



2020年 金沢大学がん進展制御研究所 年報

Annual Report Cancer Research Institute
Kanazawa University

巻頭言

2020 年は新型コロナウイルスに世界中がかき乱されました。金沢大学がん進展制御研究所では、2020 年 2 月末に予定されていた共同利用・共同研究拠点の成果報告会が急きょ中止になったことが最初の影響でした。その後、シンポジウム、招待講演、セミナーなどが次々にオンライン開催となりました。研究所のスタッフや学生の皆さん、研究所を支える活動をされている事務の皆さん、私自身も含め、予期せぬ小さな失敗を経験しながらも、それらの失敗を次に活かすことで、新しいことに対応できるように変化していました。

本研究所は、1967 年に「がんに関する学理およびその応用の研究」を理念に設置されました。国立大学附置研の中で唯一、がんの研究に特化した研究所として、「がんの悪性化進展機構」に焦点をあてた基礎研究、基礎研究から見出される分子・モデル・技術シーズを活用した革新的な診断・治療法の研究、将来のがん研究や医療を担う人材育成を使命として活動しています。2010 年に文部科学省から「がんの転移と薬剤耐性に関する先導的共同研究拠点」として認定されて以降は、共同利用・共同研究拠点としての活動も担っています。令和 2 年度、66 件の共同研究課題を採択し、その内 28 件を若手研究者枠として支援しました。また、国際共同研究に加えナノ生命科学研究所と共同で異分野融合研究枠を新設し、若手人材育成や分野融合の研究を推進することに努めました。令和 2 年度の共同利用・共同研究拠点成果報告会を 2021 年 2 月にオンライン形式で開催しました。

このほか、本研究所では若手研究者等の研究の活性化を図る取り組みとして、「オンコロジーセミナー」を開催し、准教授、助教、若手 PI が年に 1 回、自身の研究について発表する機会を設けています。どんな新たな展開があるか、どんな新しいテクノロジーが使われるか、どんな難しさがあるか、これらが共有される切磋琢磨の時間です。また、2020 年 9 月に、大学院生による発表・討論を主体にする「がん研コロキウム」を開催しました。研究に対する大学院生の活発な姿勢が感じられる機会でした。2020 年 11 月には、金沢国際がん生物学シンポジウムをナノ生命科学研究所と合同で開催しました。欧州・北米・アジア、そして国内から著名な研究者を招き、オンライン形式による開催でした。欧州や米国の研究者による講演が含まれるセッションは、日本時間の夕方あるいは朝早めの時間に設定されました。国内外から 200 名近い参加者があり、活発な研究交流の機会となりました。これらの活動は、私たちの研究所の研究力強化、人材育成、国際ネットワーク形成につながっています。

2020 年の各研究分野の活動状況をがん研年報としてここに報告いたします。本研究所では着実に研究が進展していると思います。本研究所の活動や取り組み、研究の進展について皆さまにご理解いただく機会となれば幸いです。

金沢大学がん進展制御研究所長 松本邦夫

金沢大学がん進展制御研究所年報2020年

目次

巻頭言

研究概要と研究業績

先進がんモデル共同研究センター

腫瘍遺伝学研究分野	2
分子病態研究分野	7
上皮幹細胞研究分野	12

がん幹細胞研究プログラム

遺伝子・染色体構築研究分野	16
腫瘍分子生物学研究分野	20
分子生体応答研究分野	26

がん微小環境研究プログラム

免疫炎症制御研究分野	32
腫瘍動態制御研究分野	36
腫瘍細胞生物学研究分野	40

がん分子標的探索プログラム

シグナル伝達研究分野	46
腫瘍制御研究分野	50
機能ゲノミクス研究分野	57

がん分子標的医療開発プログラム

腫瘍内科研究分野	62
----------	----

中央実験施設

新学術創成研究機構PI・若手PI

上皮可塑性・炎症ユニット	80
がん-免疫系相互作用ユニット	82
がん幹細胞環境制御ユニット	84
ミトコンドリア動態ユニット	86

基礎統計・教育活動

各種シンポジウム開催状況

先進がんモデル共同研究センター

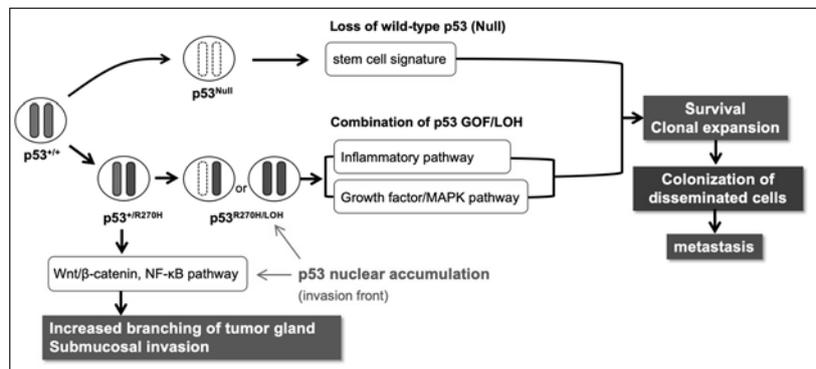
Division of Genetics

腫瘍遺伝学研究分野

Professor	Masanobu Oshima 大島 正伸
Associate Professor	Hiroko Oshima 大島浩子, Mizuho Nakayama 中山瑞穂
Assistant Professor	Dong Wang (WPI-Nano LSI)
Graduate Student	Sau Yee Kok (D4) , Zachary Wei Ern Young (D4) Daisuke Yamamoto 山本 大輔, Toshikatu Tsuji 辻 敏克 (D4) Atsuya Morita 森田 敦也 (D2)
Technical Assistant	Manami Watanabe 渡辺真奈美, Ayako Tsuda 津田理子

【 Abstract 】

Majority of p53 mutations in cancer cells are missense-type, suggesting a gain-of-function (GOF) mechanism of mutant p53 in tumorigenesis. We previously showed that expression of GOF mutant p53 (p53 R270H) induces submucosal invasion of intestinal tumors in *Apc*⁴⁷¹⁶ mice through activation of Wnt/NF- κ B pathways (Nakayama et al, **Oncogene**, 2017). Here, we examined the role of mutant p53 in metastasis process of intestinal tumors using malignant tumor cells (AKTP cells) that carried heterozygous p53 GOF/+ mutation. Notably, AKTP cells that lost wild-type p53 by loss of heterozygosity (p53 GOF/LOH) were enriched in metastasis tumors. These results indicate a role of p53 GOF mutations in combination with LOH for promotion of metastasis. RNAseq analysis indicated that growth factor/MAPK and inflammatory pathways are significantly activated in p53 GOF/LOH cells, suggesting a possible mechanism of p53 GOF/LOH mutations in tumor metastasis (Nakayama et al, **Nat Commun**, 2020). These results provide a novel therapeutic strategy against metastasis by targeting GOF mutant p53.

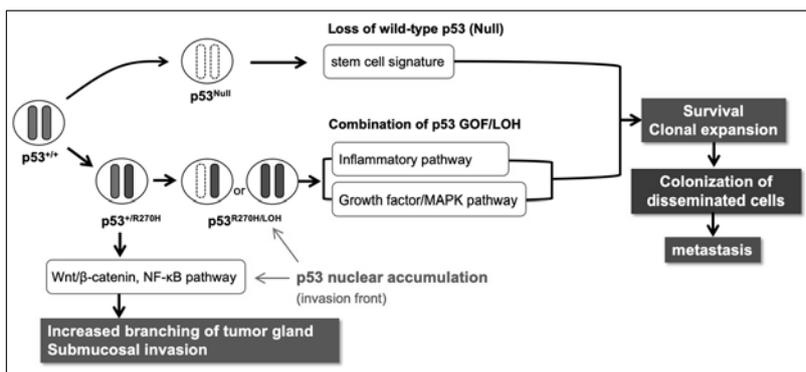


We have also examined a novel concept of polyclonal metastasis mechanism of intestinal tumors. In this model, cancer cell clusters break off from the primary site, disseminated to distant organs, and developed polyclonal metastasis lesion with keeping genetic heterogeneity. AKTP and AP intestinal tumor-derived organoid cells are metastatic and non-metastatic to the liver, respectively, when they are transplanted to the spleen. Importantly, we found that non-metastatic AP cells can metastasize with AKTP cells when they are co-existed in cell clusters and transplanted together. Mechanistically, AKTP cells induce generation of fibrotic metastatic niche through activation of hepatic stellate cells, which support survival and proliferation of non-metastatic AP cells (Kok et al, **Nat Commun**, accepted). These results expand our knowledge about the biological mechanism of metastasis. As a next step, we will evaluate these results by generation of human colon cancer-derived organoids.

<2020年の研究成果, 進捗状況及び今後の計画>

1. 大腸がん転移における機能獲得型 p53 遺伝子変異の役割

ヒトがん組織で認められる p53 変異の多くはミスセンス型であり、変異型 p53 が新たに機能を獲得 (gain-of-function, GOF) して悪性化誘導する。これまでに、腸管腫瘍発生モデルの *Apc*^{Δ716} マウスに p53 R270H 変異を導入し、GOF 変異 p53 が粘膜下浸潤を誘導することを明らかにした (Nakayama et al, **Oncogene**, 2017)。さらに、高転移性オルガノイド AKTP 細胞を使って、転移実験を実施した結果、GOF 変異に加えて野生型 p53 を LOH により欠損したがん細胞が、転移巣に濃縮することを明らかにした。さらに、GOF/LOH 細胞は、シングルセルにした時の生存や、増殖性が顕著に高くなっており、それが転移性獲得に関与すると考えられた (Nakayama et al, **Nat Commun**, 2020)。今後、GOF/LOH による悪性化誘導機構の解明を目指して研究を推進する。



2. 大腸がんポリクローナル転移機構の研究

ポリクローナル転移機構モデルでは、異なる遺伝子変異を持つ細胞集団からなる細胞塊が、原発巣から離脱して遠隔臓器に転移巣を形成する。我々は、腸腫瘍オルガノイドを用いて、ポリクローナル転移機構についての検証実験を行った。その結果、非転移性腫瘍細胞を高転移性がん細胞と共培養して脾臓移植すると、高転移性細胞に混在した転移巣を肝臓に形成することを示した。メカニズムとして、転移性がん細胞が肝星細胞を活性化して形成される線維性微小環境により、非転移性腫瘍細胞の生存と増殖が促進することを明らかにした (Kok et al, **Nat Commun**, accepted)。今後、ヒト大腸がん由来オルガノイドを作製して検証実験を推進する。

3. 悪性度の異なる腸管腫瘍細胞表面の物性マッピング解析

Scanning Ion Conductance Microscope (SICM) は、マイクロピペット内外のイオン電流の変化から、細胞表面のトポグラフィ、弾性等の物性変化をナノレベルで計測することが可能である。ナノ生命科学研究所渡辺准教授との共同研究により、腫瘍オルガノイド細胞表面を高速 SICM を用いて計測した結果、転移性腫瘍細胞に特徴的な変化が確認され、新規診断法開発につながる事が期待された (投稿準備中)。今後、ヒトがん細胞を含めた標本数を増やして、検証実験を推進する。

4. 胃がん細胞の FOXO3 発現型による分類とがん抑制機構の研究

FOXO3 を発現するヒト胃がん細胞は、FOXO3 を核に蓄積する型と細胞質に分布する型に分けられる。ヒトおよびマウス由来胃がんオルガノイドを用いた解析、および FOXO3 コンディショナル活性化モデルを作製し、FOXO3 細胞質型がん細胞では、FOXO3 が腫瘍抑制因子として作用することを明らかにした (revision 中)。今後、FOXO3 を治療標的としての可能性について検証を進める。

【研究業績】

< 発表論文 >

発表著論文

(腫瘍遺伝学分野主体)

1. Nakayama M, Hong CP, Oshima H, Sakai E, Kim SJ, Oshima M. Loss of wild-type p53 promotes mutant p53-driven metastasis through acquisition of survival and tumor-initiating properties. **Nat Commun**, 11: 2333. 2020.
2. Kok SY, Oshima H, Takahashi K, Nakayama M, Murakami K, Ueda HR, Miyazono K, Oshima M. Malignant subclone drives metastasis of genetically and phenotypically heterogeneous cell clusters through fibrotic niche generation. **Nat Commun**, 12: 863, 2021.

