms 腫瘍転移モデル構築研究
研究代表者	所属・職名・氏名	東京女子医科大学・先端生命医科学研究所 助教 関谷佐智子
	所属・職名・氏名	
研究分担者	所属・職名・氏名	
(適宜、行を追加してください。)	所属・職名・氏名	
\/_a(_)	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授 松本 邦夫
【研究目的】	~20%程度は癌抑制遺伝子 WI 発症も含まれる。Wilms 腫瘍 ことから、多くの患者の救済 の網状構造を持つ iPS 細胞申 児腎組織灌流培養系、さらに カニズムの解明と治療法開発	発症する後腎芽組織から発生する小児癌である Wilms 腫瘍の 10 この変異伴うが、他の遺伝子やエピジェネティックな変化によるは転移しやすく、転移抑制治療法の開発はより治療効果を高める に繋がる。本研究では、血管構築の前段階である血管内皮細胞 日来胎児腎細胞の 3 次元組織に対し、灌流培養系技術を応用、胎 上小児癌である Wilms 腫瘍の転移モデル構築を目的とし、転移メ に有用なツール開発を目的としている。
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	ルガイ参ア語では ボースルンは ボースルンは ボースルンは ボースルンは ボースルンは ボースルンは ボースルンは ボースルンは ボースルンは ボースルンは ボースルンは ボースルンは ボースルンは ボースルンは ボースルンは ボースルンは ボースルンは ボースルンは ボースルンが ボースのに ボームのに ボースのに 、 ボースのに ボーるの ボーるの ボーるの ボーるの ボーるの ボーるの ボーるの が ボーるの ボーるの ボーるの ボーるの ボーるの ボーるの ボーるの ボーるの ボーるの ボーるの	下誘導と灌流試験:本研究では、iPS 細胞誘導腎臓細胞によるオきを行うことが基盤になるため、まず iPS 細胞からの腎オルガノような系を確立した。Takasato らによって報告されている手法をブノイド誘導を安定的に行える条件を設定した。iPS 細胞への Wnt そ 19 日以降よりネフロン構造と蛍光標識 LTL レクチンに特異的なされる。誘導因子の添加時期を変化させるとネフロン誘導率低い必要であることが明らかになった。また、ネフロンだけでなく1 陽性細胞の誘導も同時に行われていることが確認された。流刺激を3日間行い、遺伝子変化や形態的に尿細管構造の変化をジルでは大きくないが形態的に変化が見られたため、今後刷子縁をつりに大きくないが形態的に変化が見られたため、今後刷子縁を一の遺伝子レベルの発現確認をする予定である。 灌流試験:本研究では転移先と原発癌の関係を明らかにするたき試作、試運転をし、チャンバーと培養液供給タンク、および排と与えるため全体の設置設定から厳密に行う必要があることが分の方を受けた luciferase 遺伝子導入 Wilms 腫瘍由来細胞の検欠元培養よりもコラーゲンゲル内にて3次元構造を構築した際の、放度は高いが、1~2個程度では検出が不可能なため、蛍光標識を表された。
	胞を腎オルガノイドと共培養 ト上の3次元組織内癌細胞が よそ5日後から数個の細胞が	3考えられた。また、コラーゲンゲルにて 3 次元構造とした癌細をし、腎オルガノイド形態の変化を解析中である。セルインサード下部 well へ遊走脱落頻度する日数と頻度を解析したところ、おが脱落、増殖することが明らかになり、従って腎オルガノイドをバーへの転移には少なくとも 5 日以上の灌流期間を要すること
【成 果 等】	【主な論文発表】 Introduction of vasculatur Sekiya S., Shimizu T., Inf	re in engineered three-dimensional tissue. Flamm Regen. 2017 37:25.
		本邦夫、清水達也 "hiPS 細胞誘導 3 次元腎組織を応用した in vitro 瘍転移モデル構築研究 金沢大学 がん進展制御研究所 共同利 ム 2017 Oct. 金沢市
	【その他特筆事項】	
	なし	

	平成 29 年度 金沢大字が	K. 人進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	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
研究代表者	所属・職名・氏名	早稲田大学・教授・仙波憲太郎
	所属・職名・氏名	
研究分担者	所属・職名・氏名	
(適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名	
\/_GV.0/	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・鈴木健之
【研究目的】	移制御遺伝子の同定が行われ 作製されたものがほとんどて がん悪性進展機構の解明には ークの解析が重要である。そ テップを模倣できる同所性移	いては、高転移がん細胞株を樹立し、その遺伝子発現解析から転れてきた。しかし、使用された高転移株は血中移植手法を用いてであり、転移後期過程の一部を反映させたものでしかなかった。は、発症から転移までの過程を体系的に制御する遺伝子ネットワーで、本研究では、多段階的に進行する遠隔転移のすべてのストローをはまる。 は、ないエピゲノム変化を包括的に解析することを目的とする。
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	から転移株を樹立した。さら次に、尾静脈注射手法を用いいた遺伝子発現解析を行った。 ignature genes (MSGs) は、原的な MSGs が存在することを らの遠隔転移を模倣することを らの遠隔転移を模倣することを と考えられた。さらに、遺伝 伝子発現相関の中心となる h いた既知転移制御遺伝子のほことがわかった。現在、これらの遺伝子の発現活性化 同所性高転移株において、DN	IDA-MB-231 を免疫不全マウスへ同所性移植し、肺転移した細胞に、移植を繰り返すことによって同所性肺高転移株を作製した。で作製した肺転移株と比較する形で、DNA マイクロアレイを用た。結果として、同所性肺高転移株で発現変動する Metastasis 尾静注肺高転移株のそれらとは大きく異なり、同所性移植に特徴が明らかとなった。このことから、同所性高転移株では原発巣かによって、より早期の転移現象を反映した MSGs を抽出できた。子発現の相関性に着目したネットワーク解析を行うことで、遺血b遺伝子の抽出に成功した。興味深いことに MSGs に含まれてきとんどが、この hub 遺伝子や hub 近傍遺伝子として抽出されるいらの遺伝子が転移プロセスで果たす役割を解析するとともに、にどのようなエピゲノム変化が関与しているのか調べている。NA メチル化アレイやヒストン修飾抗体による ChIP seq 法などをストン翻訳後修飾の変化をゲノムワイドに調べ、転移に伴うエピげである。
【成 果 等】	regulatory networks o orthotopic transplantal of oncology, 50, 497-5 2) T Ihara, Y Hosokawa, K N Goshima, E Ito, S Wat tumorigenic genes." (3) T Matsudaira, K Mukai, Miyamura, H Nishina, Taguchi, "Endosomal phoproliferating cells", 4) K Ishikawa, Y Kobayashi trap vector system for genes", Biology Metho 【学会発表】 1) 藤元次郎、仙波憲太郎、ん分子標的治療学会、九 2) 石川公輔、仙波憲太郎、沿細胞の単離、日本がん分3) 中山淳、藤元次郎、仙波龍杯が、日本がん分子標 4) 若林佑太朗、石川公輔、	jimoto, S Watanabe, K Semba "Comparative analysis of gene f highly metastatic breast cancer cells established by tion and intra-circulation injection." International journal 04, 2017 Kumazawa, K Ishikawa, J Fujimoto, M Yamamoto, T Muramkami, anabe and K Semba "An in vivo screening system to identify Oncogene 36, 2023-2029, 2017 T Noguchi, J Hasegawa, T Hatta, S Iemura, T Natsume, N J Nakayama, K Semba, T Tomita, S Murata, H Arai, T posphatdylserine is critical for the YAP signaling pathway in Nature Communications 8, 1246, 2017 i, Y Wakabayashi, S Watanabe, K Semba, "A highly sensitive isolating reporter cells and identification of responsive ds & Protocols. (in press) 新規 HER2 切断酵素 TMPRSS4 の同定と活性化機構の解析、日本が州大学、2017 年 6 月 15 日 P13-1 高感度トランスポゾントラップベクターを用いた遺伝子発現応答子標的治療学会、九州大学、2017 年 6 月 15 日、P4-6 憲太郎、Multi-organ metastasis 誘導遺伝子 HNF1B の同定と機的治療学会、九州大学、2017 年 6 月 15 日、P10-5 山波憲太郎、高感度トランスポゾントラップベクターを用いた薬の開発、日本がん分子標的治療学会、九州大学、2017 年 6 月 15

- 5) 中山淳、伊藤恵美、藤元次郎、渡辺慎哉、仙波憲太郎、同所性移植手法を用いた乳が ん高転移株の作製とその Transcriptome 解析,日本がん転移学会、大阪、2017年7月27日、 P05-3
- 6) ジョンソンムン,中山淳、二口充、仙波憲太郎、尾動脈注射手法を用いた Luminal 乳がん 骨高転移株の作製、日本がん転移学会、大阪、2017年7月27日、P08-3
- 7) 藤元次郎、伊藤恵美、渡辺慎哉、岡島梓、仙波憲太郎、膜貫通型プロテアーゼ TMPRSS4 による ErbB 受容体チロシンキナーゼの切断機構、日本癌学会学術総会、横浜、2017 年 9 月 30 日、P-3031
- 8) 石川公輔、仙波憲太郎、高感度トラップベクターを用いたレポーター細胞の作製、日本癌 学会学術総会、横浜、2017年9月30日、P-3020
- 9) 岡島梓、藤元次郎、仙波憲太郎、受容体型チロシンキナーゼに対するⅡ型膜貫通セリンプロテアーゼの切断活性の解析、日本癌学会学術総会、横浜、2017年9月29日、E2059
- 10) 多ヶ谷紘壮、石川公輔、渡辺慎哉、仙波憲太郎、乳がん遺伝子解析のためのマウス in vivo 発現系の開発、日本癌学会学術総会、横浜、2017年9月28日、P1027
- 11) 中山淳,松井貴香,藤元次郎,二口充,仙波憲太郎,Multi-organ metastasis 誘導遺伝子 HNF1B の同定と機能解析,第 76 回日本癌学会学術総会,横浜,2017 年 9 月 28-30 日,口頭発表:J-3104
- 12) Jun Nakayama, Jiro Fujimoto, Kentaro Semba, Establishment and Characterization of highly metastatic breast cancer cell line by orthotopic transplantation, EACR-MRS Conference Seed and Soil: In Vivo Models of Metastasis, Harnack House Berlin Germany, 27-29 November 2017, poster presentation: No. 70
- 13) 中山淳, 有川浩司, 丸山徹, 松永浩子, 依田卓也, 細川正人, 神原秀記, 竹山春子, 仙波憲太郎, 腫瘍内微小不均一性解明のための空間トランスクリプトミクス解析技術の確立, 第40回日本分子生物学会年会, 神戸, 2017年12月6日-9日, 口頭発表:4AT-27-12, ポスター発表:3P-1362
- 14) 岡島梓,藤元次郎,仙波憲太郎,II 型膜貫通セリンプロテアーゼの新規基質としての受容体型チロシンキナーゼの同定,第 40 回日本分子生物学会年会、神戸、2017 年 12 月 6 日-9 日, 口頭発表:4P1T25-05,ポスター発表:3P-0154

- 1) 中山淳,松井貴香,藤元次郎,二口充,仙波憲太郎,"Multi-organ metastasis 誘導遺伝子 HNF1B の同定と機能解析",文部科学省新学術領域研究学術研究支援基盤形成「先端モデル動物支援プラットフォーム」若手技術講習会 2017,長野,2017 年 9 月 7-9 日,口頭発表:0S-6,ベストトーク賞
- 2) 中山淳、藤元次郎、仙波憲太郎、Multi-organ metastasis 誘導遺伝子 HNF1B の同定と機能解析、日本がん分子標的治療学会、九州大学、2017年6月15日、P10-5, ポスター賞

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書		
研究課題		プロテアーゼ切断による HGF 活性化の構造的基盤
研究代表者	所属・職名・氏名	大阪大学蛋白質研究所・教授・高木淳一
研究分担者	所属・職名・氏名	大阪大学蛋白質研究所・助教・有森貴夫
(適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名	大阪大学蛋白質研究所・大学院生・岩佐奈実
受入担当教員	職名・氏名	教授・松本邦夫
【研究目的】	合して増殖シグナルを ON にて耐性の獲得に寄与しており、するための阻害剤の開発が精ように Met レセプターに結合いう疑問に答えるに十分な構る構造生物学的な解析と生化をめざす。	コシンキナーゼ型受容体である Met (または c-Met ともいう)に結ける。このシグナリング経路の異常な活性化はがんの進展や薬剤それゆえ、HGF-Met シグナリング経路の活性状態をコントロールが力的に行われている。しかし、細胞外領域において HGF がどの合し、細胞膜部分を経て、細胞内へとそのシグナルを伝えるかとは学的情報はまだ得られていない。本研究では、共同研究によど学的、細胞生物学的解析の融合を通して、これらの機構の解明
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入れていただいても結構です。)	HGF は、 1 つの N 末端ドメイン (N)、 4 つの Kringle ドメイン (K1~K4)、 1 つの Serine Protease 様ドメイン (SP) という 6 つのモジュールが数珠つなぎになったマルチドメイン蛋白質であり (図 1)、モジュール間の可動性のために溶液中で一定の構造を取らず、その全体の立体構造の決定は未だに達成されていない。昨年度の本研究で、人工的な Factor Xa 切断部位を導入することで同一のコンストラクトから切断型(活性型)と未切断型(不活性型)両方の HGF 蛋白質を調製し、6 種類のモノクローナル抗体を樹立したが、このうち、活性型の HGF のみに結合する 1 0 おと 1 1 に変し、作年度の成果として報告した。今年度はとくに活性化に重要な切断部位を含む断片 (K4SP)の様々な条件での結晶化のため、同フラグメントを安定発現する細胞株の樹立を行った。Expi203F 細胞を用いて樹立したこの細胞株の培養上清から、コンスタントに結晶化品質の K4SP を精製でき、その終了は一過性発現に比べて二倍以上であった(図 1 1)。これとは別に、結晶化のための複合体化に用いる抗体を、通常の Fab ではなく、当研究室で開発した新規フラグメント抗体である 1 1 に変換して利用したところ、新たな抗体 1 1 の 1 2 の 1 3 の 1 4 の 1 4 の 1 5 の 1 6 の 1 6 の 1 7 の 1 7 の 1 8 の 1 9 の 1	
	(kDa) 1007 75 50- 37 pHGF K4SP 25- 20- 15- Non-reduced 15% gel	K4



【成 果 等】

【主な論文発表】

Arimori, T, Kitago, Y, Umitsu, M, Fujii, Y, Asaki, R, Tamura-Kawakami, K, and Takagi, J. (2017) Fv-clasp: An artificially designed small antibody fragment with improved production compatibility, stability, and crystallizability. Structure, 25, 1611-1622. doi. 10.1016/j.str.2017.08.011

【学会発表】

岩佐奈実、有森貴夫、酒井克也、松本邦夫、加藤幸成、高木淳一、X 線結晶構造解析による HGF の活性変換メカニズムの解明、第 18 回日本蛋白質科学学会(新潟)(予定)

研究代表者	研究課題	神経膠芽腫およびその幹細胞におけるヒトサイトメガロウイ
研究化事者		ルス感染と CCR2 シグナルの役割の解明
如九八红石	所属・職名・氏名	北陸大学・講師・武本眞清
	所属・職名・氏名	北陸大学・研究員・村山次哉
研究分担者	所属・職名・氏名	
(適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名	
(/cgv.,)	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・向田直史 (HCMV) 感染による、神経膠芽腫 (GBM) の悪性化やがん幹細胞
【研究内容・成果】	形質獲得の分子メカニズムが明らかになりつつある。しかし GBM の悪性化に様々な形で寄与するケモカイン類の産生が、HCMV 感染に伴ってどのように変化するかについては明らかでない。そこで我々は、HCMV を感染させた GBM 細胞で発現上昇するケモカイン類の同定と、ケモカイン遺伝子の発現制御を担うウイルス因子を明らかにすることを目的として研究を行った。	
(図表・説明図等を入れていただいても結構です。)	するケモカイン類の産生が、HCMV 感染に伴ってどのように変化するかについては明らかでい。そこで我々は、HCMV を感染させた GBM 細胞で発現上昇するケモカイン類の同定と、ケカイン遺伝子の発現制御を担うウイルス因子を明らかにすることを目的として研究を行た。	