(共同研究)

1. Murakami K, Terakado Y, Saito K, Jomen Y, Takeda H, Oshima M, Barker N. A genome-scale CRISPR screen reveals novel factors regulating Wnt-dependent renewal of mouse gastric epithelial cells. **Proc Natl Acad Sci USA**, in press.
2. Tan SH, Swathi Y, Tan S, Goh J, Seishima R, Murakami K, Oshima M, Tsuji T, Phuah P, Tan LT, Wong E, Fatehullah A, Sheng T, Ho SWT, Grabsch HI, Srivastava S, Teh M, Denil SLIJ, Mustafah S, Tan P, Shabbir A, So J, Yeoh KG, Barker N. AQP5 enriches for stem cells and cancer origins in the distal stomach. **Nature** 578: 437-443, 2020.
3. Lim KS, Yong ZWE, Wang H, Tan TZ, Huang RY, Yamamoto D, Inaki N, Hazawa M, Wong RW, Oshima H, Oshima M, Ito Y, Voon DC. Inflammatory and mitogenic signals drive interleukin 23 subunit alpha (IL23A) secretion independent of IL12B in intestinal epithelial cells. **J Biol Chem** 295: 6387-6400, 2020.
4. Mohamed MS, Hazawa M, Kobayashi A, Guillaud L, Watanabe-Nakayama T, Nakayama M, Wang H, Kodera N, Oshima M, Ando T, Wong RW. Spatiotemporally tracking of nano-biofilaments inside the nuclear pore complex core. **Biomaterials** 256: 120198, 2020.
5. Fujiwara N, Shibutani S, Sakai Y, Watanabe T, Kitabayashi I, Oshima H, Oshima M, Hoshida H, Akada R, Usui T, Ohama T, Sato K. Autophagy regulates levels of tumor suppressor enzyme protein phosphatase 6. **Cancer Sci** 111: 4371-4380, 2020.
6. Cao D, Jia Z, Wu Y, Su T, Zhao D, Wu M, Tsukamoto T, Oshima M, Jiang J, Cao X. Demethylation of the RB1 promoter concomitant with reactivation of TET2 and TET3 impairs gastric carcinogenesis in K19-Wnt1/C2mE transgenic mice. **Life Sci** 263: 118580, 2020.
7. Cao D, Zhao D, Jia Z, Su T, Zhang Y, Wu Y, Wu M, Tsukamoto T, Oshima M, Jiang J, Cao X. Reactivation of Atp4a concomitant with intragenic DNA demethylation for cancer inhibition in a gastric cancer model. **Life Sci** 242: 117214, 2020.

<学会等発表>

(国際学会・シンポジウム)

1. Oshima M. Polyclonal metastasis of intestinal cancer. The 4th NanoLSI Symposium / International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa 2020, (金沢) 2020年11月27日.

(国内学会・セミナー)

1. 大島正伸. 「炎症とがん転移」第41回日本炎症・再生医学会, (東京) 2020年7月8日.
2. 大島正伸, 中山瑞穂, Dong Wang, 大島浩子, 渡辺信嗣. 「大腸がんの悪性化進展における炎症性バイオマーカー」第40回日本分子腫瘍マーカー研究会, (広島) 2020年9月30日.
3. Oshima M. How genetic alterations promote malignant progression of colon cancer. 第79回日本癌学会学術総会, 広島, 2020年10月3日.
4. Oshima M. Inflammation and cancer development (Morning Lecture). 第79回日本癌学会学術総会, 広島 (online), 2020年10月1-3日.
5. Nakayama M, Hong CP, Oshima H, Sakai E, Kim SJ, Oshima M. Loss of wild-type p53 promotes colon cancer metastasis that express gain-of-function mutant p53. 第79回日本癌学会学術総会, 広島 (online), 2020年10月1-3日.
6. Oshima H, Kok SY, Takahashi K, Nakayama M, Miyazono K, Oshima M. Polyclonal metastasis of colon cancer subclones through fibrotic niche generation. 第79回日本癌学会学術総会, 広島 (online), 2020年10月1-3日.
7. Yong ZWE, Lim KS, Yamamoto D, Inaki N, Oshima H, Oshima M, Ito Y, Voon DC. Inflammatory and mitogenic cues drive IL23A secretion in intestine epithelial cells via a transcription enhancer complex. 第79回日本癌学会学術総会, 広島 (online), 2020年10月1-3日.
8. Oshima M. Gain-of-function mutation of p53 for malignant progression of cancer. 第43回日本分子生物学会年会, online, 2020年12月3日.

<外部資金>

1. 革新的がん医療実用化研究事業 (AMED) [研究代表者: 大島 正伸]
「大腸がん微小転移巣形成機構の理解による新規予防治療戦略の確立」 15,000千円
2. 科研費 基盤研究 (A) [研究代表者: 大島 正伸]
「大腸がん自然転移・再発モデルの開発による悪性化進展機構の研究」 8,600千円
3. 科研費 挑戦的研究 (萌芽) [研究代表者: 大島 正伸]
「TGF-beta による大腸がん抑制作用から悪性化誘導へのスイッチ制御機構の解明」 2,500千円

4. 科研費 基盤研究 (B) [研究代表者: 大島 浩子]
「炎症性・線維性微小環境による大腸がん転移促進機構の解明」 4,500 千円
5. 科研費 基盤研究 (C) [研究代表者: 中山 瑞穂]
「p53 変異/欠損による大腸がん微小環境ネットワーク形成に関する個体モデル解析」 1,100 千円
6. 科研費 研究活動スタート支援 [研究代表者: Dong Wang]
「The role of activin signaling in colorectal cancer EMT induction」 1,100 千円

<その他>

文部科学省新学術領域研究 学術研究支援基盤形成「先端モデル動物支援プラットフォーム」若手支援技術講習会開催(実行委員長:大島正伸):2020年9月11日, online 開催(全国から大学院生(修士・博士課程)、および若手研究者約80名参加)

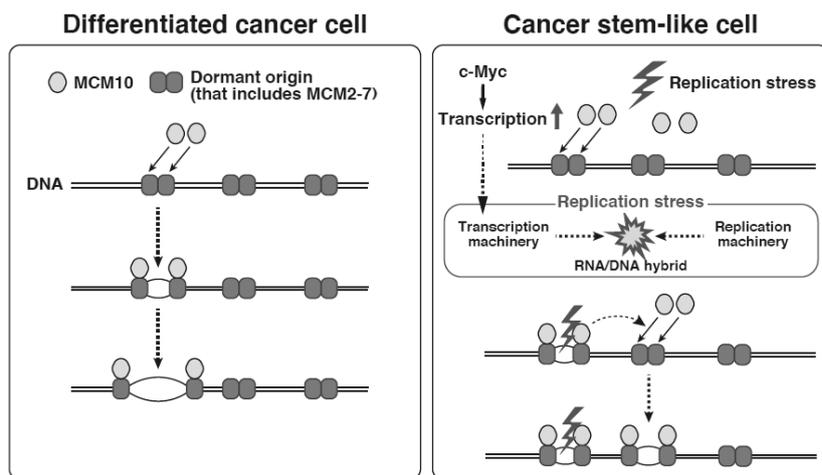
Division of Cancer Cell Biology

分子病態研究分野

Professor	Noriko Gotoh 後藤 典子
Assistant Professor	Tatsunori Nishimura 西村 建徳 Yasuto Takeuchi 竹内 康人 Takahiko Murayama 村山 貴彦 (~2020.3)
Graduate Student	Reheman Yiming (D4), Xiaoxi Chen (D4), Li Mengjiao (D3), SARENQIQIGE (D2), Wang Yuming (D2) Rojas Nichole (M2) (~2020.3) Jin Lee (M2)
Assistant Staff	Kiyoko Take 武 紀代子

【 Abstract 】

Cancer stem-like cells (CSCs) induce drug resistance and recurrence of tumors when they experience DNA replication stress. However, the mechanisms underlying DNA replication stress in CSCs and its compensation remain unclear. Here, we demonstrate that upregulated c-Myc expression induces stronger DNA replication stress in patient-derived breast CSCs than in differentiated cancer cells. Our results suggest critical roles for mini-chromosome maintenance protein 10 (MCM10), a firing (activating) factor of DNA replication origins, to compensate for DNA replication stress in CSCs. MCM10 expression is upregulated in CSCs and is maintained by c-Myc. c-Myc-dependent collisions between RNA transcription and DNA replication machinery may occur in nuclei, thereby causing DNA replication stress. MCM10 may activate dormant replication origins close to these collisions to ensure the progression of replication. Moreover, patient-derived breast CSCs were found to be dependent on MCM10 for their maintenance, even after enrichment for CSCs that were resistant to paclitaxel, the standard chemotherapeutic agent. Further, MCM10 depletion decreased the growth of cancer cells, but not of normal cells. Thus, MCM10 may robustly compensate for DNA replication stress and facilitate genome duplication in cancer cells in the S-phase, which is more pronounced in CSCs. Overall, we provide a preclinical rationale to target the c-Myc-MCM10 axis for preventing drug resistance and recurrence of tumors.



ヒト乳がん由来細胞のスフェロイド培養(がん幹細胞が濃縮される)と接着培養(多くが分化したがん細胞)の条件で RNA を取り出して RNA シークエンスを行った結果、がん幹細胞により強く DNA 複製ストレスが生じていることがわかった。同時に、転写因子 Myc と DNA 複製開始因子 MCM10 の発現がスフェロイドで強いことも見出した。詳細な解析から、がん幹細胞では Myc の発現が上昇して転写活性が上昇した結果、転写を行う RNA ポリメラーゼと複製を行う DNA ポリメラーゼが衝突してしまい、DNA 複製がうまく行われなくなっていることがわかった。この DNA 複製ストレスを回避するため、MCM10 の発現が上昇して、本来複製を開始しない dormant origin からも複製を開始させて S 期を回していることがわかった

<2020 年の研究成果、進捗状況及び今後の計画>

乳がん注目して新たなマウスがんモデルの作出と、患者乳がん組織由来細胞 (Patient-derived cancer cells, PDC)のスフェロイド及びオルガノイド培養技術を工夫し、Patient-derived xenograft (PDX)モデルの構築とそのカタログ化を行っている。これまでに 250 検体以上の乳がん検体の供与を受け、PDC の培養及び PDX モデルを構築してきた。現在では、PDC の培養はほぼ半数の症例において成功し、PDX モデルは約 1/3 の症例において成功するまでに技術力を高めている。

乳がんは、病理学的には乳腺細胞の過剰増殖から始まり、人では約 30 年の長い月日を経て腫瘍を形成し、発症する。最も初期の異常がどのように腫瘍形成にまで至るのか、そのメカニズムは長い間不明であった。我々は乳腺特異的に ErbB2 を過剰発現するマウスの乳がん自然発症モデルを用いて、これまでに膜結合型アダプター分子 FRS2beta が、慢性炎症性の微小環境の構築に関わることを見出してきた。一方その分子メカニズムは不明であった。今回 FRS2beta が、NFκB を直接活性化する IKK 複合体の構成因子 NEMO と、early endosome 上で多分子複合体を形成することを見出した。この複合体形成により FRS2beta は、ErbB2 依存的に IKK 複合体を活性化し、炎症を惹起するマスター転写因子 NFκB を活性化することがわかった。FRS2beta-NEMO 軸を標的とすれば乳がん発症を超早期に予防できる可能性がある。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原 著

(研究室主体)

1. Murayama T, Takeuchi Y, Yamawaki K, Natsume T, Mengjiao L, Marcela N R-C, Nishimura T, Kogure Y, Nakata A, Tominaga K, Sasahara A, Yano M, Ishikawa S, Ohta T, Ikeda K, Horie-Inoue K, Inoue S, Seki M, Suzuki Y, Sugano S, Enomoto T, Tanabe M, Tada K, Kanemaki T M, Okamoto K, Tojo A, Gotoh N.: MCM10 compensates for Myc-induced DNA replication stress in breast cancer stem-like cells. *Cancer Sci*, accepted.

(共同研究)

2. Yanagi H, Watanabe T, Nishimura T, Hayashi T, Kono S, Tsuchida H, Hirata M, Kijima Y, Takao Y, Okada S, Suzuki M, Imaizumi K, Kawada K, Minami H, Gotoh N, Shimono Y.: Upregulation of S100A10 in metastasized breast cancer stem cells. *Cancer Sci*, on line publication 25, September: 111, p4359, 2020. DOI: 10.1111/cas.14659.
3. Kanamori, A, Saitoh, Y, Fukui, Y, Inoue J-I, Matsubara D, Seiki M, Gotoh N, Murakami Y, Kaneko S, Sakamoto T.: Mint3 depletion restricts tumor malignancy of pancreatic cancer cells by decreasing SKP2 expression via HIF-1. *Oncogene*, on line publication 21, August: 39(39), 6218-6230, 2020. DOI: 10.1038/s41388-020-01423-8.
4. Mitobe Y, Ikeda K, Sato W, Kodama Y, Naito M, Gotoh N, Miyata K, Kataoka K, Sasaki H, Horie-Inoue K, Inoue S.: Proliferation-associated long noncoding RNA, *TMPO-AS1*, is a potential therapeutic target for triple-negative breast cancer. *Cancer Sci*, on line publication 21, March. 2020; 111(7), 2440-2450, 2020. DOI: 10.1111/cas.14498.
5. Andrade F, Nakata A, Gotoh N, Fujita A.: Large miRNA survival analysis reveals a prognostic four-biomarker signature for triple negative breast cancer. *Genet Mol Biol*, 43(1), e20180269, 2020. DOI: 10.1590/1678-4685-GMB-2018-0269.

総 説

1. Nishimura T, Gotoh N.: Cancer treatments targeting mitochondrial enzymes involved in one-carbon metabolism. *Cytometry Research*, 30(2), in press.
2. 後藤典子. 「乳腺のオルガノイドによるマイ・メディシンーがん幹細胞研究の立場から」 *医学のあゆみ* (医歯薬出版株式会社)、vol. 276(6), 21810-21816, 2020.

3. 村山貴彦、後藤典子. 「微小環境と治療抵抗性メカニズム」 **CANCER BOARD of the BREAST** (メジカルビュー社), vol. 6(2), 102-104, 2020.
4. 後藤典子. 「がん幹細胞とそのニッチ」 **医学のあゆみ** (医歯薬出版株式会社), vol. 273(5): p362-367, 2020.
5. 後藤典子. 「がん幹細胞とその微小環境および治療への展望」 **Life Science Connect** (羊土社、第一三共株式会社), vol. 1, p2-7, 2020.
6. 西村建徳、東條有伸、後藤典子. 「MTHFD2 の酵素活性阻害によるがん治療」 **BIO Clinica** (北隆館), vol. 35(1), 88-91.2020.

<学会発表>

<国際学会>

1. Noriko Gotoh: “The replication factor MCM10 maintains breast cancer stem-like cells that constitutively experience c-Myc-driven replication stress” **AACR Annual Meeting 2020**
2020年6月22-24日、米国、オンライン

<全国学会>

1. 後藤典子：“乳がん患者由来がん三次元培養からがん幹細胞の不均一性に迫る” **患者由来がんモデル講演会** 2020年10月29-30日、東京、オンライン（招待講演）
2. 後藤典子：“がん幹細胞を標的とした治療戦略” **第24回日本がん分子標的治療学会学術集会 「Year in Review」** 2020年10月7日、徳島（招待講演）
3. 後藤典子：“がん幹細胞標的治療の実現へ具体的な道筋” **第79回日本癌学会学術総会 「International session」** 2020年10月2日、広島（オーガナイザー）
4. 後藤典子：“固形がんの Patient-derived xenograft (PDX)” **第79回日本癌学会学術総会 教育講演** 2020年10月3日、広島（招待講演）
5. 西村建徳、Mengjiao Li、後藤典子：“Identification of subpopulations in patients-derived breast cancer stem-like cells by using RNA sequencing” **第79回日本癌学会学術総会** 2020年10月1-3日、広島（招待講演）
6. 竹内康人、後藤典子：“細胞質アダプタータンパク FRS2beta は乳がん形成を促進する炎症性サイトカインリッチ環境を形成する” **2020 若手支援技術講習会** 2020年9月11日、石川、オンライン
7. 竹内康人、村山貴彦、西村建徳、後藤典子：“がん関連線維芽細胞由来の液性因子は乳がん幹細胞様細胞の維持に寄与する” **第79回日本癌学会学術総会** 2020年10

月 1-3 日、広島、オンライン

8. 竹内康人、村山貴彦、西村建徳、後藤典子：“がん関連線維芽細胞由来の液性因子は乳がん幹細胞様細胞の維持に寄与する” 第 24 回日本がん分子標的治療学会 2020 年 10 月 6-8 日、オンライン
9. 竹内康人、村山貴彦、西村建徳、後藤典子：“がん関連線維芽細胞由来の液性因子は乳がん幹細胞様細胞の維持に寄与する” 2020 患者由来がんモデル講演 2020 年 10 月 29-30 日、東京、オンライン
10. Mengjiao Li、西村建徳、後藤典子：“Single cell analysis revealed heterogeneity among patient-derived breast cancer stem-like cells” 第 79 回日本癌学会学術総会 2020 年 10 月 2 日、広島、オンライン
11. Jin Lee、西村建徳、後藤典子：“Inhibition of mitochondrial enzyme MTHFD1L in one carbon metabolism down regulates cancer stem-like cells in breast cancer” 第 24 回日本がん分子標的治療学会学術集会 2020 年 10 月 6-8 日、徳島、オンライン（ワークショップ）
12. Jin Lee、西村建徳、後藤典子：“One carbon metabolic enzyme MTHFD1L could be a novel molecular target for breast cancer” 第 79 回日本癌学会学術総会 2020 年 10 月 1-3 日、広島、オンライン
13. Yiming Rehemian、竹内康人、西村建徳、中田飛鳥、後藤典子：“Cancer stem-like traits are up-regulated in gefitinib-resistant lung cancer cells” 第 79 回日本癌学会学術総会 2020 年 10 月 1-3 日、広島、オンライン

<外部資金>

1. 後藤典子，基盤研究 B（一般），2018.4.1-2021.3.31，代表，13,500 千円
2. 後藤典子，AMED 次世代がん医療創生研究事業，2020.4.1-2021.3.21，分担，4,680 千円
3. 後藤典子，新学術領域研究（公募研究），2020.4.1-2022.3.31，代表，5,520 千円
4. 後藤典子，挑戦的萌芽研究，2019.4.1-2021.3.31，代表，6,500 千円
5. 後藤典子，高松宮妃癌研究助成金，2019.4.1-2021.3.31，代表，206,993 円
6. 西村建徳，若手研究，2019.4.1-2021.3.31，代表，4,290 千円
7. 竹内康人，基盤研究 B，2020.4.1-2021.3.31，分担，130 千円

Division of Epithelial Stem Cell Biology 上皮幹細胞研究分野

Research Professor Nicholas Barker (シンガポール A-STAR 研究所・主任研究員)
Assistant Professor Kazuhiro Murakami 村上 和弘
Assistant Kenji Kita 北 賢二 (共同研究拠点)
Postdoctoral Researcher Yumi Terakado 寺門 侑美
Collaborative Researcher Masaki Yamazaki 山崎 雅輝 (中外製薬)
Assistant Staff Yoshie Jomen 定免 良枝, Kikue Saitou 齋藤 喜久江

【 Abstract 】

Gastric cancer is a complex disease that often arises in a setting of chronic inflammation. For gastric tumorigenesis, *Helicobacter pylori* infection is an important risk factor, and COX-2/PGE2 pathway is induced in the infection-associated chronic gastritis tissues. Despite recent extensive efforts to molecularly classify gastric cancers to try and stratify treatment regimens according to underlying mutational spectra, gastric cancer remains a relatively poorly understood disease with a poor prognosis for most patients.

Cancer stem cells are defined as the unique subpopulation in the tumors that possess the ability to initiate tumor growth and sustain self-renewal as well as metastatic potential. Those tumor-resident cells with stem cell characteristics are thought to be resistant to conventional anti-cancer therapies, allowing them to survive and drive tumor recurrence in many patients.

Recently, we have identified *Lgr5*⁺ chief cells in the corpus stomach, which serve as reserve stem cells to effect epithelial renewal following oxyntic atrophy. These reserve stem cells drive spasmodic polypeptide-expressing metaplasia in the stomach following conditional KRasG12D driver mutation, highlighting their likely contribution to gastric cancer initiation *in vivo* (Leushacke, M. *et al.*, *Nature Cell Biology*, 2017).

But still it is not clear whether the *Lgr5*⁺ chief cell serves as an origin of gastric cancer cell under the chronic inflammation and how cancer stem cell is induced from *Lgr5*⁺ reserve stem cells. To study the effects of chronic inflammation on stem cell-driven cancer formation and progression in the corpus stomach, we are focusing on evaluating a potential cancer stem cell function of *Lgr5*⁺ cells present within Wnt-driven inflammation-dependent gastric tumors. We would like to leverage on the extensive knowledge and mouse models available through my collaborator, Professor Masanobu Oshima to study the effects of chronic inflammation on stem cell driven cancer formation and progression in the corpus stomach. This is physiologically relevant because the majority of human gastric cancer is considered to arise in a setting of chronic inflammation caused by infection with *Helicobacter Pylori*.