1) $\underline{\text{Takemoto M}}$, Sango J, Sadanari H, Mukaida N, Murayama T. Induction of chemokines and chemokine receptors of glioblastoma infected with human cytomegalovirus. 16th

International CMV/betaherpesvirus workshop. 2017

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

	平成 29 年度 金沢大学が	ん進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	メタボローム解析による肺がん上皮間葉転換を標的とした治 療法の開発
研究代表者	所属・職名・氏名	慶應義塾大学政策メディア研究科・特任講師・田畑祥
研究分担者 (適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名	慶應義塾大学環境情報学部・学生 (M2)・中宿 文絵
	,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,	#/.lst
受入担当教員	職名・氏名	教授・矢野聖二
【研究目的】	マイクロアレイを用いたトラ	(気泳動/質量分析(CE-MS)を用いたメタボローム解析、および ンスクリプトーム解析を組み合わせ、肺がん細胞の EMT におけ 、EMT の代謝に着目した治療法の開発を目指す。
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入れていただいても結構です。)	る代謝機構を包括的に解析し、EMTの代謝に着目した治療法の開発を目指す。	
【成 果 等】	【主な論文発表】なし 【学会発表】 なし	
	【その他特筆事項】 なし	

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

		ん世版制御研先別・共同研先報音音
	研究課題	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
研究代表者	所属・職名・氏名	東京女子医科大学薬理学教室・助教・出口 敦子
	所属・職名・氏名	東京女子医科大学薬理学教室・教授・講座主任・丸 義朗
研究分担者	所属・職名・氏名	金沢大学がん進展制御研究所腫瘍遺伝学研究分野・教授・大島 正伸
(適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名	金沢大学がん進展制御研究所腫瘍遺伝学研究分野・准教授・大島 浩子
\ /cev.,)	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・大島 正伸
【研究目的】	はこれまでに、がんが原発巣リガンドS100A8や血清アミニを見いだしてきた。転移前二炎症に惹起された、がんを呼する効果を担がんマウスに説明 由来免疫抑制細胞や腫瘍随件における腫瘍血管新生を抑にも関与することが示って、発現細胞や S100A8 の役割 なこと、予後不良であること	ナルは生体における感染防御における重要な働きをもつが、我々にとどまっている段階において、Toll 様受容体 4(TLR4)内因性コイドA3(SAA3)を介した転移前ニッチ形成が転移を促進することにの手形成とは、がん周辺部に存在するがん微小環境に類似したび寄せる環境である。さらに我々は、TLR4 阻害薬の肺転移に対いて検証したところ、TLR4 内因性リガンド S100A8 阻害は骨髄ギマクロファージの機能を抑制し、転移前肺ニッチ形成と腫瘍内制することから抗腫瘍作用を発揮していることを見いだした2016)。よって、TLR4 は転移前ニッチ形成だけでなくがん微小環において、現在までの大島先生との共同研究において、胃がん自然において、S100A8 の発現が上昇していることを見いだしてきた割については不明である。近年、がん細胞自身が TLR4 を高発現とが報告されている。本研究では、大島正伸教授らが作出したから樹立した胃癌オルガノイドを用いて、TLR4 内因性リガンドの役割を検証する。
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	過程の胃がん病変において、ト 上昇していること、エージや問 と見いることにといることを見いだした。がん同 を発現していることにその を発現した。その がん目した。 で強力した。 で強力 では がん に に に に に に に に に に に に に に に に に に	症マウスモデル Gan マウス (K19-Wnt1/C2mE マウス) の進展の TLR4 リガンドの一つである S100A8 の発現ががんの進展とともに キシンフリーグレード S100A8 リコンビナントタンパク質刺激は 如血管内皮初代培養細胞において炎症性サイトカインを誘導す D辺部に存在する免疫担当細胞に加えて、多くのがん細胞が TLR4、今年度、Gan マウス由来胃がんオルガノイド培養下での S100A8 果、Gan マウス胃がん病変から樹立した胃がんオルガノイドは 現していること、エンドトキシンフリーグレード S100A8 刺激に 因子の発現が変化することを見いだした。また、Gan マウス胃癌 見している細胞集団は CD11b 陽性細胞であった。 性リガンド S100A8 による胃がん増悪化の詳細な分子機序の解析 D構築を行う。転移前肝微小環境形成因子遺伝子改変マウスに胃 肝指向性転移に与える影響を検証する。
【成 果 等】	の作用. 金沢大学がん進展制 市, 2017年10月	E伸. 丸義朗. 胃がん進展における Toll 様受容体内因性リガンド 制御研究所共同利用・共同研究拠点シンポジウム,石川県金沢 ニッチ形成を標的とした新規がん治療への展開. 東京女子医科大 3 年 2 月
	【その他特筆事項】 なし	

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

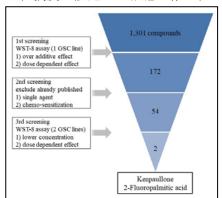
研究課題		抗グリオーマ薬剤の作用を増強する既存薬剤の探索
研究代表者	所属・職名・氏名	金沢大学医薬保健研究域医学系・教授・中田光俊
	所属・職名・氏名	金沢大学医薬保健研究域医学系・大学院生・北林朋宏
研究分担者	所属・職名・氏名	金沢大学医薬保健研究域医学系・大学院生・沙比尔江
受入担当教員	職名・氏名	教授・平尾敦
【研究目的】		

膠芽腫の治療抵抗性・再発の原因は膠芽腫幹細胞と考えられており、膠芽腫幹細胞を標的とした治療の開発が注目されている。今回我々はドラッグリポジショニングを指向し、膠芽腫幹細胞に対し temozolomide (TMZ) 増強効果を有する薬剤を探索した。

【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入れていただいても結構です。)

薬剤スクリーニングに先立ち、膠芽腫手術摘出検体から独自に膠芽腫幹細胞株を複数確立した。このうち、2種類を細胞株 KGS (Kanazawa glioma stem cell)01, KGS03 を用いて、がん進展制御研究所が保有する薬剤ライブラリーから候補薬剤の抽出を試みた。

スクリーニングの第一段階として、細胞生存アッセイ (WST-8 assay) にて既存の化合物 1,301 種類をスクリーニングした。TMZ の細胞増殖抑制効果を濃度依存性に増強する薬剤 172 種類を抽出した。第二段階ではそれらの薬剤について、PubMed で検索を行い既に神経膠腫に対する有効性が報告されている薬剤を除外し 52 種類に絞った。次に候補薬剤について第一段階より低濃度で設定した細胞生存アッセイを再検し、効果の優れた 2 種類の薬剤 (Kenpaullone,



2-Fluoropalmitic acid)を抽出した。後者は新規性が高特許申請を行った。Kenpaullone は glycogen synthase kinase 3β (GSK3β)・ cyclin-dependent kinase (CDK) 阻剤で、2-Fluoropalmitic acid は長鎖アシル CoA 合成酵の阻害物質で、スフィンゴシン合成阻害剤として開発れた薬物であった。今後、これらの薬物の膠芽腫幹細株に対する幹細胞性阻害効果をスフェア形成アッセで評価し、さらに5種類の膠芽腫細胞株を用いて抗増殖・抗浸潤効果を解析する。

【成 果 等】

【主な論文発表】

1. Dong Y, Furuta T, Sabit H, <u>Kitabayashi T, Jiapaer S</u>, Kobayashi M, Ino Y, Todo T, Teng L, <u>Hirao A</u>, Zhao SG, <u>Nakada M</u>.

Identification of antipsychotic drug fluspirilene as a potential anti-glioma stem cell drug.

Oncotarget 8: 111728-111741, 2017

【学会発表】

- Nakada M, Dong Y, Furuta T, Sabit H, <u>Kitabayashi Y, Jiapaer S, Hirao A</u>. Identification of antipsychotic drug fluspirilene as a potential anti-glioma drug. The 5th Quadrennial Meeting of the World Federation of Neuro-Oncology, Societies (WFNOS), May 4-7, 2017, Zurich, Switzerland
- 北林朋宏, 董 宇, 淑瑠 ヘムラサビット, サビエルジャン ジャパル, 平尾 敦, 中田光俊: 膠芽腫幹細胞に対する Kenpaullone の Temozolomide 増強効果 第76回日本脳神経外科学会総会 平成29年10月12日-14日、名古屋
- 3. <u>Jiapaer S</u>, Dong Y, Sabit H, <u>Kitabayashi T</u>, Furuta T, <u>Hirao A</u>, <u>Nakada M</u>. The novel drug for GBM targeting GSCs by enhancing the effect of TMZ 第 18 回日本分子脳神経外科学会, 平成 29 年 8 月 25-26 日, 山梨

【その他特筆事項】

特許

中田光俊、平尾敦、北林朋宏、サビエルジャンジャパル:

平成29年8月1日出願

特願 2017-149468

抗がん剤増強剤による新規悪性脳腫瘍治療

	平成 29 年度 金沢大	:学がん進展制御研究所 共同研究報告書
研	· 究課題	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
研究代表者	所属・職名・氏名	公益財団法人がん研究会がん研究所発がん研究部 部長・中村卓郎
研究分担者	所属・職名・氏名	公益財団法人がん研究会がん研究所発がん研究部 研究員・田中美和
ください。)	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・鈴木健之
【研究目的】	ンコジーンとして、がん (ASPS) 原因遺伝子 AS して腫瘍発生と転移仮 ASPSCR1-TFE3 による 差異とそこに関与する責 要とされるヒストン修飾 ける役割を解明する。	おいては、融合遺伝子がコードする融合型転写因子が、ドライバーオんの発生と悪性化にしばしば大きく関与している。胞巣状軟部肉腫 SPSCR1-TFE3 もその一つであり、クロマチンリモデリング機構を介足進の要因となっていることが予想された。本共同研究では、SWI/SNF 複合体の修飾機構を明らかにし、野生型 TFE3 との機能的 ほ任分子を同定する。さらに、クロマチンリモデリングとの平衡が重 の異常を ASPS において解析し、両肉腫の悪性化や転移・浸潤にお
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入れていただいても結構です。)	ASPS 誘導能を有す 明する TFE3 特異的 融合蛋白を作製し、 いて TFE3 または M 特異的結合蛋白を 複合体構成分子や、 のクロマチンリモ 2. ASPSCR1-TFE3 に マウス ASPS 細胞に 結合領域を明らから H3K27Ac 集積部位 イクロアレイ解析を の標的遺伝子経路の異 や Syngr1 のプロモ	る ASPSCR1-TFE3 と有さない ASPSCR1-MITF の機能的差異を説 」結合分子を同定する目的で、TFE3 と MITF の C 端側領域の His tag ヒト ASPS 細胞の核抽出物と反応させ、マススペクトロメトリーを用 ITF それぞれに特異的に結合する分子群を探索した。その結果、TFE3 7、MITF 特異的結合蛋白質 15 を同定した。これらの中には、SWI/SNF RNA プロセシング分子、モーター蛋白が含まれ、ASPSCR1-TFE3 リングや RNA 合成修飾における重要性が改めて示唆された。 よる転写制御機構の解析 おいて ChIP-seq 解析により ASPSCR1-TFE3 のグローバルな DNA にした。 ASPSCR1-TFE3 結合ピーク 2,631 の 85%がヒストン に一致し、H3K4me3 との相関も示された(下図)。これらの結果とマ 合わせて、Gpnmb、Angptl2、Syngr1 を初めとする ASPSCR1-TFE3 らかにした。また、ASPSCR1-TFE3 がオートファジーやライソソー 常な亢進を直接誘導していることも明らかとなった。さらに、Gpnmb ーター領域と ASPSCR1-TFE3 変異体を用いたレポーターアッセイにる転写制御に重要な領域を明らかにした。
【成果等】	part sarcoma unveils n 2. Yoshimoto T, Tanaka CIC-DUX4 induces 77:2927-2937, 2017.	T, Yamazaki Y, Shimizu R, Takazawa Y, <u>Nakamura T</u> . Modeling alveolar soft novel mechanisms of metastasis. Cancer Res, 77:897-904, 2017. M, Homme M, Yamazaki Y, Takazawa Y, Antonescu CR, <u>Nakamura T</u> . small round cell sarcomas distinct from Ewing sarcoma. Cancer Res, o T, <u>Nakamura T</u> . A double-edged sword: the world according to Capicua in 8:2319-2325, 2017.

1. Tanaka M, Nakamura T. The molecular function of ASPSCR1-TFE3 in alveolar soft part sarcoma. AACR Special Conference on Advances in Sarcomas: From basic science to clinical translation,

【学会発表】

Philadelphia, 2017

2. 中村卓郎 骨軟部肉腫の GDA モデル:がんの生物学と治療法評価系としての重要性	第
76 回日本癌学会学術総会 横浜、2017	
【その他特筆事項】	

		:学がん進展制御研究所 共同研究報告書
研究課題		肝臓がんの転移におけるマクロファージの役割とケモカインの解析
研究代表者	所属・職名・氏名	福井大学・教授・中本 安成
研究分担者	所属・職名・氏名	福井大学・大学院生・野阪 拓人
受入担当教員	職名・氏名	教授・向田 直史
【研究目的】	種々のがんの発症・進展過程には、がん微小環境内での炎症反応が密接に関与していると考えられている。また、炎症反応において重要な役割を果たしている白血球の病巣への浸潤過程は、ケモカインに代表される白血球走化因子によって協調的に制御されていることも知られている。肺内には 2 種類のマクロファージが存在している。肺間質に存在する間質マクロファージ: Interstitial macrophages(IMs)と肺胞マクロファージ: Alveolar macrophages(AMs)である。がん細胞の肺転移過程において、IMsがケモカインシグナルを介してがん細胞の生着や増殖の過程に重要な役割を果たすことは報告されているが、一方でAMsの役割や機能は知られていない。本研究を通して、転移過程における肺内マクロファージの役割を解明することによって、新たな視点からの転移制御法の開発に繋がる基盤的な知見が得ることを目指す。	
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	を形成させる肺転移モデ 1. Leukotrienes(LTs)、など、多くのアラキ 2. 5-lipoxygenase(LOX 少した。一方で cycle 3. 5-LOX の代謝産物で促進した。 4. 転移巣には顕著にマ 5. 肝がん患者の転移肺た AMs が増加してい 6. 選択的に AMs を枯れる。 移巣の数が減少した。 7. 転移肺で産生された	Ratacleで、転移肺の LTB4 産生量が減少し、サイズの大きい肺転る CCL2 が CCR2 を発現した血中由来の AMs を肺にリクルートした。 2 の産生源は骨髄細胞由来の細胞、IMs が産生していた。 た、生理的条件下 Is と IMs が、が に、協調的に肺転能を有すること に記 Figure)。 た、がん細胞肺転新たなマクロフ F用と、AMs の Interstital macrophage (AM) Interstital macrophage
【成 果 等】	Yoshiaki Imamura, F Nakamoto, and Naofun lung metastasis by gene 【学会発表】 1. <u>野阪拓人</u> , 中本安成 トリエン B4 に関す 2. <u>野阪拓人</u> , 西村建徳	nisa Baba, Yamato Tanabe, Soichiro Sasaki, Tatsunori Nishimura, Hideaki Yurino, Shinichi Hashimoto, Makoto Arita, <u>Yasunari ni Mukaida</u> . Alveolar macrophages drive hepatocellular carcinoma erating leukotriene B4. J Immunol (2018 Mar 1,;200(5):1839-1852) 这. 肝細胞癌肺転移の増大に関与する肺胞マクロファージ由来ロイコでる検討. 2017 年 6 月. 第 53 回日本肝臓学会. 请, 向田直史. 肺胞マクロファージ由来ロイコトリエン B4 の、マウス特転移過程への関与. 2017 年 7 月. 第 21 回日本がん分子標的治療学会

学術集会.