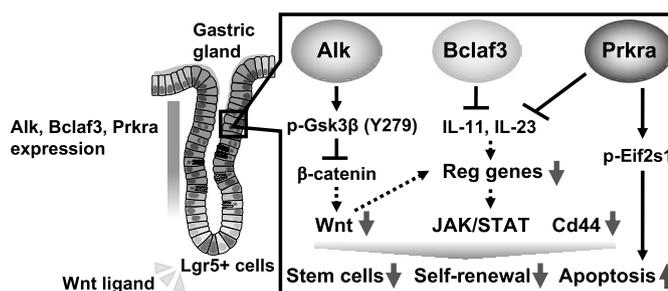
<2020年の研究成果、進捗状況及び今後の計画>

1. 新規胃癌マウスモデルの解析

APC, *KRas*, *p53* 遺伝子変異を組み合わせることで、悪性度の高い新たな胃癌マウスモデルを得た。これらのマウスよりオルガノイドを樹立し、免疫不全マウスの胃に同所移植を行うことで、生体内の胃癌の浸潤・転移を模倣できる新たな移植モデルを確立した。これらのマウスで薬剤処理を行い *Lgr5* 陽性の胃癌細胞を選択的に除去することで、転移が抑制されることが明らかとなった。このことは、悪性度の高い胃癌の浸潤・転移には *Lgr5* 陽性細胞が必須である事を示唆している。これらの結果は、先端モデル動物支援プラットフォーム 若手支援技術講習会にて発表され、現在、論文として投稿中である。

2. 幹細胞制御因子の同定と解析

マウス正常胃オルガノイドと CRISPR/Cas9 遺伝子ノックアウト技術を組み合わせたゲノムワイドスクリーニングを行なった結果、*Alk*, *Bclaf3*, *Prkra* 遺伝子が胃組織幹細胞の分化を制御していることが明らかとなった。さらなる解析により、*Alk* は *Gsk3β* の279番目のチロシンをリン酸化することで *Wnt* シグナルを抑制し、*Bclaf3* と *Prkra* は上皮性のインターロイキンの発現を抑制することで細胞の分化を制御していることが明らかとなった (図)。



この成果は、国際誌である *PNAS* に受理された。

3. 胃幹細胞を維持する分子機構の解明

ヒト胃正常および胃癌組織の *Lgr5* 陽性細胞で高発現する遺伝子群を、マウス胃正常オルガノイドを用いて解析を行った結果、いくつかの転写因子を発現させることで、幹細胞の増殖に必須な *Wnt* シグナルの非存在下でも細胞の増殖性が維持されるという結果を得ている。同時にそれらの転写因子は、*Lgr5* 陽性細胞の幹細胞性を亢進させることで、胃癌の悪性化に寄与していることも明らかとなった。特に *Wnt* シグナルの下流因子である転写因子 *Sox9* は胃正常幹細胞の維持に必須であった。加えて胃癌オルガノイドで *Sox9* を発現させると、*Lgr5* 陽性の胃癌幹細胞様細胞の増殖性は低下する一方で、マウス生体内での転移能が亢進するという非常に興味深い結果を得ている。これらの結果は、一群の転写因子が正常組織幹細胞とがん幹細胞様細胞で真逆の使われ方をしていることを強く示唆している。これらの結果は、先端モデル動物支援プラットフォーム 若手支援技術講習会にて発表された。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著

1) Murakami K, Terakado Y, Saito K, Jomen Y, Takeda H, Oshima M and Barker N. A Genome-Scale CRISPR screen reveals novel factors regulating Wnt-dependent renewal of mouse gastric epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci*, 118: e2016806118, 2021.

(共同研究)

2. Kok SY, Oshima H, Takahashi K, Nakayama M, Murakami K, Ueda H, Miyazono K, Oshima M. Malignant subclone drives metastasis of genetically and phenotypically heterogenous cell clusters through fibrotic niche generation, *Nature Commun*, 12: 863, 2021.

< 学会発表 >

Nick Barker;

1. ISSCR Virtual 2020 年 23-27 日 (招待講演)

村上和弘;

2. 先端モデル動物支援プラットフォーム 若手支援技術講習会「転写因子 Sox9 は正常胃組織幹細胞および胃がん幹細胞において幹細胞性を制御する」2020 年 9 月 11 日 Web 開催

寺門侑美;

3. 先端モデル動物支援プラットフォーム 若手支援技術講習会「Lgr5 陽性細胞の胃がん幹細胞としての役割の同定」2020 年 9 月 11 日 Web 開催

< 外部資金 >

1. 基盤研究(C)[研究代表者：村上 和弘]

「オルガノイドを用いた胃がん幹細胞の可視化と効果的な治療法の探索」 130 万円

2. 公益財団法人 武田科学振興財団 2020 年度 医学系研究助成

「胃がん幹細胞に特異的な分子機構の解明と効果的な治療法の探索」 200 万円

3. 若手研究 [研究代表者：寺門 侑美]

「胃がん幹細胞の同定および制御機構の解明」 100 万円

がん幹細胞研究プログラム

Division of Molecular Genetics

遺伝子・染色体構築研究分野

Professor	Atsushi Hirao 平尾 敦
Assistant Professor	Yuko Tadokoro 田所優子, Masahiko Kobayashi 小林昌彦, Masaya Ueno 上野将也, Si Sha 司沙 (Nano-LSI)
Postdoctoral Researcher	Chiaki Ito 伊藤千秋 (学振 PD), Kenta Kurayoshi 倉吉健太
Graduate Student	Jing Young Wei, Pharm Thi Loc, Chen Xi
Assistant Staff	Kazue Sawa 澤和恵, Yukiko Takai 高井由紀子

【 Abstract 】

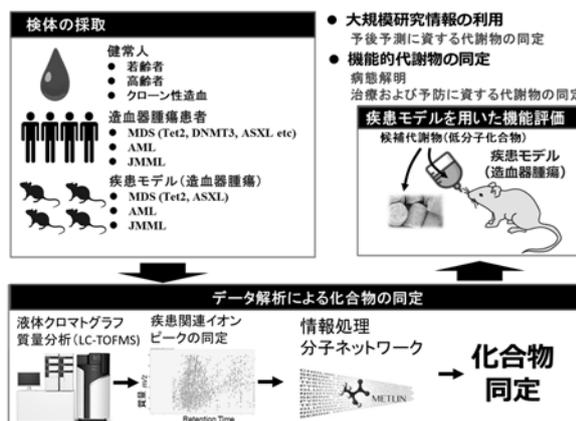
Diet is the most common, physiological and long-term stimulus influencing tissue homeostasis. Recent studies have revealed that obesity induced by consumption of a fat-rich diet triggers abnormal hematopoiesis that can compromise immune system function. We previously discovered an important mechanism by which hematopoietic stem cells (HSCs) are protected against the ill effects caused by the dysbiosis (microbial imbalance) of gut microbiota induced by a high fat diet (HFD) (Tadokoro et al., Cell Stem Cell 2018). We have investigated the nature of the "pathological" microenvironments regulating HSCs (HSC niche) created by diet-related metabolites to understand how diet affects hematopoiesis. To see roles of HFD in leukemogenesis, we established several leukemia models driven by mutant genes, including NF1, Cbl, BCR-ABL, NPM1, and DNMT3a, and found importance of RAS-MAPK-ERK pathways in response to HFD for abnormal behavior of HSC and progenitor cells. By multiple metabolomics analyses, we found that several microbiota derived metabolites which are remarkably down- or up-regulated by HFD, followed by further investigation of functions of the candidate metabolites. Interestingly, we found that a microbiota derived metabolite suppressed abnormality of HSC/Progenitor cells in vivo and in vitro. We are currently investigating mechanisms of the functional metabolite and if the compound contributes to prevention or treatment of diet-induced hematopoietic diseases.

We also aim to identify critical metabolic pathways controlling malignant properties. By functional screening based on CRISPR/Cas9 library, we found importance of nicotinamide metabolism and its metabolite, 1-methylnicotinamide (1-MNA), as a unique pathway for therapy resistance. Collaborative research with chemists of NanoLSI, we successfully generated a sensor molecule that specifically recognizes 1-MNA in biological samples (Ueno et al., *Commun. Chem* 2020). Since this metabolite is up-regulated in cancer tissues from patients, the sensing method may be useful as a diagnostic tool. We have started further collaboration with SPM imaging group. This interdisciplinary collaboration will lead to the development of a unique metabolite imaging system at the single cell level, contributing to a deep understanding of cancer malignancy and establishment of novel methods for clinical cancer diagnosis.

<2020年の研究成果、進捗状況及び今後の計画>

1. 高脂肪食摂取による造血幹細胞の異常と白血病発症機構の解明

近年、高脂肪食など異常な全身的栄養環境の変化は、がんの発生・悪性化に深く関与していることが知られるようになってきた。我々は、高脂肪食の長期摂取が原因となる造血幹細胞や多能性前駆細胞の異常な自己複製と発がんのメカニズムの解明を進めている。まず、遺伝子異常を造血幹細胞に導入することで、様々な白血病モデルを作製し、その後、高脂肪食負荷による影響を解析した結果、RAS-MAP-ERK 経路と高脂肪食の特異的な関係が存在することが判明した。そのメカニズムの理解を目的のため、約 200 種の代謝物を対象としたメタボローム、さらに未解析代謝物解析のためのアンターゲットメタボロームを実施し、食餌によって優位に変動する代謝物を同定、その代謝物を白血病モデルに投与することで、機能を有する化合物の同定を試みた。その結果、腸内細菌由来代謝物の中に、高脂肪食によって惹起される造血幹細胞や前駆細胞の異常を抑制する化合物が存在することが判明した。現在、更なる候補代謝物の特定や幹細胞制御メカニズムの解析を進めている。さらに、本研究を発展させ、分析化学を専門とする共同研究者と共に、ヒト検体とマウスモデルを用いた網羅的代謝解析系の構築を進めている(図)。本研究の成果が、幹細胞制御や発がん機構の解明、また疾病の予防や治療に寄与できることが期待される。



2. がん特異的代謝制御分子の特定と悪性化制御メカニズム

栄養状態は、体内のアミノ酸、糖、脂質など、様々な栄養素の量や質に影響し、がん細胞の動態に影響を与える。我々は、がんの悪性化制御に関与する代謝調節制御機構解明のため、①白血病幹細胞の分化制御分子の特定、②脳腫瘍細胞系譜転換現象(Proneural/Mesenchymal Transition)の解明、③分子標的治療抵抗性分子の特定と治療薬開発を中心に研究を進めている。本年は、がんの進展や悪性化に関与していることが明らかになっているニコチンアミド N-メチル基転移酵素(nicotinamide N-methyltransferase: NNMT)の機能解析、阻害剤探索とともに、ナノ生命科学研究所との共同研究にてバイオセンサーの開発を進めた。その結果、超分子化合物である水溶性ピラー[6]アレーン(P6A)は1-MNAと特異的に結合することを見いだした(Ueno et al., *Commun. Chem* 2020)。今後、様々ながん患者診断や治療を目指した研究開発を進める予定である。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著

(分野主体)