- 3. <u>野阪拓人</u>, 馬場智久, 佐々木宗一郎, 有田誠, <u>中本安成</u>, <u>向田直史</u>. 肺胞マクロファージ は LTB4 を産生することで肝細胞癌肺転移を促進させる. 2017 年 9 月. 第 76 回日本癌学 会学術総会
- 4. <u>Takuto Nosaka</u>, Tomohisa Baba, Tatsushi Naito, Masahiro Ohtani, Katsushi Hiramatsu, Tomoyuki Nemoto, Makoto Arita, <u>Naofumi Mukaida</u>, <u>Yasunari Nakamoto</u>. Leukotriene B4 Generated by Alveolar Macrophages Drive Hepatocellular Carcinoma Lung Metastasis. 2017 年 10 月. The American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) The Liver Meeting 2017.
- 5. <u>Takuto Nosaka</u>, Tomohisa Baba, Yamato Tanabe, Soichiro Sasaki, Makoto Arita, <u>Yasunari Nakamoto</u>, <u>Naofumi Mukaida</u>. The recruited CCR2-expressing alveolar macrophages under the guidance of interstitial macrophage-derived CCL2 drive hepatocellular carcinoma lung metastasis by generating leukotriene B4. 2017 年 10 月. The 5th Annual Meeting of the International Cytokine and Interferon Society.
- 6. <u>野阪拓人</u>, 馬場智久, 佐々木宗一郎, <u>中本安成</u>, <u>向田直史</u>. Alveolar macrophages drive hepatocellular carcinoma lung metastasis in collaboration with interstitial macrophages. 2017 年 12 月. 第 46 回日本免疫学会学術集会.

【その他特筆事項】

2017年10月 AASLD Basic Science Young Investigator Travel Award 受賞

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

		・ん進展制御研究所 共同研究報告書 「
	研究課題	生物発光イメージングを用いた乳がん骨転移過程における NK 細胞の役割解明
研究代表者	所属・職名・氏名	富山大学 和漢医薬学総合研究所・教授・早川芳弘
	所属・職名・氏名	
研究分担者	所属・職名・氏名	
(適宜、行を追加してください。)	所属・職名・氏名	
(/LGV.)	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・向田直史
【研究目的】	NK 細胞を含む様々な抗腫瘍エフェクター細胞によりがん細胞を異物として認識し、排除しようとする抗腫瘍免疫応答が存在する一方で、腫瘍微小環境における炎症性免疫応答が、サイトカインやケモカイン、様々な成長因子の産生を介して細胞の増殖浸潤さらには転移といった悪性化進展を促進する可能性が指摘されている。昨年度の共同研究課題の成果として樹立したマウス乳がん骨転移モデルの生物発光イメージングによるモニタリング系を用いて、今年度の共同研究はがん細胞の悪性化に寄与するような宿主応答における NK 細胞の関与について明らかとすることを目的とする。	
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	BALB/c マウス由来乳がん細を樹立した。またこの高転移るさらには宿主細胞由来の constant 4T1.3 乳がん細胞の骨転移過遺伝子の安定発現 4T1.3-Luc2 細胞株は immuno- 疫原生が変化したことによるを用いて同様の実験をしたとしながら、この 4T1.3-Luc2 糸大腿骨への転移とみられるった。一方、NK 細胞が腫瘍は実験結果を得た。NK 細胞除	胞株である 4T1 細胞から in vivo selection 法にて高骨転移株 4T1.3 株が骨へと転移する niche の形成過程にはがん細胞由来の CCL4、nective tissue growth factor (CTGF/CCN2)の産生が関与している。程における NK 細胞の役割を明らかにするため、ルシフェラーゼ c2 細胞株を用いた生物発光イメージングを行った。作製したcompetent な Balb/c マウスでは Luciferase の遺伝子導入により免と思われる移植後の拒絶が見られた。実際に Balb/c-nude マウスころ、同所移植した 4T1.3-Luc2 細胞の増殖が認められた。しか問胞を移植した Balb/c-nude マウスにおいても、6 個体中 2 個体の発光が観察されたものの、安定した骨転移病態が認められなかり発光が観察されたものの、安定した骨転移病態が認められなかり発光が観察されたものの、安定した骨転移病態が認められなかり発光が観察されたものの、安定した骨転移病態が認められなから発光が観察されたものの、安定した骨転移病態が認められなから発光が観察されたものの、安定した骨転移病態が認められなから発光が観察されたものの、安定した骨転移病態が認められなから発光が観察されたものの、安定した骨転移病態が認められなから発光が観察されたものの、安定した骨転移病態が認められなから発光が観察されたものの、安定した骨転移病態が認められなから発光が観察されたものの、安定した骨転移病態が認められなから発光が観察された。
【成果等】		Yamamoto S, Hori T, Sasahara M, Iwakura Y, Saiki I, Tahara H, umor-promoting function of neutrophils in mice. Cancer Immunol Res.
	2018;6(3):348-357 【学会発表】	
		e lymphocytes to regulate cancer-associated inflammation, The 1st atural Medicine: From Local Wisdom to International Research; 2017
	tumor-promoting function of ne	Hori T, Iwakura Y, Tahara H, Saiki I, Hayakawa Y. NK cells control eutrophils. The 5th Annual Meeting of the International Cytokine and 2017 Oct. 29-Nov. 2; Kanazawa.
	早川芳弘, 小倉圭介, 田原 21 回日本がん免疫学会総会;	秀晃,NK cells control tumor-promoting function of neutrophils. 第2017.06.28-30; 千葉.
	【その他特筆事項】	
	なし	

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

		ん進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	HAI-1 および MMP-7 の機能制御によるがん転移抑制法の開発
研究代表者	所属・職名・氏名	横浜市立大学・教授・東 昌市
	所属・職名・氏名	
研究分担者	所属・職名・氏名	
(適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名	
	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・松本 邦夫
【研究目的】	MMP-7 は大腸がんの肝臓への転移に深く関わることが示唆されていたが、申請者らは MMP-7 がコレステロール硫酸を介して大腸がん細胞に結合すると、細胞表層タンパク質であり、HGF の活性制御に関わる HGF activator inhibitor type 1 (HAI-1)の切断を介してがん細胞の細胞凝集を誘導しつつ、その転移能を顕著に増強するという一連の作用機序を明らかにした。本研究では HAI-1 切断がどのような機序でがん細胞の細胞凝集を誘導するのかを解明し、その機序を応用したがんの抗転移薬開発に結びつけることを目的とした。	
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入れていただいても結構です。)		
【成 果 等】	cell aggregation via proteolytic <i>Chem.</i> 2017 Dec 15; 292(50): 20 【学会発表】 1. 石川 智弘, 木村 弥生, 五 移能増強機構の解析.第 2 6 回 2. 石川 智弘, 木村 弥生, 五 がん細胞表層との相互作用の 題番号 1, 2017年8月11-12日 3. 石川 智弘, 木村 弥生, 五	平野 久, 東 昌市: 細胞接着因子としての可溶性HAI-1の機能解:(2017年度生命科学系学会合同年次大会,ConBio2017) (神戸),

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

_	平成 29 年度 金沢大字か	ぶん進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	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
研究代表者	所属・職名・氏名	北海道大学・特任准教授・樋田 京子
	所属・職名・氏名	北海道大学・助教・間石 奈湖
研究分担者	所属・職名・氏名	北海道大学・准教授・樋田 泰浩
(適宜、行を追加してください。)	所属・職名・氏名	
(/22 ()/	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・大島 正伸
【研究目的】	グナルを遮断することから生 応患者の選択、長期薬剤投与これまでわれわれは腫瘍血管 してきており、その発現にも 的ならびに腫瘍血管新生モニ は貴研究所の大島正伸教授が	くのがん治療で用いられているが、正常血管にも必須のVEGFシ Eじる副作用の問題や、コンパニオン診断薬がないことによる適 A後のがんの悪性化・薬剤耐性などが問題視されている。一方、 所に特異的なマーカー(腫瘍血管内皮マーカー)をいくつか報告 がんの悪性度の違いなどにより多様性があることから、治療標 Aタリングのマーカーとして有用ではないかと考えた。本研究で が樹立された、ヒトと同じ分子機序で発生するマウス消化器癌モ がにがんの悪性化に伴う腫瘍血管内皮マーカーの時空間的な発現
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入れていただいても結構です。)	これまでは、正常を関すると、 は、主味を を関すると、 を関すると、 を関すると、 を関すると、 を関すると、 を関すると、 を関すると、 を関すると、 を関すると、 を関すると、 を関するに、 を関するに、 を関すると、 を関するに、 をした、 をした、 を関するに、 をした。 をした。 をした。 をした。 をした。 は、 のな、 のな、 のな、 のな、 のな、 のな、 のな、 のな	E常血管内皮に比べ腫瘍血管内皮で特異的に発現が高くみられる F成 27 年度はヒト大腸癌,肝癌患者の血液中で Biglycan が多く 例で高い傾向にあることを見出した. 平成 28 年度には肺癌患者 く検出されること,また腫瘍組織の血管ならびに周囲間質にも とを組織免疫染色で観察した. さらに Biglycan 発現が T 因子や血 歴性度との関連が示唆された. これまでの検討で,正常血管内皮 一ター領域がメチル化されているのに対して,腫瘍血管内皮細胞 高い発現が維持されていることを見出し,Biglycan 発現がエピ ようることを発見した(Maishi et al Sci Rep 2016). 以上のこ の発現が発癌ならびにがん悪性化に伴い変動すると考え,平成 29 近異による消化器癌モデルでの検討を進めた. でおり、1 下p53 の4つの遺伝子変異を持ったオルガノイド(3D 培養 後、2ヶ月後に微小肝転移した腫瘍の解析を行った. 血管を CD31 以上で Biglycan を染色した. これらの腫瘍の血管では Biglycan なに、同じく 4 重変異のオルガノイド脾臓移植後に肝臓にマクロ CD31 および Biglycan の蛍光二重免疫染色を行った. 肝転移巣で られなかった. 最後に、Apc、Kras、Tgfbr2、Trp53、Fbxw7 の 5 で対した. 腫瘍内に血管はみられるものの、Biglycan 発現が 遺伝子変異の蓄積による消化器癌発癌モデルでは、今回着目した いったものの、これまでヒト大腸癌の腫瘍血管では Biglycan 発現 発現が亢進するような微小環境やエピジェネティクスのスイッ でいきたい、また今後は他の腫瘍血管内皮マーカーの発現変動
【成 果 等】	Ohga N., Ishikawa K, Sa M.: Aneuploidy of muri 59 (2017), 50-54, 201' 2. Torii C., <u>Hida Y.</u> , Shi Totsuka Y., Kitagawa Y. factor for head and nec 2017. 3. Hojo T. §, <u>Maishi N.</u> §, K., Fujisawa T., * <u>Hida</u> in tumor endothelial ocontributed 4. * <u>Hida K.</u> §, Kawamoto T.	Porcas Akuba-Muhyia Annan, Kondoh M., Hojo T., Umma Habiba, ato M., Torii C., Yanagiya M., Morimoto M., Hida Y., Shindoh ne immortalized endothelial cell line, MS1, JOral Biosci, 7. Indoh M., Akiyama K., Ohga N., Maishi N., Ohiro Y., Ono M., Tei K., Sato Y., *Hida K.: Vasohibin-1 as a novel prognostic k squamous cell carcinoma, Anticancer Res, 37(3), 1219-1225, Towfik AM, Akiyama K., Ohga N., Shindoh M., Hida Y., Minowa K.: ROS enhance angiogenic properties via regulation of NRF2 cells, Oncotarget, 8(28):45484-45495, 2017. Sequally

Shinohara N., <u>Hida Y.</u>: miR-145 Promoted Anoikis Resistance in Tumor Endothelial

Cells, *J Biochem*, 162(2), 81-84, 2017.

- 5. *Hida K[§], Maishi N. [§], Akiyama K., Ohmura-Kakutani H., Torii C., Ohga N., Osawa T., Kikuchi H., Morimoto H., Morimoto M., Shindoh M., Shinohara N. and <u>Hida Y.</u>: Tumor Endothelial Cells with High Aldehyde Dehydrogenase Activity Show drug resistance, *Cancer Sci*, 108(11), 2195-2203, 2017.
- 6. Maishi N., *Hida K.: Tumor endothelial cells accelerate tumor metastasis, *Cancer Sci*, 108(10), 1921-1926, 2017.
- 7. <u>*Hida K.</u>, Kikuchi H., <u>Maishi N.</u>, <u>Hida Y.</u>: ATP-binding cassette transporters in tumor endothelial cells and resistance to metronomic chemotherapy, *Cancer Lett*, 400, 305-310, 2017.
- 8. *Hida K., Maishi N.: Abnormalities of tumor endothelial cells and cancer progression, *Oral Sci Int*, 15(1), 1-6, 2018.

【学会発表】

- 1. 樋田京子:第 25 回血管生物医学会学術集会 AAVBM2017 シンポジウム "Tumor Angiogenesis and Lymphangiogenesis", "Chemotherapy-induced drug resistance in tumor endothelial cells", 2017.12.10 (大阪)
- 2. 樋田京子:第40回日本分子生物学会年会ワークショップ「生老病死における血管・リンパ管の生命科学的意義」, "腫瘍血管内皮細胞の形質変化とがんの悪性化", 2017.12.7 (神戸)
- 3. 間石奈湖:第40回日本分子生物学会年会ワークショップ「細胞外小胞顆粒は我々に何を 語るか?〜細胞間コミュニケーションが織りなす生命現象の解明へ〜」, "高転移性腫瘍 miRによる血管内皮における薬剤耐性誘導", 2017.12.7 (神戸)
- 4. 樋田京子:第62回日本口腔外科学会総会・学術大会特別プログラム「日台姉妹締結10周年記念シンポジウム Translational Research」, "腫瘍血管に関する基礎研究から新たながん治療戦略の構築を目指して", 2017.10.21 (京都)
- 5. 間石奈湖:第116回北海道癌談話会奨励賞受賞記念講演, "Tumor endothelial cells in high metastatic tumours promote metastasis via epigenetic dysregulation of biglycan", 2017.10.21 (札幌)
- 6. 樋田京子:第76回日本癌学会学術総会International Sessions「がん転移におけるエクソソーム研究の最前線」, "高転移性腫瘍エクソソームによる血管内皮における薬剤耐性誘導", 2017.9.28 (横浜)
- 7. 樋田京子:第26回日本がん転移学会学術集会・総会シンポジウム2「がん幹細胞に対する 新たな知見」, "腫瘍血管内皮細胞のがん幹細胞への関与", 2017.7.28 (大阪)

【その他特筆事項】

2017.10.21 間石奈湖 第6回北海道癌談話会奨励賞(基礎系)受賞

2017. 5.28 樋田京子 日本女性科学者の会奨励賞 受賞

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

		ん進展制御研究所 共同研究報告書	
	研究課題	TGF-β シグナルを介したグリオーマ幹細胞の未分化性	
研究代表者	所属・職名・氏名	金沢大学・准教授・檜井 栄一	
	所属・職名・氏名		
研究分担者	所属・職名・氏名		
(適宜、行を追加してください。)	所属・職名・氏名		
\/CCV 0/	所属・職名・氏名		
受入担当教員	職名・氏名	教授・平尾 敦	
【研究目的】	近年がんの病態制御とがん幹細胞特性の連関が注目されている。我々は、ユビキチンリス		
	ゼ Smurf2 タンパク質の新しい	ハリン酸化部位(Smurf2 ^{T249})を発見し、そのリン酸化状態が、間	
	葉系幹細胞の幹細胞性維持に	重要な役割を持つことを見出した。神経膠芽腫(GBM)は、中枢	
	神経系における最も予後の悪	いがんの一つである。近年 GBM の発症・進展において、グリオ	
	ーマ幹細胞の幹細胞性維持機	6構の重要性が示されている。本研究ではグリオーマ幹細胞にお	
	ける Smurf2 のリン酸化制御材	幾構の解明と、Smurf2の GBM の悪性・進展度における影響を検討	
	した。		
【研究内容・成果】	【方法】ヒトグリオーマ幹細	胞株(TGS-01)に Smurf2(T249A)変異体(脱リン酸化状態模倣体)	
(図表・説明図等を入れていただいても結	 および Smurf2(T249E)変異体	(リン酸化状態模倣体)をレンチウイルスベクターによって導入	
構です。)	し、Smurf2 のリン酸化状態(Smurf2 ^{T249})の腫瘍形成能に対する影響を Sphere formation assay		
	 による in vitro 解析と、免疫	要不全マウスに移植することによる in vivo 解析で検討した。ま	
	た、遺伝子導入した細胞のタンパク質を Western blotting 法により解析し、Smurf2 下流のタ		
	ンパク質や、幹細胞性を維持する因子の発現を検討した。		
	【結果】TGS-01 に Smurf2(T249A)変異体を導入した群では、コントロールベクター導入群と		
	比較して Sphere formation assay におけるスフィア形成能の上昇が確認された。さらに同細		
	胞を免疫不全マウスの脳に移植すると、移植後のマウス生存期間がコントロール群と比較し		
	て短縮し、腫瘍体積の増加が認められた。一方、Smurf2(T249E)変異体を導入した群では、ス		
	フィア形成能の低下とともに、移植後のマウス生存期間の延長と腫瘍体積の減少が認められ		
	フィアル成能の低ーとともに、移植後のマクハ土行朔間の延迟と腫瘍体質の減少が認められ		
		の発現が Smurf2(T249A)導入群では上昇していたのに対して、	
	Smurf2(T249E)導入群では減少していた。また、Sox2 の発現を正に制御する転写因子である		
	Sox4 や Smad2 の発現も同様の		
	【考察】以上の結果より、ヒトグリオーマ幹細胞において Smurf2 リン酸化 (Smurf2 ^{T249}) は、 下流のタンパク質のユビキチン化を介した発現調節により GBM の悪性・進展度と関連性があ		
	る可能性が示唆された。		
【成 果 等】			
【成 果 等】	【主な論文発表】		
	【学会発表】		
	【その他特筆事項】		

研究代表者 研究分担者 (適宜、行を追加してください。) 受入担当教員 【研究目的】	CCL3 が正常造血細胞を骨髄タ CCL3 の主たる分泌細胞は CML ンンジッパー型の転写因子 C/	白血病の進展における C/EBP β の機能解明 京都大学医学部附属病院・助教・平位秀世 教授・向田 直史 ープは、慢性骨髄性白血病(CML)の進展の過程では、ケモカイントへ動員することによって骨髄中で白血病細胞優位になること、他来の好塩基球であることを明らかにした。一方、我々はロイ(EBP β が CML の病態形成に重要な役割を果たしていることを明らL の原因である BCR-ABL 融合遺伝子によって活性化された C/EBP
研究分担者 (適宜、行を追加して ください。) 受入担当教員 【研究目的】 CC CC シカ	所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 職名・氏名 職名・氏名 金沢大学の向田教授のグル CCL3 が正常造血細胞を骨髄タ CCL3 の主たる分泌細胞は CML ンンジッパー型の転写因子 C/	教授・向田 直史 一プは、慢性骨髄性白血病(CML)の進展の過程では、ケモカイントへ動員することによって骨髄中で白血病細胞優位になること、由来の好塩基球であることを明らかにした。一方、我々はロイ(EBPβがCMLの病態形成に重要な役割を果たしていることを明ら
(適宜、行を追加して ください。) 受入担当教員 【研究目的】 CO CO シカ	所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 職名・氏名 電名・氏名 金沢大学の向田教授のグル CCL3 が正常造血細胞を骨髄タ CCL3 の主たる分泌細胞は CML ンンジッパー型の転写因子 C/	ープは、慢性骨髄性白血病(CML)の進展の過程では、ケモカイントへ動員することによって骨髄中で白血病細胞優位になること、由来の好塩基球であることを明らかにした。一方、我々はロイ(EBPβがCMLの病態形成に重要な役割を果たしていることを明ら
(適宜、行を追加して ください。) 受入担当教員 【研究目的】 CC CC シカ	所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 職名・氏名 金沢大学の向田教授のグル CCL3 が正常造血細胞を骨髄タ CCL3 の主たる分泌細胞は CML シンジッパー型の転写因子 C/	ープは、慢性骨髄性白血病(CML)の進展の過程では、ケモカイントへ動員することによって骨髄中で白血病細胞優位になること、由来の好塩基球であることを明らかにした。一方、我々はロイ(EBPβがCMLの病態形成に重要な役割を果たしていることを明ら
ください。) 受入担当教員 【研究目的】 CO CO シカβ	所属・職名・氏名 職名・氏名 金沢大学の向田教授のグル CCL3 が正常造血細胞を骨髄タ CCL3 の主たる分泌細胞は CML ンンジッパー型の転写因子 C/	ープは、慢性骨髄性白血病(CML)の進展の過程では、ケモカイントへ動員することによって骨髄中で白血病細胞優位になること、由来の好塩基球であることを明らかにした。一方、我々はロイ(EBPβがCMLの病態形成に重要な役割を果たしていることを明ら
受入担当教員 【研 究 目 的】 CC CC シカ	職名・氏名 金沢大学の向田教授のグル CCL3 が正常造血細胞を骨髄タ CCL3 の主たる分泌細胞は CML ンンジッパー型の転写因子 C/	ープは、慢性骨髄性白血病(CML)の進展の過程では、ケモカイントへ動員することによって骨髄中で白血病細胞優位になること、由来の好塩基球であることを明らかにした。一方、我々はロイ(EBPβがCMLの病態形成に重要な役割を果たしていることを明ら
【研究目的】 CC CC シカ	金沢大学の向田教授のグル CCL3 が正常造血細胞を骨髄タ CCL3 の主たる分泌細胞は CML ンンジッパー型の転写因子 C/	ープは、慢性骨髄性白血病(CML)の進展の過程では、ケモカイントへ動員することによって骨髄中で白血病細胞優位になること、由来の好塩基球であることを明らかにした。一方、我々はロイ(EBPβがCMLの病態形成に重要な役割を果たしていることを明ら
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC	CCL3 が正常造血細胞を骨髄タ CCL3 の主たる分泌細胞は CML ンンジッパー型の転写因子 C/	トへ動員することによって骨髄中で白血病細胞優位になること、 血来の好塩基球であることを明らかにした。一方、我々はロイ ΈBPβがCMLの病態形成に重要な役割を果たしていることを明ら
		よび CCL3 の分泌制御において、どのような機能的意義をもって
れていただいても結 構です。) 様です。) 後 世 れて で た 能 し 直 B ま CI に に CC 解	C/EBPβが、どの細胞分画で Cc13 の発現制御に関わるかを明らかにするために、原因遺子である BCR-ABL 遺伝子をレトロウイルスで、野生型(WT)マウスまたはC/EBPβノックアウ(KO)マウス由来の骨髄細胞に導入し、放射線照射したマウスに骨髄移植した。白血病発後に BCR-ABL を発現している GFP 陽性分面の造血幹細胞、前駆細胞、成熟顆粒球(CD11b/Gr 共陽性、好塩基球を含む)を骨髄より分取したのちに、Cc13 mRNA の発現を定量化した。そ結果、WT マウス由来の成熟顆粒球分画において Cc13 mRNA の高い発現が認められたのに対て、KOマウス由来の成熟顆粒球分画では Cc13 mRNA の発現は有意に低いことが判明した。C/EBPβが直接 Cc13 の発現制御に関わるかどうかを検討するために、マウス造血幹細胞である EML 細胞に、C/EBPβと estrogen 受容体の融合タンパク質を過剰発現させた。この胞を 4-hydroxytamoxifen で処理すると、融合タンパク質の核内移行によって、C/EBPβの能を誘導できる。C/EBPβを核内移行させると、コントロールの estrogen 受容体のみを発している EML 細胞と比較して有意に高い Cc13 の発現が認められた。したがって、C/EBPβ直接 Cc13 の発現を制御している可能性が示唆された。ついでC/EBPβが、BCR-ABL存在下で好塩基球分化に関わるかどうかを明らかにするためにBCR-ABL遺伝子を導入されたWTマウスまたはKOマウス由来の骨髄細胞を、試験管内でIL・またはSCFを添加して培養し、出現したFcをRI陽性細胞の中のc-kit陽性細胞(肥満細胞)CD11b陽性細胞(好塩基球)の出現頻度・数について検討した。その結果、WTマウス由来細に比して、KOマウス由来の細胞からは、肥満細胞の出現頻度および数が多く、好塩基球はに低くなった。これらの傾向は、IL-3でもSCFでも同様であった。以上の検討結果から、C/EBPβはBCR-ABLのシグナル存在下で、好塩基球分化を促進することCCL3 分泌に直接関わっていることが示唆された。今後、これらの結果を検証し、CMLの病解明を目ざしてin vivoのデータの確認と、さらに詳細な分子メカニズムの解明に努める。【主な論文発表】投稿中	
H R en on 第 Y	emergency granulopoiesis. Sontogeny and surprising fu 第 79 回日本血液学会学術総会 Wokota A, Hirai H, Sato A, H Exhaustion of CD34+ CML C/EBP8. [e stem cells by C/EBP β , a transcription factor required for Symposium 6: "New world of innate immunity:Unexpected inctions" 会 (東京) 平成 29 年 10 月 21 日 (2017) [Ayashi Y, Miura Y, Kimura S, Maekawa T -CP stem cells is induced by IFNa through upregulation of Japanese Cancer Association

Yokota A, Hirai H, Sato A, Kamio N, Shoji T, Kashiwagi T, Torikoshi Y, Miura Y, Hayashi Y, Kimura S, Maekawa T: IFNa upregulates C/EBP6 in CD34+ CML stem cells and induces their exhaustion. [Abstract OS2-10C-1]

The 79th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology 第 79 回日本血液学会学術総会(東京) 平成 29 年 10 月 21 日(2017)

Yokota A, Hirai H, Sato A, Kamio N, Hayashi Y, Miura Y, Kimura S, Maekawa T

IFN- α Upregulates the Expression of C/EBP β and Induces Myeloid Differentiation and Exhaustion of CD34+ CML Stem Cells.

American Society of Hematology, 59th Annual Meeting and Exposition, Atlanta, GA, USA, December 9, 2017

Sato A, Hirai H, Yokota A, Tamura A, Shoji T, Kashiwagi T, Kamio N, Torikoshi Y, Miura Y, Maekawa T

C/EBP β endows hematopoietic stem cells with myeloid-bias in stress conditions 第 79 回日本血液学会学術総会(東京) 平成 29 年 10 月 20 日(2017)

平位秀世

C/EBP β 転写因子による"定常状態"と"非定常状態"の造血制御. 第 12 回スフィンゴテラピィ研究会 (石川県河北郡) 平成 29 年 7 月 16 日(2017)

平位秀世

骨髄球系転写因子 C/EBP β によるストレス造血制御 第5回北海道感染免疫アカデミー(札幌市) 平成 29 年 9 月 8 日(2017)

平位秀世: Chronic myeloid leukemia: emergency granulopoiesis hijacked by BCR-ABL fusion protein.

京都薬科大学・病態生理学分野セミナー(京都市) 平成 29 年 11 月 24 日(2017)

【その他特筆事項】

該当なし

	平成 29 年度 金沢大学が	ん進展制御研究所 共同研究報告書
研究課題		脳転移肺がん細胞の薬剤応答と耐性のキネティクス解析
研究代表者	所属・職名・氏名	金沢医科大学・講師・平田英周
研究分担者 (適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名	
	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・矢野 聖二
【研究目的】	またがん全体の予後改善に件 生命予後・機能予後共に極め の課題である。平成 28 年度均	てく、転移性脳腫瘍の原発巣として全体の約半数を占めている。 だい、脳転移症例は増加の一途をたどっている。肺がん脳転移は って不良であり、その克服は現代のがん研究が取り組むべき喫緊 共同研究に引き続き、本研究では EGFR 変異を有する肺がん細胞 且害剤に対する薬剤応答と耐性のキネティクスを腫瘍微小環境の ることを目標とする。
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入れていただいても結構です。)	して脳転移を誘導し、EGFRに に、 EGFRに に、 EGFRに に、 EGFRに に、 EGFRに に、 EGFRに に、 EGFRに がとなった。 1. 経頭蓋骨 FRET イメージ: MAPK/ERK 活性をもりる。 がして、 20 MB PC9・B を持たした。 グルムのは、 20 MB PC9・B を持たが、 20 MB MB PC9・B にったた、 20 MB MB PC9・B を対かるのののでは、 20 MB MB PC9・B に、 20 MB MB MB PC9・B に、 20 MB MB PC9・B に、 20 MB MB PC9・B に、 20 MB MB PC9・	選を有するヒト肺がん細胞株 PC9 をヌードマウス心腔内に接種 狙害剤ゲフィチニブに対する応答を定量的に評価した。興味深い 生存がん細胞の多くは Ki67 陰性の休眠様状態を呈していること ノグによる初期応答の生体内可視化 リングする FRET バイオセンサーEKAREV-NLS を用いることで、 分後にがん細胞の ERK 活性が低下する様子を生体内にて捉える PC9 はゲフィチニブに対して極めて良好に応答するため、経時 では同部位を追跡することが困難であった。そこで脳転移指向 いM3 を樹立して同様の実験を行ったが、この BrM3 細胞株もゲフ するため、初期薬剤耐性を示す細胞を長期間に渡って追跡する 現在、脳スライス培養法 (ex vivo 法) およびアストロサイトと 資剤に答の経時的解析手法を立案中である。 行による初期耐性シグナルの網羅的描出 ニブ 0 mg/kg/day にて 2 週間治療)と脳転移生存がん細胞(ゲフ したトランスクリプトーム解析を行った。結果、初期薬剤耐性 としてインターロイキンを中心とした複数のサイトカイン経路 は活性化アストロサイトはよる脳転移肺がん細胞の捕捉が認め イトカインがアストロサイト由来である可能性を考えた。そこ トの in vitro 共培養系を確立し、その培養上清を用いてサイトカ 主、初期薬剤耐性に関わる正・負の介在因子としてそれぞれ 定した。現在、その詳細な機能解析とマウスモデルを用いた検証
【成 果 等】	Harbor Perspectives in Medicine 【学会発表】 1. Hirata E. Tumour microenvi Symposium (Invited Lecture) Si 2. 平田英周、矢野聖二 「脳 学がん進展制御研究所共同利 10月) 3. 平田英周 「腫瘍微小環境	Microenvironment and Differential Responses to Therapy. Cold Spring e 5:7(7) 2017. (*corresponding author) ironment: Safe havens and drug resistance. ESMO Asia 2017 Special ngapore (Nov 2017) 転移肺がん細胞の薬剤応答と耐性のキネティクス解析」 金沢大川・共同研究拠点シンポジウム(ポスター発表)金沢(2017 年間を標的としたがん治療戦略」文部科学省がんプロフェッショナー(招待講演) 京都 (2017 年 2 月)