1. Ueno M, Tomita T, Arakawa H, Kakuta T, Yamagishi T, Terakawa J, Daikoku T, Horike S, Si S, Kurayoshi K, Ito C, Kasahara A, Tadokoro Y, Kobayashi M, Fukuwatari T, Tamai I, Hirao A*, Ogoshi T*. Pillar[6]arene acts as a biosensor for quantitative detection of a vitamin metabolite in crude biological samples. *Commun. Chem.* 3:183, 2020 (*co-correspondence)
2. Nomura N, Ito C, Ooshio T, Tadokoro Y, Kohno S, Ueno M, Kobayashi M, Kasahara A, Takase Y, Kurayoshi K, Si S, Takahashi C, Komatsu M, Yanagawa T, Hirao A. Essential role of autophagy in protecting neonatal haematopoietic stem cells from oxidative stress in a p62-independent manner. *Sci. Rep.* 2021, in press

(共同研究)

3. Jiapaer S, Furuta T, Dong Y, Kitabayashi T, Sabit H, Zhang J, Zhang G, Tanaka S, Kobayashi M, Hirao A, Nakada M. Identification of 2-Fluoropalmitic Acid as a Potential Therapeutic Agent Against Glioblastoma. *Curr Pharm Des* 26(36):4675-4684, 2020.
4. Tanabe Y, Kawamoto S, Takaku T, Morishita S, Hirao A, Komatsu N, Hara E, Mukaida N, Baba T. Expanding senescent megakaryocyte-lineage cells maintain stemness in CML: The role of BCR-ABL-induced senescence in CML. *Blood Adv*, 4 (24): 6175–6188, 2020

著書・総説

田所優子, 平尾敦: Spred1 による造血幹細胞制御と白血病化 医学の歩み 382-388, Vol.273, No.5, 2020

田所優子: Spred1 は造血幹細胞の自己複製能を制御する 動画企画 Focus on young investigator (Janssen Pro), 2020

< 学会発表 >

1. Hirao A: Critical role of metabolic regulation in self-renewal of hematopoietic stem cells and leukemogenesis 第 82 回日本血液学会学術集会 2020 年 10 月 10-11 月 8 日 Web 開催
2. Kobayashi M, Hirao A: Investigation of the roles of OLIG2 in stemness property of glioblastoma 第 79 回日本癌学会学術総会 2020 年 10 月 1 日, 広島
3. Kurayoshi K, Ueno M, Hirao A : Development of a novel approach inducing differentiation in leukemic stem cells by targeting FOXOs-downstream genes 第 79 回日本癌学会学術

総会, 2020年10月1-3日, 広島

4. Kurayoshi K, Ueno M, Takase Y, Huse K, Ohta K, Tadokoro Y, Hirao A : Development of a novel approach inducing differentiation in LSCs by targeting FOXOs-downstream genes, 第82回日本血液学会学術集会, 2020年10月10-11月8日, Web開催

<外部資金>

1. 平尾敦 : 基盤研究 (A) R1~R4年度「代謝調節によるがんステムネス制御の分子基盤」8,500千円
2. 平尾敦 : 次世代がん医療創生研究事業 R1~R3年度「代謝シグナルによる未分化性制御機構を標的とした新規がん治療法の開発」16,509千円
3. 田所優子 : 基盤研究 (C) R1~R3年度「栄養環境変化による造血幹細胞恒常性維持機構の解明」1,100千円
4. 田所優子 : 令和2年度 日本血液学会 研究助成「食餌性ストレスによる FLT3-ITD 変異陽性白血病の悪性進展機構の解析」300千円
5. 上野将也 : 基盤研究 (C) R2~R4年度「がん特異的な栄養代謝経路におけるニコチンアミド代謝の機能解析」1,100千円
6. 小林昌彦 : 基盤研究 (C) R2~R4年度「悪性脳腫瘍の不均一性と治療抵抗性に働く細胞系譜転換の分子基盤」1,500千円
7. 司沙 : 若手研究 (B) R1~R2年度「アクチン動態制御による造血幹細胞の自己複製調節機構の解明」1,600千円
8. 倉吉健太 : 若手研究 R1~2年度「ゲノム編集技術を用いた白血病幹細胞の分化制御に関わる因子の同定と機能解析」1,600千円

Division of Oncology and Molecular Biology

腫瘍分子生物学研究分野

Professor	Chiaki Takahashi 高橋 智聡
Assistant Professors	Susumu Kohno 河野 晋, Mitsuhiro Tomosugi 友杉 充宏 (~2020.12.31)
Graduate Students	Li Fengkai 李 鳳凱(~2020.5.12), Paing Linn (~2020.10.7), Kulathnga Liyana Arachchillage Nilakshi, Sheng Jindan 盛 金 丹, Zhang Zhiheng 張 智恒, Yu Hai 余 海, Gong Linxiang 龔 麟祥, Kana Teranishi 寺西 夏菜 (2020.4.1~) Zhang Yuanyuan 張 園園 (2020.10.1~) , Zhang Zixue 張 子雪 (2020.10.1~)
Technical Assistant	Naoko Nagatani 永谷 直子

【 Abstract 】

All cancers maintain or lost RB1 function. Synthetic CDK4/6 inhibitors are applicable to RB1-intact cancers. In HR⁺;HER2⁻ breast cancers, the combination of CDK4/6 inhibitors together with endocrine therapy actually doubled DFS. These reagents keep RB1 in unphosphorylated form for extended time, causing cellular senescence, apoptosis and enhanced immunogenicity, and are in clinical trials for many types of solid tumor. We invented CDK4/6 inhibitor combination therapies to treat RB1-intact HCC and K-Ras mutated lung and colon cancers. We are investigating if we can apply our strategy to other RB1-intact cancers especially K-Ras mutated ones. On the other hand, we have been long time investigating therapeutic targets in RB1-intact cancers. We so far proposed Ras, LOX, IL6, CCL2, CCL5, SCD1 and ELOVL6 as possible ones. We recently invented drugs that target *RB1-SUCLA2* genomic deletion frequently occurring in advanced prostate cancers (Figure). One of these, thymoquinone, has no known molecular target. We are trying

molecular expansion and converting it to probe forms in an aim to identify

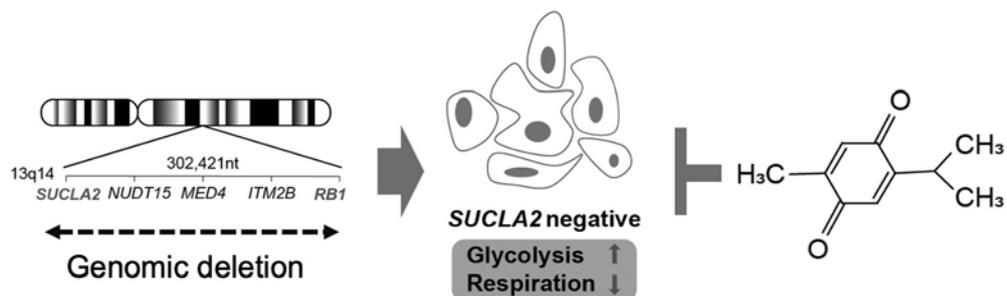


Figure: Thymoquinone targets *SUCLA2*-deficiency in advanced prostate cancer.

binding molecules. We are also running a large-scale re-screening on P1 facility base to find better effective compounds. We are still investigating the role of RB1-PGAMs axis in differentiation control in cancers. We identified anti-tumor effect of ELOVL6 inhibition, thus are trying to obtain its POC. We found ceramides and PI3K/AKT/mTOR signals are mechanistically involved in the tumor suppression. To contribute to preventive medicine, we clarified the role of fatty acid signaling in mammary carcinogenesis.

<2020年の成果、進行状況と今後の計画・展望>

すべてのがんは RB1 機能を保持しているか喪失しているかに分類できる。RB1 を保持するがんの治療法のひとつに合成 CDK4/6 阻害剤がある。本邦では、ホルモン受容体陽性 HER2 受容体陰性進行乳がんに対し保険適用があり、著しい治療効果を示している。合成 CDK4/6 阻害剤は RB1 を長期に亘って無リン酸化状態に置くため、細胞老化、細胞死、免疫原性亢進等を誘導する。今後様々ながん種に適応拡大が予想され、耐性出現を睨んだ併用療法のラショナルレを探索している（リバイス中）。肝細胞がんや K-Ras 変異肺がん、大腸がんに対する併用療法を提案した（特願 2020-180429）。現在、さらに K-Ras 変異胆管がん、膵がんへの適応拡大も目指しており、代謝研究者、前臨床モデル、人体病理、臨床科を含む研究チームの編成を行っている。一方で、我々は、長く、RB1 機能を喪失ないし遺伝子を欠失したがんの克服に取り組んできた。近年、CHK1, PLK, Aurora-A, B 等の阻害の合成致死性が報告されている。我々は、Ras, LOX, IL6, CCL2, CCL5, SCD1, ELOVL6 等を、RB1 機能を喪失したがんの新規治療標的として報告してきた。進行前立腺がんにおいて頻繁にホモ欠失する RB1 の近傍に位置し、RB1 欠失に伴って欠失する SUCLA2 にも注目した。この異常は進行前立腺がん症例の 10 から 30%に存在すると予測、慈恵会医大泌尿器科が日本人症例においてその検証を行っている。SUCLA2 欠失細胞には一定の代謝脆弱性が認められた。これは進行前立腺がんのアキレス腱かもしれない。SUCLA2 欠失細胞を選択的に傷害する薬剤をスクリーニングし、二つのヒット化合物を得ている(*Oncogene* 2020) (図)。うち 2-isopropyl-5-methylbenzo-1,4-quinone (特願 2019-228526)の構造展開を試み、金沢大薬学系においてプローブ化し、釣り竿法による分子標的の同定を試みている。有明がん研 JFCR39 や理研における酵母を用いた化学遺伝学的アプローチによる標的推定、あるいは、P1 レベルの大規模再スクリーニングを実施している。RB1 と ELOVL6 の関係を解明し、がん化シグナルによる脂質代謝制御機構解明の端緒を開いた。ELOVL6 阻害が強いがん抑制効果を示すこと、その機構にセラミドが関与する事、ELOVL6 阻害への AKT シグナルを介する内在的耐性機構も判明し、ELOVL6 阻害剤開発のための POC 取得を急いでいる。RB1 の代謝機能の探索にも長く取り組んできた。RB1 の正の標的として見いだした PGAM1,2 を介する解糖系の制御は未発表であるが当研究分野の重要課題の一つである。大阪大学との共同研究により、代謝シミュレーションを用い、Warburg 効果の真の意味の理解にも挑戦している。予防医学的な取り組みとして、脂肪酸シグナルを介した乳がんの発がん・進展機構の解明も行った (*Cancer Sci.* 2020)。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著論文

(研究室主体)

1. Kulathunga N, Kohno S, Linn P, Nishimoto Y, Horike S, Zaraiskii M, Kumar S, Muranaka H and Takahashi C. Peripubertal High Fat Diet Promotes c-Myc Stabilization in Mammary Gland Epithelium. *Cancer Sci.*, 111(7): 2336-2348, 2020.
2. Kohno S*, Linn P*, Nagatani N, Watanabe Y, Kumar S, Soga T and Takahashi C. Pharmacologically targetable vulnerability in prostate cancer carrying *RBI-SUCLA2* deletion. *Oncogene*, 39: 5690-5707, 2020.

* equal contribution

(共同研究)

1. Thumkeo D, Katsura Y, Nishimura Y, Kanchanawong P, Tohyama K, Ishizaki T, Kitajima S, Takahashi C, Hirata T, Watanabe N, Krummel MF and Narumiya S. mDia1/3-dependent actin polymerization spatiotemporally controls LAT phosphorylation by Zap70 at the immune synapse. *Science Advances*, 6:1: eaay2432, 2020.
2. Seliverstov RY, Zaraiskiy MI, Tyurin RV, Naryshkin AG, Valerko VG, Semiglazov VV and Takahashi C. MicroRNA in monitoring of the evolution of glial cerebral tumors. *Siberian Journal of Oncology*, 19:47-53, 2020.
3. Murata T, Kohno S, Ogawa K, Ito C, Itoigawa M, Ito M, Hikita K and Kaneda N. Cytotoxic activity of dimeric acridone alkaloids derived from citrus plants toward human leukemia HL-60 cells. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2020. (in press)
4. Murata T, Yamaguchi M, Kohno S, Takahashi C, Watanabe R, Hatori K, Hikita K and Kaneda N. Regucalcin enhances adipocyte differentiation and attenuates inflammation in 3T3-L1 cells. *FEBS Open Bio.*, July 21 2020. (online)
5. Nomura N, Ito C, Ooshio T, Tadokoro Y, Kohno S, Ueno M, Kobayashi M, Kasahara A, Takase Y, Kurayoshi K, Si S, Takahashi C, Komatsu M, Yanagawa T, Hirao A. Essential role of autophagy in protecting neonatal haematopoietic stem cells from oxidative stress in a p62-independent manner. *Sci. Rep.*, 2020. (in press)

(著書・総説)

1. 河野晋. 実験医学 News and Hot Paper Digest 「グルタミントランスポーターの謎」 Vol.38 No.6 p966, 2020 小川佳宏, 伊東宏晃 編, 羊土社刊
2. 高橋智聡, 河野晋. 『RB1 によるがん幹細胞の制御 Control of undifferentiated behavior of cancer cells by RB1』医学のあゆみ Vol.273 No.5 p410-414, 2020 「治療標的としてのがん幹細胞」伊藤貴浩編

3. 高橋智聡, 河野晋. 『がん細胞社会における細胞間相互作用 Which intercellular interaction should be targeted in cancer therapy?』医学のあゆみ Vol.274 No.5 p469-473, 2020 「細胞競合による生体制御とがん」井垣達吏編
4. Kitajima S, Li F, Takahashi C. Tumor Milieu Controlled by RB Tumor Suppressor. *Int J Mol Sci.*, 2020 Apr1;21(7). doi: 10.3390/ijms21072450
5. 李鳳凱. がん抑制遺伝子 RB1 の不活性化は CCL2 を介してがんを促進する微小環境を構築する. 金沢大学十全医学会雑誌, 129: 2, 37- 39, 2020.
6. Takahashi C and Kato J. Synthetic inhibitors of CDK4/6 activities and tumor suppression: a preface to the special issue. *Oncology*, 2020. (in press)

<学会発表>

1. 張智恒, 村中勇人, 友杉充宏, 河野晋, 高橋智聡. 脂肪酸伸長酵素 ELOVL6 の阻害によるがん制御. 第 14 回スフィンゴセラピィ研究会 2020 年 1 月 25 日 (加賀市/ホテルアローレ 1/23-25)
2. 河野晋. RB 欠損に付随する代謝遺伝子欠損を標的とした治療法の探索. 第 2 回金沢大学がん進展制御研究所・国立がん研究センター研究所若手研究発表会 2020 年 1 月 12 日 (和倉町/ホテル海望 1/28-29)
3. 河野晋. RB 欠損に付随する代謝遺伝子欠損を標的とした治療法の探索. 第 1 回日本癌学会若手の会 2020 年 2 月 12 日 (熱海市/大月ホテル和風館 2/11-13)
4. Susumu Kohno, Paing Linn, Tomotoshi Soga, Chiaki Takahashi. Pharmacologically targetable metabolic vulnerability in prostate cancer carrying RB1-SUCLA2 deletion. Keystone symposia tumor metabolism 2020 年 3 月 10 日 (Banff, AB, Canada / Fairmont Banff Springs 3/8-12 ; CANCELED)
5. Susumu Kohno, Pain Linn, Tomoyoshi Soga, Chiaki Takahashi. Pharmacologically targetable vulnerability in prostate cancer carrying RB1-SUCLA2 deletion. 2020 年 3 月 25 日 (Melbourne, VIC, Australia / Manta Bell City 3/23-25; POSTPONED)
6. 河野晋, Paing Linn, 曾我朋義, 高橋智聡. RB1-SUCLA2 欠損による代謝脆弱性を標的とした前立腺がん治療法の探索. 第 79 回日本癌学会学術総会 2020 年 10 月 3 日 (広島市/リーガロイヤルホテル広島 10/1-3 口頭)
7. 岡田宣宏, 辻本剛己, 吉川清次, 高橋智聡. 乳がん悪性化機構における NFYA スプライシングバリエーションの機能解析. 第 79 回日本癌学会学術総会 2020 年 10 月 3 日 (広島市/リーガロイヤルホテル広島 10/1-3 ポスター)
8. 辻本剛己, 高橋智聡, 岡田宣宏. NFYA による糖新生促進が引き起こす腫瘍抑制効果の検討. 第 79 回日本癌学会学術総会 2020 年 10 月 3 日 (広島市/リーガロイヤルホテル広島 10/1-3 ポスター)

9. 高橋智聡, Paing Linn, 曾我朋義, 河野晋. 進行前立腺がんにおける RB1-SUCLA2 遺伝子欠失を標的とする新規治療. 第 58 回日本癌治療学会学術総会 2020 年 10 月 23 日 (京都市/国立京都国際会館 10/22-24 口頭)
10. 盛金丹, 高橋智聡, 河野晋, 岡田宣宏. キナーゼ阻害剤と組み合わせた CDK4/6 阻害剤による HCC の新しい併用療法. 第 43 回日本分子生物学会年会 2020 年 12 月 4 日 (オンライン開催 12/2-4 ポスター)
11. 植木ちひろ, 辻本剛己, 河野晋, 高橋智聡, 岡田宣宏. 脂肪酸合成制御を介した NFYA による乳がん悪性化機構への影響. 第 43 回日本分子生物学会年会 2020 年 12 月 4 日 (オンライン開催 12/2-4 ポスター)

<知的財産>

特願 2020-180429 : R B 1 陽性癌の治療用医薬組成物及びキット

発明者 : 高橋智聡、河野晋、盛金丹

出願日 : 2020 年 10 月 28 日

<外部資金> (2020 年度/ R2 年度が含まれる課題)

高橋智聡

1. 次世代がん医療創生研究事業 (AMED) R1~R2 年度「SUCLA2 遺伝子欠失によって生じる代謝脆弱性を標的とする新規がん治療法探索」(代表) 8,000 千円
2. 革新的先端研究開発支援事業 (AMED-CREST) H27~R2 年度「脂肪酸の鎖長を基軸とした疾患の制御機構と医療展開に向けた基盤構築」(分担) 8,000 千円
3. 科学研究費補助金 基盤研究 (B) R2~R5 年度「RB がん抑制遺伝子の代謝制御機能」(代表) 3,600 千円
4. 科学研究費補助金 基盤研究 (C) R1~R3 年度「関接リウマチ滑膜の上皮間葉移行の新規制御分子 DIP2C の解析と治療作用点の検討」(分担) 200 千円
5. 学術研究助成基金助成金 挑戦的研究 (萌芽) R1~R2 年度「SUCLA2 欠失によって生ずる代謝脆弱性を標的とする新規創薬研究」(代表) 2,500 千円
6. 革新的がん医療実用化研究事業 (AMED) R2~R4 年度「閉経後ホルモン依存性子宮体癌の発症・進展の新たな分子機構-男性ホルモン作用の解析と臨床応用-」(分担) 500 千円

河野晋

1. 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C) R2~R4 年度「晩期再発乳がんにおける休眠トリガーと分子機構の解明」(代表) 1,700 千円
2. 革新的がん医療実用化研究事業 (AMED) R2~R4 年度「閉経後ホルモン依存性子宮体癌の発症・進展の新たな分子機構-男性ホルモン作用の解析と臨床応用-」

(分担) 500 千円

友杉充宏

1. 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C) R2~R4 年度「RB によるコレステロール代謝制御と前立腺がんの去勢抵抗性」(代表) 1,300 千円

Division of Molecular Bioregulation

分子生体応答研究分野

Professor	Naofumi Mukaida 向田直史
Associate Professor	Tomohisa Baba 馬場智久
Assistant Professor	Soichiro Sasaki 佐々木宗一郎
Graduate Students	Yamato Tanabe 田辺和 (D4) 、 Di Zhang 張迪 (D4)
Technical Assistance	Kuniko Minami 南邦子

【 Abstract 】

1. Megakaryocytosis in chronic myeloid leukemia (CML) pathogenesis

Transplantation of BCR-ABL-expressing hematopoietic stem/progenitor cells caused CML in mice with an increase in bone marrow BCR-ABL⁺ leukemic megakaryocyte-lineage (MgkL) cells, which exhibited enhanced senescence markers with increased expression of TGF- β 1, and p16 and p21, key molecules that are crucially involved in senescence. Moreover, knockout of p16 and p21 genes reduced both BCR-ABL-induced abnormal megakaryopoiesis and the maintenance of CML cell leukemogenic capacity. TGF- β 1 inhibition attenuated CML cell leukemogenic capacity both *in vitro* and *in vivo*. Thus, BCR-ABL induced the expansion of senescent leukemic MgkL cells, which supported CML leukemogenesis by providing TGF- β 1.

2. Cytoplasmic DNA accumulation-induced cell death of myeloid leukemia cells

At hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) to mouse myeloid leukemia models, double-stranded (ds)DNAs were constitutively secreted in the form of extracellular vesicles (EVs) from myeloid leukemia cells, and were transferred to the donor cells to dampen their hematopoietic capabilities. Autophagy regulated cytoplasmic dsDNA accumulation and subsequent redistribution into EVs, and accumulated cytoplasmic dsDNAs activated STING pathway, thereby reducing leukemia cell viability through reactive oxygen species (ROS) generation. Autophagosome formation inhibition induced cytoplasmic DNA accumulation to trigger cytoplasmic DNA sensing pathways to exert cytotoxicity preferentially in leukemia cells.

3. A transcription factor, Nfe2, in murine breast cancer metastasis to bone

We previously established 4T1.3 clone with a high capacity to metastasize to bone, from a murine triple-negative breast cancer (TNBC) cell line, 4T1.0. Comprehensive gene expression analysis detected enhanced *Nfe2* mRNA expression in 4T1.3 grown in a bone cavity. *Nfe2* gene transduction into 4T1.0 cells enhanced their capability to form intraosseous tumors. Moreover, *Nfe2* shRNA treatment reduced tumor formation arising from intraosseous injection of 4T1.3 clone as well as another mouse TNBC-derived TS/A.3 clone with an augmented intraosseous tumor formation ability. Furthermore, NFE2 expression was associated with *in vitro* growth advantages of these TNBC cell lines under hypoxic condition as well as Wnt pathway activation.