【その他特筆事項】

なし

		ん進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	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
研究代表者	所属・職名・氏名	関西医科大学・教授・藤澤順一
研究分担者 (適宜、行を追加して	所属・職名・氏名 所属・職名・氏名	
ください。)	所属・職名・氏名 所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・鈴木健之
【研究目的】	引き起こされる。HTLV-1 感染 その発症機構及び有効な治療 γ-chain knock-out)マウスに 製し、このマウスに HTLV-1 を とに成功した。現在、このモ る。本共同研究では、HTLV-1	は、ヒトT細胞白血病ウイルス1型(HTLV-1)の感染によって なから ATL 発症に至るには数十年に及ぶ長い潜伏期を要するが、 法は確立されていない。私たちは、NOG-SCID(NOD-SCID/IL2R 、ヒト造血幹細胞を骨髄移植することによってヒト化マウスを作 を感染させることによって ATL 様病態モデルマウスを確立するこ デルマウスを用いて生体環境内でのがんの発症過程を解析してい 1 感染ヒト化マウスで再現された ATL 様病態の発現プロセスを、 発現変化に注目して解析することを目的とする。
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結構 です。)	T 細胞クローンから CD25(+)から と考えられる HTLV-1 Tax 遺伝染細胞における Tax の機能と果としての感染細胞の CD25(び CD25(+)感染細胞の cDNAの結果、CD25(-)から CD25(+いる遺伝子が多く検出された変化の検出された遺伝子にはを含む 100 種類ほどの候補遺調節機能が報告されているこ	マウスの経時的解析から、腫瘍化の進展に伴い、感染 CD25(-)CD4への形質転換が示された。一方、ATL 発症に重要な役割を果たす 云子の発現は逆に抑制されることがわかった。そこで、CD25(-) 感関連した宿主細胞遺伝子の発現及びエピゲノムの変化と、その結+)への形質転換や異常増殖の可能性を検討するため、CD25(-)およマイクロアレイ解析とゲノムメチル化の網羅的解析を行った。そ)への転換に伴って DNA メチル化が減少し、かつ発現が上昇してが、逆に DNA メチル化が増大する遺伝子は少なかった。これら、IL2RA、ATF3、CEBPA、EZH2 など重要性を報告されている遺伝子伝子が含まれていた。 Tax にはヒストン翻訳後修飾を介した転写とから、これが DNA メチル化レベルでの遺伝子発現調節に繋が候補遺伝子のうち癌化・幹細胞関連の遺伝子に注目して、ヒストた解析を進める計画である。
【成 果 等】	Ueno, Norihiro Takenouchi, Jun-Charles R Bangham, Masao Mhematopoietic cells in vivo. PLO 【学会発表】 1. 西川瑞希、大村裕樹、上里性化, 第4回日本HTLV-1学会 2. 大村裕樹、西川瑞希、Anc染細胞プロウイルスの活性 3. 田中正和、福原貴太郎、澤順一: ヒト化マウスを用病理学的検討, 第4回日本 4. Masakazu Tanaka, Takataro Yoshihiro Ueda, Tatsuo Kinashumanized mice, 第76回日本 5. Takaharu Ueno、Ancy Joseph	a, Michi Miura, Kenji Sugata, Akatsuki Saito, Hirofumi Akari, Takaharu <u>-ichi Fujisawa</u> , Masakazu Shimizu, Fumihiko Matsuda, Anat Melamed, atsuoka. Human T-cell leukemia virus type 1 infects multiple lineage OS Pathogens 13(11), e1006722, 2017

	平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書		
研究課題		膠芽腫の上皮間葉転換における GLUT1 の役割	
研究代表者	所属・職名・氏名	久留米大学医学部病理学講座・助教・古田 拓也	
	所属・職名・氏名	久留米大学医学部病理学講座・教授・杉田 保雄	
研究分担者	所属・職名・氏名	久留米大学医学部脳神経外科学講座・助教・小牧 哲	
(適宜、行を追加して	所属・職名・氏名		
ください。)	所属・職名・氏名		
受入担当教員	職名・氏名	教授・源 利成	
【研究目的】	グリオーマは腫瘍内に異なる表現型の腫瘍細胞を複雑に入れ替えて治療抵抗性を獲得してい		
	る。膠芽腫の特徴的な組織像 pseudopalisading necrosis は腫瘍細胞が上皮間葉転換		
	(epithelial-mesenchymal transition; EMT)により遊走している状態を反映している。本研究で		

は、糖代謝に関わる GLUT1 に焦点をあて膠芽腫の EMT のメカニズムを解明することを目的

【研究内容・成果】

とする。

(図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)

久留米大学病院で治療された52例の膠芽腫組織 標本に GLUT1 の免疫染色を施行したところ、染色 強度および染色細胞の割合から4段階に分類され た (グレード 1-4)。グレート 1、2 を低発現群、3、 4 を高発現群として生存解析を行うと、GLUT1 高 発現群は予後が不良であった(図1; p=0.001)。膠 芽腫の確立した予後因子を含めた多変量解析では GLUT1 高発現は独立した予後不良因子であった (p=0.003)。 膠芽腫組織における GLUT1 発現は局 在による差がみられた。特に腫瘍血管近傍の細胞で GLUT1 発現が強く、pseudopalisading necrosis 周辺、 浸潤領域と続いた(図2)。MIB-1 に陽性となる細 胞および endoglin 陽性となる血管の割合は GLUT1 高発現群で有意に大きく、GLUT1 が腫瘍 増殖と血管新生に強く関与していることが示さ

れた。 以上より膠芽腫微小環境では pseudopalisading necrosis 周辺で低酸素/低グルコース状態にさら された腫瘍細胞が EMT を起こし移動する際に、 GLUT1 発現を低下させて遊走を開始し、血管周 囲に到達したものが再度 GLUT1 発現により増 殖・血管新生スイッチを入れると考えられた (go or grow 仮説)。一方で、正常脳との境界領域に到 達した細胞は、間葉系の性質を保持している可能 性がある。あるいは近年報告されたように解糖系 のみならずミトコンドリアを利用した糖代謝機 能を獲得しているとも考えられるが、さらなる検 討が必要である。今後は細胞株を用いた基礎実験 を行い、膠芽腫微小環境における糖代謝変化と EMT の関連を検討する予定である。

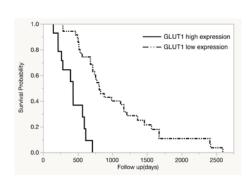


図 1. GLUT1 高発現群は予後不良

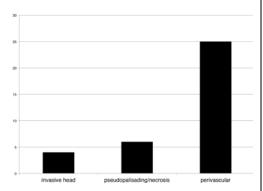


図 2. GLUT1 発現の局在性

【成 果 等】

【主な論文発表】

なし

【学会発表】

小牧哲、古田拓也、三好淳子、中島慎司、宮城尚久、杉田保雄、森岡基浩 膠芽腫における GLUT1 の発現と予後との相関について 第76回日本脳神経外科学会学術総会、平成29年10月10-12日、名古屋

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

	平成 29 年度 金沢大学が	KA進展制御研究所 共同研究報告書	
研究課題		早期薬剤耐性獲得に関わるシグナル伝達経路と遺伝子発現の 解析	
研究代表者	所属・職名・氏名	国立精神・神経医療研究センター神経研究所・室長・北條浩彦	
研究分担者	所属・職名・氏名	国立精神・神経医療研究センター神経研究所・科研費研究員 ・福岡聖之	
(適宜、行を追加	所属・職名・氏名		
してください。)	所属・職名・氏名		
	所属・職名・氏名		
受入担当教員	職名・氏名	教授・善岡克次	
【研究目的】	な問題の一つである。効果的し抑制することが重要であるである。今までの研究から楽しながら、それらの遺伝子変成立したとは考えられない。な遺伝子変化が成立し、ゲーに暴露したがん細胞は、どの	をや感染症治療において治療を減速させ、そして制限させる大きたかつ持続的な投薬治療を行うためには、薬剤耐性の発生を回避ら。そのためには、薬剤耐性のメカニズムを理解することが必要薬剤耐性に関わる多くの遺伝子変異が明らかにされてきた。しかる異が、薬剤の暴露を初めて受けた(ナイーブな)細胞で 早急に突然変異率に基づいて考えると、むしろ時間をかけてそのような上に固定化したと考える方が自然である。では、初めて薬剤のようにして生き延びたのか?この最もシンプルな問いに答えるで我々は、その問いに答えるために「初期の細胞サバイバル戦術」	
【研究内容・成果】 (図表・説明図等 を入れていただ いても結構で す。)	クな特徴を有する細胞である。 受性を示すが、ゲローの細胞である。 受性を示すが、ゲローの部性への変化が同一できた。 胞での遺伝子の発現変体(FG FGFR1 阻害剤や FGF2 を用いてれた細胞から漏れ出る FGF2 がれた細胞が高がある。 であるとめには遺伝子の発現変である。と考える。 そのためになると対したの発現変ではこると発見した。 変化を捉えると発見した。細胞生がないた。 が起こるとがは、それにのいるとがである。 が起こると発見した。細胞生どがしていた。 がしている。	Bb株、PC-9 細胞を用いて研究を行った。この PC-9 細胞はユニー。ナイーブな PC-9 細胞は抗がん剤ゲフィチニブに対して強い感がの長期暴露によって耐性細胞へと変化する。抗がん剤感受性かれて観察できることから、PC-9 細胞は薬剤耐性獲得の良いモデル我々は先ず、この細胞株を用いてゲフィチニブ感受性・耐性細質析した。その結果、ゲフィチニブ処理によって線維芽細胞増殖 FR1)遺伝子の発現が顕著に増加することを見出した。そして、た細胞生物学的解析から、最初のゲフィチニブ暴露によって殺さが、まだ生残っている細胞の生存を助けていることを発見した。が暴露から細胞が生き延びるための「利他的なサバイバル戦略」がら、このサバイバル戦術は一過性であり、恒久的な薬剤耐性獲を化が不可欠となる。そこで今回、その初期の遺伝子発現制御の行った。解析の結果、ゲフィチニブ暴露によって NF-kB の活性化して、阻害剤等を用いた解析から、この初期の遺伝子発現変化が正存にも関与していることを見出した。現在、これらの結果をま尚、この研究成果は、H29 年度金沢大学がん進展制御研究所共成がよることでも報告した(ポスター発表)。	
【成 果 等】	【主な論文発表】 現在、論文投稿中。 【学会発表】 H29 年度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(ポスター発表)	
	【その他特筆事項】	AND	

特になし。

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

		ん進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	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
研究代表者	所属・職名・氏名	千葉大学・検査部長 (診療教授)・松下 一之
	所属・職名・氏名	千葉大学・准教授・星野忠次
	所属・職名・氏名	千葉大学・講師・西村 基
研究分担者	所属・職名・氏名	千葉大学・大学院生・北村 浩一
(適宜、行を追加して	所属・職名・氏名	千葉大学・大学院生・小林崇平
ください。)	所属・職名・氏名	千葉大学・大学院生・グザヌル・アリキン
	所属・職名・氏名	千葉大学・技術補佐員・田中 信子
受入担当教員	職名・氏名	教授・源 利成
【研 究 目 的】 【研究内容・成果】	御研究分野)の一テーマである 損傷修復、癌化・白血病化、 る。具体的には、本研究は Ga 用に着目した新規の癌診断法 と Gan マウスの交配を行い、 胃癌の浸潤・転移に関わるメ	の分子病態と代謝特性にもとづく診断、治療法の開発研究(腫瘍制。FIR は相互作用する相手により c-myc の転写・転写後調節、DNA 癌代謝に関わる多機能分子であり癌診断・治療の良い標的であい マウスと FIR (FBP interacting repressor) FIR-SAP155 の相互作・治療法の開発を提案する。本研究では、FIR ヘテロ KO マウス Gan マウスに発生する胃腫瘍の浸潤を促進する因子を探して、カニズムを解明することを目的にした。
(図表・説明図等を入れていただいても結構です。)		
【成果等】	【主な論文発表】 1. Kobayashi S, Matsushita K et al. Identification of specific and common diagnostic antibody markers for gastrointestinal cancers by SEREX screening using testis cDNA phage library. Oncotarget 2018, In press. 2. Ogura Y, Hoshino T, Tanaka N, Ailiken G, Kobayashi S, Kitamura K, Rahmutulla B, Kano M, Murakami K, Akutsu Y, Nomura F, Itoga S, Matsubara H and Matsushita K. Disturbed alternative splicing of FIR (PUF60) directed cyclin E overexpression in esophageal cancers. Oncotarget 2018, In press. 3. Kimura A, Kitamura K, Ailiken G, Satoh M, Minamoto T, Tanaka N, Nomura F, and Matsushita K. FIR haplodeficiency promotes splicing to pyruvate kinase M2 in mice thymic lymphoma tissues revealed by six-plex tandem mass tag quantitative proteomic analysis. Oncotarget. 2017Jul 7;8(40):67955-67965. 4. 小林 崇平, 松下 一之,日和佐 隆樹 新規腫瘍マーカーと術後モニタリングマーカー候補としての消化器癌患者血清における抗FIRs自己抗体の検出 日本分子腫瘍マーカー研究会誌 32(0), 39, 2017 【学会発表】 Kazuyuki Matsushita. Establishment of screening network for hereditary cancers by genetic testing and counselling in Chiba Prefecture. 日本癌学会(横浜)2017.9.28-30. 3. Kazuyuki Matsushita and Sohei Kobayashi Anti-FIRs (PUF60) auto-antibodies are detected in the sera of early-stage colon cancer patients. Biomarker Research in Clinical Medicine. February 19-21, 2018. Paris.	

【その他特筆事項】特になし。

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

		ん進展制御研究所 共同研究報告書	
	研究課題	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	
研究代表者	所属・職名・氏名	東京都健康長寿医療センター病理診断科・医長・松田陽子	
	所属・職名・氏名	東京都健康長寿医療センター病理診断科・部長・新井冨生	
研究分担者	所属・職名・氏名	東京都健康長寿医療センター老年病理学研究チーム・	
(適宜、行を追加して	-ru ====================================	研究部長・石渡俊行	
ください。)	所属・職名・氏名 所属・職名・氏名		
	,,,,,,	人为上类 367 英量地加工党部场内的人的 数板 海利中	
受入担当教員 【研 究 目 的】	職名・氏名	金沢大学・がん進展制御研究所腫瘍制御分野・教授・源利成	
THU YE II HJ		老化の中心的役割を担うと考えられるが、ヒトにおける幹細胞	
	の老化や加齢性変化は不明な	点が多い。膵臓では、老化に伴って内分泌細胞の減少や膵管上	
	皮の化生性変化を来し、これ	らの変化が糖尿病や膵癌の発生原因と考えられるため、老化の	
	疾病に与える影響の解明は重	要である。テロメアは染色体末端に存在する保護装置であり、	
	組織前駆細胞ではテロメア長	が長く保持されるという特徴を有すると報告されている。本研	
	究では、膵臓の組織前駆細胞	におけるテロメアの変化とその制御機構を明らかにする。これ	
	により、組織幹細胞を標的と	した修復機能改善による健康保持を目指す。	
【研究内容・成果】	- 「 L 里町 Huorescence in situ hybridization (U-rish) 伝を用い、膵臓のノロクノ文を側足した		
(図表・説明図等を入れていただいても結	ころ、膵癌および膵臓の前癌病変では、テロメア長が短縮していた。また、担癌者では非担		
構です。)	癌者にくらべ、背景の膵組織の非腫瘍性の腺上皮においてもテロメア長の短縮が見られた。		
	テロメア長の短縮は加齢とともに生じ、長いテロメアを有する組織前駆細胞様の細胞の割合		
	も加齢とともに減少した。 また、膵癌や膵前癌病変を有する症例では、これまでに報告されていない一塩基乳		
		異なる分子病理学的発癌機序が示唆された。一塩基多型の変化	
は、膵癌と膵前癌病変でそれぞれ異なっており、多くの前癌病変			
	続性の病変であることが示唆された。		
	以上より、加齢とともに膵管上皮のテロメア長の短縮を生じ、それによって惹起される染		
	色体不安定性が高齢者の膵発	癌に大きな影響を及ぼすこと、また高齢者の膵癌は中年齢層の	
	膵癌とは異なる特徴を有する	ことが明らかとなった。	
【成 果 等】	【主な論文発表】		
		awabe M, Mori S, Muramatsu M, Mieno MN, Furukawa T, Arai T.	
	•	creatic intraepithelial neoplasias, pancreatic ductal adenocarcinomas,	
		morphisms in autopsied elderly patients. Genes Chromosomes Cancer.	
	2017 Epub ahead of print. 2 Mateuda V. Furukawa T. V.	Sachida S. Nighimura M. Salri A. Napalea V. Aida I. Taluska V. Ishimata	
		achida S, Nishimura M, Seki A, Nonaka K, Aida J, Takubo K, Ishiwata N, Kanudson M. The Prayalence and Clinicopathological Characteristics	
		p-Kenudson M. The Prevalence and Clinicopathological Characteristics of Intraepithelial Neoplasia: Autopsy Study Evaluating the Entire	
	Pancreatic Parenchyma. Pa		
	i ancicatic i aithuigilla. Fa	IIICICUS. 2017 TU.UJU-UUT.	