4. GPR56/ADGRG1 in breast cancer metastasis to bone

An adhesion G-protein coupled receptor, GPR56/ADGRG1, was expressed selectively in 4T1.3 grown in bone cavity while fibroblasts present in bone metastasis sites expressed its ligand, type III collagen. Consistently, GPR56/ADGRG1 proteins were detected in tumor cells in bone metastasis foci of human breast cancer. Intraosseous injection of GPR56/ADGRG1-deficient 4T1.3 cells reduced markedly intraosseous tumor formation, whereas that of GPR56/ADGRG1-transduced mouse and human breast cancer cell lines exhibited enhanced tumor formation. Moreover, the cleavage at the extracellular region was indispensable for GPR56/ADGRG1-induced increase in breast cancer cell growth upon its intraosseous injection.

<2020年の研究成果、進捗状況及び今後の計画>

1. 慢性骨髄性白血病 (CML)における巨核球増多の役割

BCR-ABL遺伝子導入骨髄幹/前駆細胞により起こるCMLでは、細胞老化形質を示し、TGF- β 1発現と細胞老化に必須の役割を果たしているp16・p21の発現亢進を示すBCR-ABL発現巨核球が骨髄内で増加していた。P16・p21重複欠損により、巨核球増加が消失するとともに、CML細胞の白血病発症能も低下した。さらに、TGF- β 1抑制によって、CML細胞の白血病発症能が低下することから、CMLにおいて増加している巨核球が供給するTGF- β 1によってCML細胞の白血病発症能が維持されていると考えられた。

2. 細胞室内DNA蓄積に伴う骨髄性白血病細胞の細胞死

マウス骨髄性白血病への骨髄幹細胞移植時に、レシピエントの白血病細胞が細胞外小胞 (EV) として恒常的に分泌する二重鎖(ds)DNA が、ドナー細胞に取り込まれ、ドナー細胞の増殖能を抑制した。オートファジーにより制御されている、細胞質内 dsDNA の蓄積と EV への移行によって起きる、STING 経路の活性とそれに伴う ROS 産生が白血病細胞の細胞死を誘導した。オートファゴソーム形成阻害によって、細胞質内 DNA の蓄積を介して、白血病細胞選択的な細胞死が生じた

3. 骨転移巣乳がん細胞に選択的に発現亢進している転写因子の役割

マウス乳がん細胞株 4T1.0 株から樹立した、同所接種後に高率に骨へ転移する亜株 4T1.3 株の包括的遺伝子発現解析の結果、骨内の 4T1.3 株では Nfe2 の発現が亢進していた。Nfe2 遺伝子導入した 4T1.0 株では骨内投与による腫瘍形成が増強したが、Nfe2 発現を抑制した 4T1.3 株と TS/A.3 株 (高骨転移能を示す別のマウス乳がん細胞株) の骨内投与では腫瘍形成が減弱した。Nfe2 発現は、Wnt 経路の活性化を通して、骨内微小環境で認められる低酸素状態での増殖能の亢進に関与していることも示唆された。

4. 接着依存性 G タンパク会合型レセプター、GPR56/ADGRG1 と乳がん骨転移

GPR56/ADGRG1 が骨内で増殖している 4T1.3 株に選択的に発現していて、リガンドである III 型コラーゲンは骨転移巣の線維芽細胞に発現していた。GPR56/ADGRG1 はヒト乳がんの骨転移巣のがん細胞でも発現していた。GPR56/ADGRG1 遺伝子を欠損させた 4T1.3 株の骨内投与時の腫瘍形成は減弱したが、GPR56/ADGRG1 遺伝子導入した乳癌細胞株の骨内投与時の腫瘍形成能は亢進していた。さらに、細胞外領域での切断が GPR56/ADGRG1 による骨転移能亢進に関与していた。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著論文

(研究室主体)

1. Zhang D, Iwabuchi S, Baba T, Hashimoto S, Mukaida N and Sasaki S. Involvement of a transcription factor, Nfe2, in breast cancer metastasis to bone. *Cancers* 2020, 12 (10): 3003. doi:10.3390/cancers12103003
2. Tanabe Y, Kawamoto S, Takaku T, Morishita S, Hirao A, Komatsu N, Hara E, Mukaida N, and Baba T. Expansion of senescent megakaryocyte-lineage cells maintains CML cell leukemogenesis. *Blood Adv* 2020, 4 (24): 6175–6188. doi: 10.1182/bloodadvances.2020003117.

(共同研究)

1. Thiel G, Mukaida N, and Rössler O. Regulation of stimulus-induced interleukin-8 gene transcription in human adrenocortical carcinoma cells – role of AP-1 and NF-κB. *Cytokine* 2020, 126: 154862. doi: 10.1016/j.cyto.2019.154862 .
2. Nosaka M, Ishida Y, Kimura A, Kuninaka Y, Taruya A, Ozaki M, Tanaka A, Mukaida N, and Kondo T. Crucial involvement of IL-6 in thrombus resolution in mice via macrophage recruitment and the induction of proteolytic enzymes. *Front Immunol* 2020, 10: 3150. doi: 10.3389/fimmu.2019.03150.
3. Ishida Y, Kuninaka Y, Yamamoto Y, Nosaka M, Kimura A, Furukawa F, Mukaida N, and Kondo T. Pivotal involvement of the CX3CL1-CX3CR1 axis for the recruitment of M2 tumor-associated macrophages in skin carcinogenesis. *J Invest Dermatol* 2020, 140 (10): 1951-961.e6. doi: 10.1016/j.jid.2020.02.023.
4. Ishida Y, Kuninaka Y, Nosaka M, Kimura A, Taruya A, Furuta M, Mukaida N, and Kondo T. Prevention of CaCl₂-induced aortic inflammation and subsequent aneurysm formation by the CCL3-CCR5 axis. *Nature Commun* 2020, 11: 5954. doi: 10.1038/s41467-070-19763-0.

総説論文・著書

1. Mukaida N, Sasaki S, and Baba T. Two-faced roles of tumor-associated neutrophils in cancer development and progression. *Int J Mol Sci* 2020; 21 (10): 3457. doi: 10.3390/ijms21103457.
2. Mukaida N, Zhang D, and Sasaki S. Emergence of cancer-associated fibroblasts as an indispensable cellular player in bone metastasis process. *Cancers* 2020; 12 (10): 2896. doi:10.3390/cancers12102896.
3. Mukaida N, Sasaki S, and Baba T. CCL4 signaling in the tumor microenvironment. In *Tumor microenvironment : The Role of Chemokines — Part A*. (Birbrair A eds.) *Adv Exp Med Biol* 2020, 1231, 23-32. doi: 10.1007/978-3-030-36667-4_3.

<学会発表> (筆頭発表者が分野所属の者に限る)

1. Zhang D, Sasaki S, Baba T, and Mukaida N. The crucial roles of transcription factor Nfe2 in murine triple negative breast cancer metastasis to bone. 第78回日本癌学会学術総会。2020年10月1日～3日。広島。
2. Sasaki S, Zhang D, Baba T, and Mukaida N. Crucial contribution of the Gpr45/Adgrg1 in the regulation of bone metastasis in murine breast cancer model. 78回日本癌学会学術総会。2020年10月1日～3日。広島。
3. Tanabe Y, Baba T, and Mukaida N. BCR-ABL-induced senescence-associated autophagy bring about maintenance of CML stemness. 78回日本癌学会学術総会。2020年10月1日～3日。広島。
4. 馬場智久, 向田直史. 慢性骨髄性白血病のTKI治療に対するオートファジー阻害剤の併用効果。第24回日本がん分子標的治療学会学術集会。2020年10月6日～8日。徳島。

<学術雑誌の編集>

向田直史

1. Associate Editor, Cytokine, An official Journal of International Cytokine and Interferon Society.
2. Guest Editor, Int J Mol Sci, Special issue on “Tumor Microenvironment”.

<外部資金>

向田直史

1. AMED 肝炎等克服実用化研究事業(分担) 「ウイルス・発がんを統合的に制御する新規B型肝炎分子免疫治療の開発」 (直接経費 2,600千円, 間接経費 780千円)

馬場智久

1. 科学研究費・基盤研究(C) (代表) 「ドナー細胞由来白血病の発症にかかわる細胞外小胞の病態生理学的役割の解明」 (直接経費 1,100千円, 間接経費 330千円)

佐々木宗一郎

1. 科学研究費・基盤研究(C) (代表) 「新規乳がん骨転移モデルの解析を通じた, 新規標的分子の探索」 (直接経費 1,000千円, 間接経費 300千円)

がん微小環境研究プログラム

Division of Immunology and Molecular Biology

免疫炎症制御研究分野

Professor	Takashi Suda 須田 貴司
Associate Professor	Kohsuke Tsuchiya 土屋 晃介
Assistant Professor	Takeshi Kinoshita 木下 健
Graduate Student	Mahib, Muhammad Mamunur Rashid (D4)
Assistant Staff	Shoko Hosojima 細島 祥子
Research Cooperator	Hiroko Kushiyama 串山 裕子

【 Abstract 】

Various molecules derived from pathogens and damaged cells collectively called pathogen associated-molecular patterns (PAMPs) and damage-associated molecular patterns (DAMPs), respectively, are sensed by intracellular pattern recognition receptors (PRRs) including NLR family proteins (such as NLRP3 and NLRC4) and AIM2. These PRRs together with the adaptor protein ASC then recruit caspase-1 to form a caspase-1-activating signalosome called “inflammasome”. Activated caspase-1 then catalyzes proteolytic maturation of inflammatory cytokines including IL-1 β and IL-18. Caspase-1 also cleaves gasdermin D (GSDMD), whose N-terminal fragment forms pores in the plasma membrane that cause necrotic cell death called “pyroptosis” and release of mature IL-1 β and IL-18. On the other hand, we previously reported that activation of caspase-1 induces apoptosis in GSDMD \square null/low cells, and that Bid plays a critical role in the caspase-1-dependent apoptosis (Nat Commun, 2019). However GSDMD and Bid double knockout macrophages still exhibit delayed and caspase-1-dependent apoptosis in response to Salmonella infection. This year, we identified caspase-7 as a signaling molecule responsible for the second pathway of caspase-1-induced apoptosis (Microbiol Immunol, 2020). In addition, we reported that mycoplasma-derived lipopeptide induces IL-1 β release in a GSDMD-independent manner in collaboration with Dr. Saeki of Hokkaido University (Immunology, 2020). These studies uncovered novel GSDMD-independent responses mediated by inflammasome.

We searched for a novel molecules that are involved in the inflammasome signal transduction using shRNA-based library screening. As a result, we found that a kinesin-related molecular motor KIF11 plays a crucial role for the NLRC4 and NLRP3 inflammasome-mediated IL-1 β release and pyroptosis. Interestingly, KIF11 interacts with caspase-1 and NLRs including NLRC4, NLRP3, NLRP2, NLRP7, NOD1 and NOD2. These results suggest that KIF11 plays a critical role in the NLR-mediated innate immune responses.