3. <u>Matsuda Y</u>, 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. 2017 108:354-361.

【学会発表】

【その他特筆事項】

	平成 29 年度 金沢大学が	ん進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	肺がんの患者由来腫瘍ゼノグラフト (PDX)モデルの作成
研究代表者	所属・職名・氏名	金沢大学・准教授・松本 勲
研究分担者	所属・職名・氏名	金沢大学・講師・田村昌也
(適宜、行を追加して	所属・職名・氏名	
ください。)		
受入担当教員	職名・氏名	教授・矢野 聖二
【研究内容・成果】 (図表・説明図等をみれていただいても結構です。)	正が少再しいない。のののでは、大きないのでは、大きないでは、大きないでは、大きないで、大きない、大きない、大きないで、大きない、大きない、大きない、大きない、大きない、大きない、大きない、大きない	(NSCLC)患者の手術切除組織を用い免疫不全マウスに皮下移植検討した。30 例中 9 例 (30%) で PDX が形成された。組織型別 6/10 (60%)、腺がん 4/19 (21%)、その他 0/1(0%)であった。PDX を形成する傾向にあった。また、高齢者では PDX の成功頻度が パ腫が多かった。 で HE で手術検体と PDX 腫瘍(2 代継代: P2)を比較検討したが、 Rっていた。さらに、9 例中 6 例について免疫染色による解析を ass I 発現はほぼ保たれていたが、一部の症例では原発腫瘍内に 腫瘍で均一に減弱あるいは増強しているものがあった。これらが PDX の腫瘍を形成していることが示唆された。P2 の PDX で た。また、腫瘍の遺伝子変異や mRNA 発現は概ね患者腫瘍のそ 異陽性の 2 例において PDX 腫瘍が形成された。EGFR 変異陽性 一ゼ阻害薬に高い感受性を示した。 割で PDX が形成され、PDX は腫瘍細胞の特徴をよく保持してお 測に有用であることが示唆された。
	Establishment of patient-derived	Fukuda K, Nishiyama A, Tamura M, Matsumoto I, Takeuchi S. d xenograft models of lung adenocarcinoma with two different EGFR eletion. Fifth AACR-IASLC International Joint Conference, 2018 年 1

【その他特筆事項】なし

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

		ん進展制御研究所 共同研究報告書	
	研究課題	がん抑制遺伝子と概日リズムの関連に関する研究	
研究代表者	所属・職名・氏名	京都大学・特定助教・三木貴雄	
	所属・職名・氏名	京都大学・教授・野田亮	
研究分担者	所属・職名・氏名		
(適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名		
(/2010)	所属・職名・氏名		
受入担当教員	職名・氏名	教授・高橋智聡	
【研究目的】	物の基本的な機構である。近パイロット)は、がん罹患率が保てない <i>Period2</i> 欠損マリと概日リズムの密接な関連性題では、がん抑制遺伝子 Rb	イクルを含む一日約24時間の生体の恒常性を制御している生 任年の大規模疫学研究によると、シフトワーク従事者(看護師、 が有意に上昇することが報告された。また、正常な概日リズム ウスは癌になりやすいことが報告されている。このことは、がん を示唆しているが、その分子機構は不明な点が多い。本研究課 が概日リズム遺伝子を制御する機構を解明し、がん抑制遺伝子 車を明らかにすることを目的とする。	
【研究内容・成果】		、以下のような結果を得ている。	
(図表・説明図等を入れていただいても結	 1. pRb の強制発現により、	PER2 の PAS ドメインへのへム結合制御依存的に Cry1 プロモ	
構です。)	ーターの転写活性を抑制した。		
	2. pRb ヘテロマウスの概日リズム行動解析及びにより肝臓特異的 Rb 欠損マウスの解析によ		
		ベルで概日リズムに影響を与えることを明らかにした。	
	そこで本年度は以上の結果	から、がんにおいて多く見られる Rb 欠損の表現型である細胞周	
	期異常、分化異常、代謝異常をヘム制御の欠損が担っている可能性を検討した。Rb 欠損では、		
	PER2 のへムの結合が過剰となることから、ヘム合成阻害剤を用いてヘムのヘム蛋白質への結		
	合量を減少させた場合に Rb の	の表現型をどれだけレスキューできるのかどうかを検討した。	
	へム合成阻害剤の Rb 表現型	レスキューを PER2 の経路で確認した。_	
	正常 MEF 細胞にコントロー	-ルもしくは Rb に対する shRNA を処理した細胞を用意し、Cry1	
	の発現増加を qRT-PCR 法に	こより確認した。その後へム合成阻害剤である	
	N-methylprotoporphyrin D	K (NMP, sigma)で細胞を処理し、Rb 減少による PER2 のへム結	
	 合量増加を薬の作用で減少さ	させた場合に、転写標的である Cry1 の発現がレスキューされる	
	かどうかを qRT-PCR 法によ	こり確認することが出来た。	
【成 果 等】	【主な論文発表】		
	【学会発表】 がん抑制遺伝子Rbによる概	日リズムの制御 日本時間生物学会 2017 年11月京都	
	【その他特筆事項】		

研究課題	ヒト陥凹型大腸が 解明	ぶんにおける	浸潤能と悪性原	度の獲得機構の	
所属・職名・氏名	九州大学病院別府病院・教授・三森 功士			茶 功士	
所属・職名・氏名 九州大学病院別府病院・研究生・神山 勇太			山 勇太		
所属・職名・氏名	・氏名				
 所属・職名・氏名	所属・職名・氏名				
ださい。) 所属・職名・氏名					
職名・氏名					
陥凹型大腸がんの原発巣組織について同様に進化を解明する。典型的なヒト大腸がん臨床検体を用いたゲノム解析と比較することにより、陥凹型がん特有の進化の選択圧は何か?明らかにする。また、大島正伸先生等はドライバー遺伝子を組み合わせて変異を導入したマウスモデルを有しており、特に「浸潤傾向」を示す特定の遺伝子変異の組み合わせを明らかにした。本研究では次世代シークエンサーを用いた統合的遺伝子解析により、陥凹型大腸癌がに高い悪性度を呈する機序についての分子生物学的特徴を明らかにする			圧は何か?明ら 導入したマウス せを明らかにし		
【対象と方法】当院及び関連施設で切除された陥凹型粘膜下層浸潤(T1)癌 8 例および隆起型T1 癌 8 例の原発巣から DNA および RNA を抽出、whole exome sequence および RNA sequence を施行し、統合的遺伝子解析を行った。 【結果】APC 変異は陥凹型 100%隆起型 62.5%、TP53 変異は陥凹型 75%隆起型 62.5%に認めた一方で KRAS 変異は陥凹型 12.5%隆起型 62.5%と陥凹型に少なかった。染色体 copy 数解析では、20q、7p,q、8q の増幅は共通して認めていたが、20p は陥凹型 87.5%隆起型 0%と陥凹型に有意に多かった。また、13p,q の増幅は陥凹型 37.5%隆起型 0%に認めた。RNA 発現を Gen Set Enrichment Analysis により比較すると、陥凹型大腸癌において隆起型大腸癌に比めを1 を1 を1 を1 を1 を2 を1 を2				び RNA sequence 62.5%に認めた。 本 copy 数解析で 起型 0%と陥凹型 RNA 発現を Gene 型大腸癌に比べ よを認めていた。 たところ、本陥	
やすいという臨床的特徴を有し	【結論】陥凹型は腫瘍径の小さいうちに進行し				
変異、20p および 13p, q 染色体	増幅を認め、EMT	RNA expression	IGF2ほか		
	および血管新生に関わる RNA 発現が上昇してい るという、分子生物学的特徴が考えられた。 RNA pathway EMT Angiogenesis				
 【主な論文発表】 Kiyozumi Y, Iwatsuki M, Kurashige J, Ogata Y, Yamashita K, Koga Y, Toihata T, Hiyoshi Y, Ishimoto T, Baba Y, Miyamoto Y, Yoshida N, Yanagihara K, Mimori K, Baba H. PLOD2 as a potential regulator of peritoneal dissemination in gastric cancer. Int J Cancer. 2018. Tanikawa C, Kamatani Y, Takahashi A, Momozawa Y, Leveque K, Nagayama S, Mimori K, Mori M, Ishii H, Inazawa J, Yasuda J, Tsuboi A, Shimizu A, Sasaki M, Yamaji T, Sawada N, Iwasaki M, Tsugane S, Naito M, Wakai K, Koyama T, Takezaki T, Yuji K, Murakami Y, Nakamura Y, Kubo M, Matsuda K. GWAS Identifies Two Novel Colorectal Cancer Loci at 16q24.1 and 20q13.12. Carcinogenesis. 2018. Clinicopathological characteristics of disseminated carcinomatosis of the bone marrow in breast cancer patients. Shinden Y, Sugimachi K, Tanaka F, Fujiyoshi K, Kijima Y, Natsugoe S, Mimori K. Mol Clin Oncol. 8(1):93-98. 2018. Niida A, Nagayama S, Miyano S, Mimori K. Understanding intratumor heterogeneity by combining genome analysis and mathematical modeling. Cancer Sci. 2018. Maeda T, Mimori K, Suzuki S, Horiuchi T, Makino N. Preventive and promotive effects of habitual hot spa-bathing on the elderly in Japan. Sci Rep. 8(1):133. 2018. Nambara S, Masuda T, Nishio M, Kuramitsu S, Tobo T, Ogawa Y, Hu Q, Iguchi T, Kuroda Y, 			pa H. PLOD2 as a 2018. a S, Mimori K, ji T, Sawada N, furakami Y, Cancer Loci at e marrow in na Y, Natsugoe ogeneity by		
	所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 職名・氏名 の原発巣組織になる。また、大島正伸先生でルを有しており、特に「浸た。本研究では次世代シークエ高い悪性度を呈する機序について、一方で KRAS 変異は陥凹型 1000一方で KRAS 変異は陥凹型 12.5 は、20q、7p,q、8qの増幅は共に有意に多かった。また、13p Set Enrichment Analysis によりは、20q、7p,q、8qの増幅は共に有意に多かった。また、13p Set Enrichment Analysis によりは、20q、7p,q、8qの増幅は共に有意に多かった。また、13p Set Enrichment Analysis によりでは、KRAS mutation症例にした。 「結論】陥凹型は腫瘍径の小さののでは、KRAS mutation症例にした。 「結論】陥凹型は腫瘍径の小さのかにした。 「結論】陥凹型は腫瘍径の小さのがにした。 「結論】陥凹型は腫瘍径の小さのがにした。 「結論】陥凹型は腫瘍径の小さのがにした。 「活論】陥凹型は腫瘍径の小さのがによいる。分子生物学的特徴があるという、分子生物学的特徴があるという、分子生物学的特徴があるという、分子生物学の特徴があるという、分子生物学の特徴があるという、分子生物学の特徴があるという、分子生物学の特徴があるという、分子生物学の特徴があるという、分子生物学の特徴があるという、分子生物学の特徴があるという、分子生物学の特徴があるという、分子生物学の特徴があるという、分子生物学の特徴があるという、別様は、Mimori K. Mol Clin Onc. Mida A, Nagayama S, Miyacombining genome analysis 5. Maeda T, Mimori K, Suzuk	解明 所属・職名・氏名 職名・氏名 職名・氏名 職名・氏名 職名・氏名 随凹型大腸がんの原発巣組織について同様に進化体を用いたゲノム解析と比較することにより、陥潰モデルを有しており、特に「浸潤傾向」を示す特た。本研究では次世代シークエンサーを用いた納高い悪性度を呈する機序についての分子生物学的 【対象と方法】当院及び関連施設で切除された陥がを施行し、統合的遺伝子解析を行った。 【結果】APC変異は陥凹型100%隆起型62.5%と下は、20q、7p、q、8qの増幅は共通して認めていたて有意に多かった。また、13p、qの増幅は路凹型Set Enrichment Analysis により比較すると、下度可はは、KRAS mutation症例に比べ7p、13pq、20pqにおいて、amplificationが多いことを明らかにした。 【結論】陥凹型は腫瘍径の小さいうちに進行しやすいという臨床的特徴を有しているが、その原因として、早期癌のうちからAPC およびTP53、でスの原因として、早期癌のうちからAPC およびTP53で異、20p および13p、q 染色体増幅を認め、EMTおよび血管新生に関わる RNA 発現が上昇しているという、分子生物学的特徴が考えられた。 【主な論文発表】 1. Kiyozumi Y, Iwatsuki M, Kurashige J, Ogata Y Ishimoto T, Baba Y, Miyamoto Y, Yoshida N, Y potential regulator of peritoneal dissemination in 1 Lwasaki M, Tsugane S, Naito M, Wakai K, Koyi Nakamura Y, Kubo M, Matsuda K, GWAS Ider 16q24.1 and 20q13.12. Carcinogenesis. 2018. 3. Clinicopathological characteristics of dissemina breast cancer patients. Shinden Y, Sugimachi K, Mimori K. Mol Clin Oncol. 8(1):93-98. 2018. 4. Niida A, Nagayama S, Miyano S, Mimori K. U combining genome analysis and mathematical n Maeda T, Mimori K, Suzuki S, Horiuchi T, Ma	所属・職名・氏名 九州大学病院別府病院所属・職名・氏名 九州大学病院別府病院所属・職名・氏名 九州大学病院別府病院所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 勝名・氏名 勝名・氏名 勝名・氏名 勝名・氏名 勝名・氏名 勝名・氏名 勝名・氏名 勝名・氏名 勝名・氏名 地名・氏名 神経・大きな 一次 100円 100円 100円 100円 100円 100円 100円 100	所属・職名・氏名 九州大学病院別府病院・教授・三和 所属・職名・氏名 九州大学病院別府病院・研究生・神 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 一 教授・大島 正伸 職名・氏名 一	

Ito S, Eguchi H, Sugimachi K, Saeki H, Oki E, Maehara Y, Suzuki A, <u>Mimori K</u>. Antitumor

- effects of the antiparasitic agent ivermectin via inhibition of Yes-associated protein 1 expression in gastric cancer. Oncotarget. 8(64):107666-107677. 2017.
- Sakai E, Nakayama M, Oshima H, Kouyama Y, Niida A, Fujii S, Ochiai A, Nakayama KI, <u>Mimori K</u>, Suzuki Y, Hong CP, Ock CY, Kim SJ, Oshima M. Combined mutation of Apc, Kras and Tgfbr2 effectively drives metastasis of intestinal cancer. Cancer Res. pii: canres.3303.2017. 2017.
- 8. Hu Q, Masuda T, Sato K, Tobo T, Nambara S, Kidogami S, Hayashi N, Kuroda Y, Ito S, Eguchi H, Saeki H, Oki E, Maehara Y, <u>Mimori K</u>. Identification of ARL4C as a Peritoneal Dissemination-Associated Gene and Its Clinical Significance in Gastric Cancer. Ann Surg Oncol. 25(3):745-753. 2018.
- 9. Takano Y, Masuda T, Iinuma H, Yamaguchi R, Sato K, Tobo T, Hirata H, Kuroda Y, Nambara S, Hayashi N, Iguchi T, Ito S, Eguchi H, Ochiya T, Yanaga K, Miyano S, <u>Mimori K</u>. Circulating exosomal microRNA-203 is associated with metastasis possibly via inducing tumor-associated macrophages in colorectal cancer. Oncotarget. 8(45):78598-78613.2017.
- 10. Masuda T, Hayashi N, Kuroda Y, Ito S, Eguchi H, <u>Mimori K</u>. MicroRNAs as Biomarkers in Colorectal Cancer. Cancers (Basel). 9(9). pii: E124. 2017.
- 11. Takahashi Y, Sugimachi K, Yamamoto K, Niida A, Shimamura T, Sato T, Watanabe M, Tanaka J, Kudo S, Sugihara K, Hase K, Kusunoki M, Yamada K, Shimada Y, Moriya Y, Suzuki Y, Miyano S, Mori M, <u>Mimori K</u>. Japanese genome-wide association study identifies a significant colorectal cancer susceptibility locus at chromosome 10p14. Cancer Sci. 108(11):2239-2247. 2017.
- 12. Ito S, Masuda T, Harada N, Matsuyama A, Hamatake M, Maeda T, Tsutsui S, Matsuda H, <u>Mimori K</u>, Ishida T. Diagnostic laparoscopy for pneumatosis intestinalis in a very elderly patient: A case report. Ann Med Surg (Lond). 21:109-113. 2017.
- Nambara S, Masuda T, Tobo T, Kidogami S, Komatsu H, Sugimachi K, Saeki H, Oki E, Maehara Y, <u>Mimori K</u>. Clinical significance of *ZNF750* gene expression, a novel tumor suppressor gene, in esophageal squamous cell carcinoma. Oncol Lett. 14(2):1795-1801. 2017.
- 14. Sudo T, Takahashi Y, Sawada G, Uchi R, <u>Mimori K</u>, Akagi Y. Significance of CD47 expression in gastric cancer. Oncol Lett. 14(1):801-809. 2017.
- 15. Ito S, Kai Y, Masuda T, Tanaka F, Matsumoto T, Kamohara Y, Hayakawa H, Ueo H, Iwaguro H, Hedrick MH, <u>Mimori K</u>, Mori M. Long-term outcome of adipose-derived regenerative cell-enriched autologous fat transplantation for reconstruction after breast-conserving surgery for Japanese women with breast cancer. Surg Today. 47(12):1500-1511. 2017.
- 6. Sasaki S, Ueda M, Iguchi T, Kaneko M, Nakayama H, Watanabe T, Sakamoto A, <u>Mimori K</u>. DDR2 Expression Is Associated with a High Frequency of Peritoneal Dissemination and Poor Prognosis in Colorectal Cancer. Anticancer Res. 37(5):2587-2591. 2017.
- 17. Sato K, Masuda T, Hu Q, Tobo T, Kidogami S, Ogawa Y, Saito T, Nambara S, Komatsu H, Hirata H, Sakimura S, Uchi R, Hayashi N, Iguchi T, Eguchi H, Ito S, Nakagawa T, **Mimori K**. Phosphoserine Phosphatase Is a Novel Prognostic Biomarker on Chromosome 7 in Colorectal Cancer. Anticancer Res. 37(5):2365-2371. 2017.
- 18. Ueda M, Iguchi T, Masuda T, Komatsu H, Nambara S, Sakimura S, Hirata H, Uchi R, Eguchi H, Ito S, Sugimachi K, Mizushima T, Doki Y, Mori M, <u>Mimori K</u>. Up-regulation of *SLC9A9* Promotes Cancer Progression and Is Involved in Poor Prognosis in Colorectal Cancer. Anticancer Res. 37(5):2255-2263. 2017.
- 19. Matsui Y, Niida A, Uchi R, <u>Mimori K</u>, Miyano S, Shimamura T. phyC: Clustering cancer evolutionary trees. PLoS Comput Biol. 13(5):e1005509. 2017.
- 20. Tsukao Y, Yamasaki M, Miyazaki Y, Makino T, Takahashi T, Kurokawa Y, Miyata H, Nakajima K, Takiguchi S, <u>Mimori K</u>, Mori M, Doki Y. Overexpression of heat-shock factor 1 is associated with a poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. Oncol Lett. 13(3):1819-1825. 2017.
- 21. Shibamoto M, Hirata H, Eguchi H, Sawada G, Sakai N, Kajiyama Y, <u>Mimori K</u>. The loss of *CASP4* expression is associated with poor prognosis in esophageal squamous cell

- carcinoma. Oncol Lett. 13(3):1761-1766. 2017.
- Sugimachi K, Nishio M, Aishima S, Kuroda Y, Iguchi T, Komatsu H, Hirata H, Sakimura S, Eguchi H, Bekki Y, Takenaka K, Maehara Y, Suzuki A, <u>Mimori K</u>. Altered Expression of Hippo Signaling Pathway Molecules in Intrahepatic Cholangiocarcinoma. Oncology. 93(1):67-74. 2017.
- 23. Takano S, Hu Q, Amamoto T, Refinetti P, <u>Mimori K</u>, Funatsu T, Kato M. Extraction of cell-free DNA from urine, using polylysine-coated silica particles. Anal Bioanal Chem. 409(16):4021-4025. 2017.
- Otsubo K, Goto H, Nishio M, Kawamura K, Yanagi S, Nishie W, Sasaki T, Maehama T, Nishina H, <u>Mimori K</u>, Nakano T, Shimizu H, Mak TW, Nakao K, Nakanishi Y, Suzuki A. MOB1-YAP1/TAZ-NKX2.1 axis controls bronchioalveolar cell differentiation, adhesion and tumour formation. Oncogene. 36(29):4201-4211. 2017.
- Komatsu H, Masuda T, Iguchi T, Nambara S, Sato K, Hu Q, Hirata H, Ito S, Eguchi H, Sugimachi K, Eguchi H, Doki Y, Mori M, <u>Mimori K</u>. Clinical Significance of *FANCD2* Gene Expression and its Association with Tumor Progression in Hepatocellular Carcinoma. Anticancer Res. 37(3):1083-1090. 2017.
- Sudo T, Nishida R, Kawahara A, Saisho K, <u>Mimori K</u>, Yamada A, Mizoguchi A, Kadoya K, Matono S, Mori N, Tanaka T, Akagi Y. Clinical Impact of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. Ann Surg Oncol. 24(12):3763-3770. 2017.
- 27. Iwaya T, Sawada G, Amano S, Kume K, Ito C, Endo F, Konosu M, Shioi Y, Akiyama Y, Takahara T, Otsuka K, Nitta H, Koeda K, Mizuno M, Nishizuka S, Sasaki A, **Mimori K**. Downregulation of ST6GALNAC1 is associated with esophageal squamous cell carcinoma development. Int J Oncol. 50(2):441-447. 2017.
- 28. Nambara S, Iguchi T, Oki E, Tan P, Maehara Y, <u>Mimori K</u>. Overexpression of CXCR7 Is a Novel Prognostic Indicator in Gastric Cancer. Dig Surg. 34(4):312-318. 2017.
- 29. Kasagi Y, Oki E, Ando K, Ito S, Iguchi T, Sugiyama M, Nakashima Y, Ohgaki K, Saeki H, <u>Mimori K</u>, Maehara Y. The Expression of CCAT2, a Novel Long Noncoding RNA Transcript, and rs6983267 Single-Nucleotide Polymorphism Genotypes in Colorectal Cancers. Oncology. 92(1):48-54. 2017.
- 30. Komatsu H, Iguchi T, Masuda T, Hirata H, Ueda M, Kidogami S, Ogawa Y, Sato K, Hu Q, Nambara S, Saito T, Sakimura S, Uchi R, Ito S, Eguchi H, Sugimachi K, Eguchi H, Doki Y, Mori M, Mimori K. Attenuated RND1 Expression Confers Malignant Phenotype and Predicts Poor Prognosis in Hepatocellular Carcinoma. Ann Surg Oncol. 24(3):850-859. 2017.

【学会発表】

- 1. がん治療における革新的変化を踏まえた最先端技術,新たな開発戦略の現状と今後の 方向性,講演,三森功士.第 23 回抗悪性腫瘍薬開発フォーラム, 2017.6.24 東京.
- 2. 大腸がんの進化と転移再発を決める選択圧について,招待講演,<u>三森功士</u>.昭和大学 横浜北部病院 2017 年消化器センター軽井沢セミナー,2017.6.30,軽井沢.
- 3. 消化器癌における ctDNA 検出の臨床的意義と臨床応用にむけての提言, 特別企画 5, 三森功士. 第 72 回日本消化器外科学会, 2017.7.21, 金沢.
- 4. 消化器がん症例の様々な臨床的局面における血中 ctDNA 突然変異検出の意義, シンポジウム, <u>三森功士</u>. 第 26 回日本がん転移学会, 2017.7.27 大阪.
- 5. ctDNA において突然変異の検出が可能な原発巣の特徴, コアシンポジウム, <u>三森功士</u>. 第 76 回日本癌学会学術総会. 2017.9.29 横浜.
- 6. 大腸発がんから進行がんにいたる過程のゲノムレベル進化について, 講演, <u>三森功士</u>. 第3回がんゲノム・エピゲノムセミナー 2017.10.7 札幌.
- 7. 食道がんゲノム情報に基づく診断と治療戦略の構築, ワークショップ, <u>三森功士</u>. JDDW2017.2017.10.14 福岡.
- 8. 消化器がん転移再発診断と治療評価法に関する ctDNA 解析の臨床的有用性と今後の課題、シンポジウム、三森功士、第55回日本癌治療学会学術集会、2017.10.20、横浜.
- 9. 薬物動態から見直す大腸がん化学療法,モーニングセミナー招待, 三森功士. 第 28 回日本消化器癌発生学会, 2017.11.8, 熊本.

- 10. がん転移再発の早期診断における ctDNA の臨床的有用性について, 講演, <u>三森功士</u>. JBIC バイオ関連基盤技術研究会, 2017.11.29, 東京.
- 11. 大腸がんにおける新たな進化と多様性創出機構について,講演,<u>三森功士</u>. Translation Research Seminar, 2017.12.5, 奈良.
- 12. 大腸がんにおける新たな進化と選択圧について,講演招待,<u>三森功士</u>. 第2回消化器外科臨床応用をめざす研究交流会,2018.1.26,名古屋.
- 13. 大腸がんにおける進化機構のシフトによる腫瘍内多様性の創出, コアシンポジウム, 三森功士. 第 14 回日本消化管学会総会学術集会, 2018.2.9, 東京.
- 14. Evolution of CRC via Genetic Alteration Hampering Immune Response. The 33rd Nagoya International Cancer Treatment Symposium Mimori K 2018.2.11 Aichi Cancer Center 名古屋.
- 15. 大腸発がんからがん進展における新たな進化機構について北信がんプロ 第2回オンコロジーセミナー 特別講演 三森功士 2018.3.26 各大学・各医療施設がんプロ会議室. 富山

	平成 29 年度 金沢大学が	ん進展制御研究所 共同研究報告書		
	研究課題	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		
研究代表者	所属・職名・氏名	山梨大学大学院総合研究部社会医学講座・講師・三宅邦夫		
	所属・職名・氏名	金沢大学がん進展制御研究所腫瘍内科・講師・大坪公士郎		
研究分担者	所属・職名・氏名	金沢大学がん進展制御研究所腫瘍内科・助教・山下 要		
(適宜、行を追加して	所属・職名・氏名	金沢大学がん進展制御研究所腫瘍内科・助教・福田康二		
ください。)	所属・職名・氏名	金沢大学がん進展制御研究所腫瘍内科・教授・矢野聖二		
受入担当教員	職名・氏名	教授・矢野聖二		
【研究目的】	がんの発生や進展過程においてエピジェネティクス異常が大きく関与していることが報告されている。近年、マイクロ RNA (miRNA) の発現異常がさまざまながんで報告され、その発現調節に DNA メチル化が関与していると考えられている。しかしながら、膵癌の早期診断のマーカーとなる miRNA の発現及び DNA メチル化異常、抗がん薬への感受性や抵抗性に関連する miRNA の検討はほとんどなされていない。本研究は、膵癌及び膵管内乳頭粘液性腫瘍 (IPMN) 症例から内視鏡的に採取した膵癌組織、膵液, 胆汁などの各種臨床サンプルを用いて、膵癌あるいは悪性 IPMN 症例において特異的に DNA メチル化異常を呈する miRNA を同定することで、膵癌早期診断マーカーを確立することを目的とする。			
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入れていただいても結構です。)	れ、エピジェネティックな遺瘍では「癌抑制型 miRNA」がmiRNAの異常発現の基盤となそこで本研究では、癌抑制型 miRNA の異常発現の基盤となるとこで本研究では、癌抑制型 miRNA の質は自己を MiRNA の間に MiR に	曽やし、PC において統計学的有意に DNA メチル化異常を呈する 金沢大学がん進展制御研究所で多数保存されている膵癌及び膵管 E例から内視鏡的に採取した膵癌組織、膵液及び血液などの各種 以外の組織におけるメチル化率の解析、各種組織間の DNA メチ ることが必要である。さらには DNA メチル化変化に伴う miRNA Eがある。膵癌の早期診断法の確立を目指して今後も継続して共		
【成果等】	【主な論文発表】 特になし			
	【学会発表】 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制型 miRNA のメチル化異常に関する検討. 第 48 回日本膵臓学会大会(京都) 2017 年 7 月			

【その他特筆事項】

平成 29-31 年度・科学研究費基盤 C 分担 "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"(代表:金沢大学・大坪公士郎)

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

		ん進展制御研究所 共同研究報告書			
	研究課題	膵がん治療耐性に伴う幹細胞性獲得機構における GSK3β/STAT3 経路の機能解析			
研究代表者	所属・職名・氏名	金沢大学附属病院・肝胆膵移植外科・助教・宮下知治			
	所属・職名・氏名	金沢大学医薬保健研究域医学系・がん局所制御学・ 教授・太田哲生			
研究分担者(適宜、行を追加して	所属・職名・氏名	金沢大学医薬保健研究域医学系・消化器・腫瘍・再生外科学 大学院生・竹中 哲			
ください。)	所属・職名・氏名	がん進展制御研究所・腫瘍制御・堂本貴寛			
	所属・職名・氏名	がん進展制御研究所・腫瘍制御・上原将大			
受入担当教員	職名・氏名	教授・源 利成			
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	亡率ともに増加傾向にある。 療法への耐性であるが、この ている可能性が示唆されてい 質のメカニズムの解明とそれ Signal transducer and activ く転写因子であるが、膵癌の 告されている。 本研究では、膵癌の化学療法 的な耐性を示すように樹立さ た glycogen synthase kinas STAT3 経路の機能解析を行っ 教室では、北里大学北里研究 癌細胞 BxPC-3 をもとに樹立し 頂いている。	所病院バイオメディカルリサーチセンター竹内教授らがヒト膵した GEM 耐性細胞株 (Anti-cancer Drugs 2015;26:90-100) を供与 1.5 OCT3/4 2 Nanog 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1			
I A H A	R-A014418 AR-A014418	1.5 0.5 0.5 0.5 0.5 0.5 0.5 0.5 0			
【成 果 等】	【主な論文発表】				
	【学会発表】 【その他特筆事項】				

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

	研究課題	スキルス胃癌の間質増生機序特定と癌性腹膜炎発症機構の本
		態解明に基づく新規胃癌標的治療法の確立
研究代表者	所属・職名・氏名	金沢医科大学・教授・安本 和生
	所属・職名・氏名	金沢医療センター・科長・川島 篤弘
研究分担者	所属・職名・氏名	金沢医科大学・助教・葛西 傑
(適宜、行を追加して	所属・職名・氏名	
ください。)	所属・職名・氏名	
 受入担当教員	 職名・氏名	教授・矢野 聖二
【研究目的】		かん ハス
TWI JE H HJI	ルス胃癌に代表される高度な 進行・再発胃癌死亡の半数足 て予後不良な胃癌である。本 間質増生ならびに癌性腹膜炎 本研究では、癌微小環境の親 胞の真の成り立ちとその役害	宇癌間質増生を伴うびまん浸潤性胃癌(以下、スキルス胃癌)は、 (上を占め、悪性腹水を伴う癌性腹膜炎を高頻度に発症する極め 疾病態特異的な発育進展、とくにびまん性癌細胞浸潤と高度な癌 医高頻度発症の成因は不明であり今なお効果的な治療法がない。 所たな視点に基づく解析、すなわちスキルス胃癌特異的癌間質細 別について、今後の癌間質を標的とした治療のパラダイムシフト デ異的な癌間質の性状・活性化因子の同定・癌細胞との相互作用
	から解明を図り、新規胃癌標	
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入れていただいても結構です。)	今後の癌間質を標的とした治の性状・活性化因子の同定(スキルス胃癌特異的癌間質のの形質特性と biology の詳細である所質特性を biology の詳細である Fibroblast activation	ス胃癌特異的癌間質の成り立ちと増生、その真の役割について、 済療のパラダイムシフトをも視野にスキルス胃癌特異的な癌間質 HGF / HB-EGF の役割を中心に解析)・癌細胞との相互作用から、 の成り立ちと増生、その真の役割について解明を図った。癌間質細な検討から、治療のパラダイムシフトを視野に新たなバイオマ 療法の開発を目指すことを目的に研究活動を行っている。 明らかにするためにスキルス胃癌原発巣 24 例を対象に、α-SMA、 ofibroblast 産生増強作用が報告)、線維芽細胞活性化因子の一 tion protein (FAP) ならびに、間質線維芽細胞より産生誘導さ にに深く関与する HGF の発現を免疫組織学的に検討した。FAPでは、
	その産生制御および生物活性プルのがん性腹水中の濃度もプルのがん性腹水中の濃度も性薬は、それぞれ87.5%(2 FAP は胃癌細胞に対して著明約10倍高濃度のFAPが存在の検討を追加し癌間質でクロキルス胃癌細胞ならびにHGF/F イプのマクロファージが重要芽細胞の増殖ならびにHGF/F イプのマクロファージが重要排胞表面のHER1/4のレセプクを関表を通じて、治療のパラ的治療法の開発を目指すため	Eを胃がん細胞株ならびに初代培養線維芽細胞を用い、臨床サン
【成 果 等】		al. "The characteristic features of cancer stroma in the gastric cancer." 第76回日本癌学会2017年9月 パシフィ

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

		ん進展制御研究所 共同研究報告書
	研究課題	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
研究代表者	所属・職名・氏名	国立がん研究センター研究所・特任研究員・山野荘太郎
研究分担者 (適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名 所属・職名・氏名	
	職名・氏名	金沢大学がん進展制御研究所・教授・高橋智聡
【研究目的】	年度からの「がん研究 10 かん 進しているが、新規対策課題 病気の発生率が人口 10 万人を 実用化研究を含む、民間主導 ためのモデル動物開発も 5 プ	、経済産業大臣は、「がん対策推進基本計画」に基づき、平成 26 年戦略」を定め、3 省が一体となり日本における癌研究戦略を推 見として、希少がんに関する研究戦略を重要視している。毎年の めたり6人未満と規定される希少がんは、適応外薬や未承認薬の 算の研究開発が進みにくく、治療薬開発のみならず治療薬開発の 大がんと比較し、大きな遅れを取っている。本研究の目的は、現 計少がんの治療薬開発に資する新規マウスモデルの開発及びその
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	る。PHLDA3 欠損マウスでは内神経内分泌細胞の増殖性病変ける神経内分泌細胞の増殖性 究では樹立した PHLDA3/Rb 2ついて、一般状態の悪化を工肉眼的及び病理組織学的解析を行い、軽度の増殖性病変や	ヘテロ欠損マウスを交配し、PHLDA3/Rb 2 重欠損マウスを樹立す 素島及び下垂体に、Rb ヘテロ欠損マウスでは下垂体及び甲状腺に だが形成されることがすでにわかっているが、その他の臓器にお 病変に関する詳細は、明らかにされていない。そのため、本研 重欠損マウスと PHLDA3 欠損マウス及び Rb ヘテロ欠損マウスに ンドポイントとして最大 52 週で剖検を行い、検索臓器に対して 所を行う。加えて、神経内分泌マーカー各種の免疫組織学的染色
【成 果 等】	【主な論文発表】 特になし。 【学会発表】 特になし。 【その他特筆事項】	

平成 29 年度 金沢大学がん准展制御研究所 共同研究報告書

	平成 29 年度 金沢大字が	ん進展制御研究所 共同研究報告書				
	研究課題	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				
研究代表者	所属・職名・氏名	金沢大学地域医療救急 整形外科学講座・特任教授・山本憲男				
	所属・職名・氏名	金沢大学 整形外科・教授・土屋弘行				
研究分担者	所属・職名・氏名	金沢大学 整形外科・医員・阿部健作				
(適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名	金沢大学 がん研究所腫瘍制御・助教・堂本貴寛				
(/22 (8)	所属・職名・氏名					
受入担当教員	職名・氏名	金沢大学がん研究所腫瘍制御・教授・源利成				
【研究目的】	当診療科での軟部肉腫の基	本的な治療方針は、アドリアマイシンやイホスファミドなどを				
	中心とする抗がん剤治療と手	術療法である. しかし、抗がん剤に抵抗性の症例や、骨髄抑制				
	や多臓器不全など抗がん剤の	り強い副作用により投与中止を余儀なくされる症例も少なくな				
	い. そのため, これまでの抗	Iがん剤とは違うメカニズムで作用する新しい治療薬の開発が望				
	まれている.					
		、、これまで軟部肉腫では未発達である分子標的治療に着目し、				
		ている. 本研究の目的は、 $GSK3 \beta$ を標的とする軟部肉腫(滑膜				
	肉腫、線維肉腫など)の新しい治療法開発のための基礎的研究を行い,早期臨床応用					
	て研究開発を行うことである					
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入	① In vitro					
れていただいても結 構です。)	i) Western blot による各軟部肉腫細胞株と線維芽細胞株の活性型 GSK3β 発現の差を検討					
1 15 (9 ₀)	→軟部肉腫細胞株において、強く活性型 GSK3β の発現を認めた。					
	ii)特異的 siRNA を用いた RNA 干渉による GSK3β の発現抑制と抗腫瘍効果の関連性を検討					
	 →軟部肉腫細胞株において、特異的 siRNA を用いると、GSK3β の発現が抑制された。MMT					
	assay にて、抗腫瘍効果も認め	うられた。				
	iii) MMT assay による GSK3β	阻害薬の軟部肉腫細胞増殖への効果の検討				
	→時間・濃度依存性に抗腫瘍	効果が認められた。				
	iv) フローサイトメトリーお。	よび cyclin D1, CDK4/6 のタンパク発現の検討				
	→GSK3β阻害により、各種タ	ンパクの発現が抑制され、G1アレストを起こしている可能性を				
	見出した。					
	② In vivo					
	 滑膜肉腫および線維肉腫細胞	移植マウスに対する GSK3β 阻害薬投与による抗腫瘍効果の検討				
		いて有意に大きさ・質量が縮小していた。また病理像においても				
	腫瘍細胞の減少・壊死を認め					
	10里1笏邢11世♥71例グ・塚化で祕♡) 	<i>I</i> _0				
【成果等】	【主な論文発表】					
	 論文発表はまだです。					
	, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,					

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

【学会発表】

第19回 骨軟部サマーセミナー (金沢) 8月19日 (土)

第55回 日本癌治療学会学術集会(横浜) 10月19-21日

第36回 日本整形外科学会基礎学術集会(沖縄) 10月26-27日

American Academy of Orthopaedic Surgeons 2018 Annual Meeting (AAOS) (ニューオーリンズ、米

国) 3月14-18日

平成 29 年度 金沢大学がん准展制御研究所 共同研究報告書

	平成 29 年度 金沢大学が						
	研究課題	質量分析と機 築および分子			大腸がん	の判別ア	ルゴリズム構
研究代表者	所属・職名・氏名	山梨大学・助	教・吉村	健太良	3		
	所属・職名・氏名	山梨大学・教	授・竹田	扇			
研究分担者	所属・職名・氏名	金沢大学・教	授・太田	哲生			
(適宜、行を追加して ください。)	所属・職名・氏名	金沢大学・助	教・中村	- 慶史			
\/_av.,/	所属・職名・氏名	金沢大学・助	教・堂本	貴寬			
受入担当教員	職名・氏名	教授・源 利尿	Ż				
【研究目的】	本研究では簡易な前処理のみで大気圧下での使用が可能なアンビエント質量分析装置と、ヒト大腸組織のマススペクトルデータベース並びに、機械学習(AI)を用いた診断アルゴリズムを組み合わせ、大腸がんの迅速診断が可能な統合システムを研究開発することを目的とする。さらに構築されたマススペクトルデータベースを応用してメタボローム解析を行い、がん特異的に発現量が変化する生体分子を探索し、大腸がんの新規病態解明に向けた分子基盤やマーカー分子として利用することを目指す。			診断アルゴリズ ことを目的とす 解析を行い、が			
【研究内容・成果】	マススペクトルデータベース	と診断アルゴリ	リズムのオ				
(図表・説明図等を入れていただいても結	これまでに 243 切片(56 データベースを構築した。					. —	
構です。)	分化 86 切片、高分化 20 切						
	いるが、現段階では低分化 の向上と分子機序解明に向			足して	いるため	、中分化	に絞り、判別能
	MI を用いた非がん−がん判別	1775 一円が を延め) /C ₀	100			
	診断アルゴリズムでは機						98.1%
	ック回帰を用いて、マスス 非がん-がんを判別する。当			<u>ک</u> ک	Specificity		
)-]		`89.6%
	答率は94.1%であった。閾値	直に対する感度	、特異度	Ø 20)		Sensitivity
	変化を右図に示す。判別能				0 0.1 0.2	0.3 0.4 0.5 Thresh	0.6 0.7 0.8 0.9 1.0
	した 70 切片より取得したう 正答率 94.3%という同等の				は当該診		
	大腸がんの判別において、	実用レベルであ					. , , , , , ,
	大腸がん特異的な挙動を示す マススペクトルに含まれ			Normalize Non-cancerous	ed intensity Cancerous	p value (-log10)	Lipid identification
	全てが生体分子に由来する		772.6214 773.5281	5.4 3.1	9.6 4.9	11.04 9.89	PC (o-36:2) or PC (p-36:1) PG (18:0/16:0)
	そこで非がんおよびがん		744.5897 771.5123 770.5090	2.3 2.8 3.9	3.9 4.7 7.5	9.81 9.50 9.42	PC (o-34:2) or PC (p-34:1) PG (34:1) PC (32:1)
	るピークを個別に有意差検	:定し、 <i>p</i> 値が	743.4861 742.5733	2.6 3.5	3.8 5.1	7.42 7.25	PG (34:4) PC (o-34:3) or PC (p-34:2)
	高かったものについて分-		745.4968 826.5726 712.5259	1.7 5.7 1.0	2.3 9.5 1.2	6.95 6.94 6.93	PG (32:0) PC (36:1) PC (0-30:1) or PC (p-30:0)
	た(右表)。ほとんどが脂質		781.6213 741.5309	10.9 5.0	7.4 7.7	6.64 6.58	SM (d18:0/22:3) SM (d18:1/16:0)
	子であり、特にホスファラ		780.5509 798.5404 799.5437	17.5 20.9 10.3	11.6 33.4 16.1	6.19 6.00 5.94	PC (34:2) PC (34:1) PG (36:1)
	(PC)が多く認められた。現 て特定の脂肪酸を持つ PC		848.5561 824.5561	3.6	5.4 15.6	5.51 5.50	PC (38:4) PC (36:2)
	「特定の脂肪酸を持つ」PC 序について、合成や代謝に	/	561.4494 801.6843	2.1 2.8	1.4 3.6	5.30 5.26	DG (32:4) SM (d18:1/23:0)
	写因子や酵素の発現量を解		807.4553 426.1595	6.3 1.1	4.7 1.4	5.11 5.10	PG (36:5) Hyaluronic acid
	ることを試みている。						
【成 果 等】	【主な論文発表】なし						
	【学会発表】 第 123 回日本解剖学会全国学 リピドミクスを基盤とした大腸がん						
	【その他特筆事項】 なし						

平成 29 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

		「ん進展制御研究所 共同研究報告書 「
	研究課題	乳癌細胞由来の内在性 GM-CSF が癌微小環境に与える影響の 検討
研究代表者	所属・職名・氏名	岡山大学・准教授・吉村禎造
	所属・職名・氏名	岡山大学・教授・松川昭博
研究分担者	所属・職名・氏名	
(適宜、行を追加して	所属・職名・氏名	
ください。)	所属・職名・氏名	
受入担当教員	職名・氏名	教授・向田直史
【研究目的】	肺転移を促進すること、 2) 腫 ァージを強く活性化し、MCI があることをマウス 4T1 モラ 生される GM-CSF が 4T1 腫瘍	瘍細胞により産生されるケモカイン MCP-1/CCL2 が乳癌細胞の 瘍細胞により産生されるサイトカイン GM-CSF が浸潤マクロフ P-1 のみならず他のケモカインやサイトカインの産生を促す働き デルを用いて明らかにした。本研究の目的は、腫瘍細胞により産 瘍の進展にどのような働きをしているのかを遺伝子改変により作 細胞株を用いて解明することである。
【研究内容・成果】 (図表・説明図等を入 れていただいても結 構です。)	47 個のクローンを分離した。 クローンが GM-CSF を産生して (KO1-4) を選択した。同様なっ を分離し、GM-CSF を産生する 2. GM-CSF 欠損細胞の in vivo ントロール、または GM-CSF ク の増殖、移植後 4 週間での別 た細胞は GM-CSF 産生の有無い の数も減少していた。 また、細胞移植後 2 週間で	CRISPR-Cas9 法を用いて 4T1 細胞に遺伝子編集を行なった結果、その後、GM-CSF の産生を ELISA を用いて検討した結果、21 個のていない事がわかった。その中から形態の異なる4つのクローン方法でコントロールヴェクターを用いて、コントロールクローン52つのクローン(C1, C2)を選択した。での増殖あるいは肺転移:遺伝子編集前の 4T1 細胞、上記のコス損細胞を各々Balb/c マウスの乳腺脂肪組織内に移植し、局所で市転移巣の数を調べた。下記の図に示すように、クローン化されて関わらず、局所での増殖が 4T1 細胞に比較して遅く、肺転移巣腫瘍を切除し、CCL2、CCL17 の発現を qRT—PCR で検討した。CCL2は無関係であった。CCL17 に関しては、コントロールに比較して傾向が見られた。
	腫瘍を切除し CCL2 と CCL17 の響はなかった。 4. 結論:以上の結果より、4 産生の有無に関係なく移植局 の炎症性のサイトカイン・ケ	Lung mets
【成 果 等】		umor cell-derived granulocyte-macrophage colony-stimulating gression of 4T1 murine breast cancer.