<2020年の研究成果、進捗状況及び今後の計画>

1. カスパーゼ1によるアポトーシスの誘導の分子機構の解析

カスパーゼ-1 誘導性アポトーシスの第二経路を担うシグナル伝達分子としてカスパーゼ-7 を同定した (Microbiol Immunol, 2020)。また、北大・口腔分子生物学教室との共同研究で、マイコプラズマ由来リポペプチドが GSDMD 非依存的に IL-1 β の放出を誘導することを報告した (Immunology, 2020)。さらに、GSDMD 依存的なカルパイン活性化がインフラマソームの下流で誘導される IL-1 α の成熟化に重要な役割を果たすことを明らかにした (Cell Reports, 2021, accepted)。今後、これまで行ってきたカスパーゼ誘導性細胞死の研究をさらに発展させるために、パイロトーシスを誘導するプロテアーゼを多様な病的状況から同定し、病態形成におけるその役割を検討する。

2. 自然免疫応答におけるモーター蛋白 KIF11 の役割の解析

siRNA による KIF11 の発現ノックダウンによって KIF11 インヒビター処理同様、NLRC4 および NLRP3 刺激で誘導されるパイロトーシスおよび IL-1 β 産生が抑制されることを確認した。また、KIF11 が他の NLR ファミリーメンバーNLRP2 および NLRP7 とも結合すること、その結合が各々の NOD ドメインを介することを確認した。これまでの知見と合わせ、KIF11 が NLRC4, NLRP3, NOD1, NOD2, NLRP2, NLRP7 の活性化に関与することが示唆された。今後はオーキシンドグロン法 (AID system) によるタンパク質発現消失システムを導入し、KIF11 の機能をよりクリアに証明することを試みる。また、共同研究として琉球大学の今村美菜子准教授らが保有する肥満モデルマウス (db/db) の耐糖能、インスリン感受性が KIF11 インヒビターを投与することで改善するシステムを利用して頂き、マウスの脂肪組織、血清の提供を受け、NLRP3 の活性化指標を測定することで KIF11 と NLRP3 のリンクを *in vivo* で検証することを試みる。

3. パイロトーシス細胞が放出する細胞内リステリア増殖抑制活性の解析

我々は、パイロトーシスを起こした細胞の培養上清中にマクロファージの細胞内に感染したリステリア菌の増殖を抑制する活性を見出し、この活性を担いうる物質を同定した。この物質のリステリア細胞内増殖抑制活性はオートファジーの阻害剤によって抑制された。さらに、この物質で処理したマクロファージにリステリアを感染させると、細胞内のリステリアがオートファゴゾームのマーカーである LC3 やライソソームのマーカーである Lamp1 と共局在する比率が増加したことから、この物質はゼノファジー (オートファジー機構による細菌などの隔離と分解) によるリステリアの排除を促進することで、細胞内リステリアの増殖を抑制することが示唆された。今後、リステリア感染制御におけるこの物質の役割を動物実験などで検討する。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著

(研究室主体)

1. Mahib MR., Hosojima S., Kushiya H., Kinoshita T., Shiroishi T, Suda T., and Tsuchiya K. Caspase-7 mediates caspase-1-induced apoptosis independently of Bid. *Microbiol Immunol.* 2020, 64(2):143-152
2. Tsuchiya K., Hosojima S., Hara H, Kushiya H., Mahib MR., Kinoshita T., and Suda T. Gasdermin D mediates the maturation and release of IL-1 α downstream of inflammasomes, 2021, *Cell Reports*, accepted

(共同研究)

1. Saeki A, Tsuchiya K., Suda T., Into T, Hasebe A, Suzuki T, and Shibata KI. Gasdermin D-independent release of interleukin-1 β by living macrophages in response to mycoplasmal lipoproteins and lipopeptides. *Immunology.* 2020, 161:114-122.

< 学会発表 >

1. Tsuchiya K., and Suda T. Gasdermin D mediates the release and maturation of IL-1 α during inflammasome formation. 第 93 回日本細菌学会総会 名古屋市, 2020 年 2 月 20 日
2. Suda T. Switches between apoptosis and pyroptosis. The 15th International Symposium of the Institute Network for Biomedical Sciences and The 6th IMCR -Symposium on Endocrine and Metabolism-. Cutting Edge of Biomedical and Metabolic Sciences. Online Meeting, Nov. 5-6, 2020
3. 土屋晃介. ASC and NLRP3 maintain innate immune homeostasis in the airway through an inflammasome-independent mechanism. 第一回 細胞死コロキアム. Online Meeting, 2020 年 11 月 11-12 日
4. Kinoshita T., Tsuchiya K., and Suda T. Kinesin molecular motor Eg5 functions during innate immune signaling. 第 43 回日本分子生物学会年会. Online Meeting, 2020 年 12 月 4 日

< 外部資金 >

1. 須田貴司 (研究代表者) 科学研究費 基盤研究 (B) 「パイロトーシス細胞が放出するリステリア増殖抑制因子の解析」直接経費 4,160 千円
2. 土屋晃介 (研究代表者) 令和元年度 科研費 基盤研究 (C) 「細菌感染治療の分子基盤を自然免疫機構と化学療法の協調的相互作用から理解する試み」 直接経費

900 千円

3. 土屋晃介（研究分担者）科学研究費 基盤研究（B）「パイロトーシス細胞が放出するリステリア増殖抑制因子の解析」直接経費 370 千円
4. 土屋晃介（研究代表者）北国がん基金「炎症性がん微小環境の形成におけるカスパーゼ 1 依存的細胞死の役割の解明」 500 千円

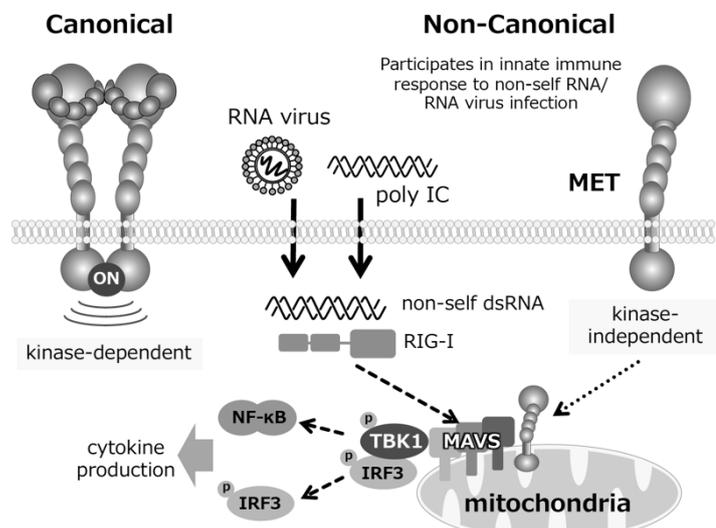
Division of Tumor Dynamics and Regulation 腫瘍動態制御研究分野

Professor	Kunio Matsumoto 松本 邦夫
Associate Professor	Katsuya Sakai 酒井 克也
Assistant Professors	Ryu Imamura 今村 龍 Hiroki Sato 佐藤 拓輝
Research Fellow	Nichole Marcela Rojas Chaverra
Graduate Student	Yumiko Tahira 田平 裕美子
Assistant Staff	Izumi Hashitani 端谷 泉

【Abstract】

Our research is focusing on 1) discovery of new physiological function of MET/HGF receptor, 2) mechanisms of metastatic niche formation by HGF-MET activation, 3) drug discovery based on cyclic peptides and protein engineering. Our research progresses in 2020 are followings. (1) Intracellular transfection of non-self RNA into cells induced inflammatory cytokine production, but this was reduced in MET-knockout cells. Consistently, RIG-I, TBK, and IRF activation was decreased in MET-knockout cells, but it was reconstituted by not only wild-type MET but also kinase-dead mutant MET. MAVS aggregation in mitochondria, which induces inflammatory cytokine production, was reduced in MET-knockout cells. MET receptor participates in innate immune response upon RNA virus infection independent on its tyrosine kinase activity, which is new function of MET regulated by non-canonical kinase-independent mechanism. (2) In the model of lung metastasis of malignant melanoma, the processing from precursor HGF to active HGF occurred in the lung before the colonization of tumor cells. Newly generated HGF activated MET in epithelial cells and induced genes closely involved in metastatic niche formation, including S100A9 and MMP-9. Tumor cells induce processing of proHGF to active HGF in distant lung and MET activation promotes formation of premetastatic tumor microenvironment before tumor cell colonization. (3) In malignant mesothelioma, MMP-2 expression was correlated with the 3-D invasiveness, and CBX6 in polycomb repressive complex regulates genes involved in tumor invasion, including MMP-2. CBX6-knockdown induced MMP-2

expression and tumor invasiveness. Consistently, CBX6 was constantly degraded upon ubiquitination in invasive but not non-invasive cells. CBX6 was localized in the nuclei in benign mesothelioma, but the nuclear CBX6 was lost in patients with malignant mesothelioma. Thus, proteasomal degradation of CBX6 promotes tumor invasiveness in malignant mesothelioma.



<2020年の研究成果, 進行状況>

1. Non-canonical MET 経路を介した自然免疫制御

MET 欠損細胞での解析から, (1) RNA ウイルス感染を模倣する非自己 2 本鎖 RNA の細胞内導入により炎症性サイトカイン産生が誘導される自然免疫応答性が MET 欠損で低下すること, (2) RIG-I, TBK, IFF の活性化, ミトコンドリア外膜での MABS 複合体形成, いずれも MET 欠損で低下すること, (3) 自然免疫応答性は MET 細胞内ドメインが関与するものの MET 受容体チロシンキナーゼ活性に依存しないことを見出した。受容体型チロシンキナーゼの生理活性はすべてチロシンキナーゼ活性に依存していると考えられている。MET 受容体を介した 2 本鎖 RNA 自然免疫応答は, MET の新しい生理機能であるばかりか, チロシンキナーゼ非依存的な non-canonical シグナル経路を介して発揮される (論文投稿中)。

2. tcHGF 生成とがん転移微小環境形成

HGF は不活性前駆体 HGF として細胞外に分泌・貯留され, 特異的なプロセッシングによって MET 活性化能をもつ活性型 HGF に変換される。悪性黒色腫の肺転移モデルを用いて, 転移ニッチ形成における HGF-MET 系の関与・意義を解析した。腫瘍細胞の肺への生着に先立って, 腫瘍由来因子の影響により平滑筋細胞での HGF 産生誘導と活性型 HGF へのプロセッシングと近傍の上皮細胞での MET 活性化がみられた。MET 活性化によって転移ニッチの形成に関与する複数の遺伝子群の誘導が認められ, HGF 阻害あるいは MET ノックアウトは転移を阻害した。転移先組織での HGF 生成は転移ニッチ形成に役割を果たすと考えられる (論文準備中)。

3. 悪性中皮腫の浸潤性

ヒト悪性中皮腫細胞の 3-D 浸潤能は浸潤性・非浸潤性に大別され, 浸潤能は MMP-2 発現に依存した。プロモーター解析から, MMP-2 発現の鍵となる分子がポリコム複合体の CBX6 に絞り込まれ, 非浸潤性細胞での CBX-6 ノックダウンによって MM-2 の発現誘導と浸潤性獲得がみられた。一方, 浸潤性細胞ではプロテアソームを介した恒常的分解により CBX-6 の発現が消失し, これにより MMP-2 発現と浸潤性獲得に至ることがわかった。また, 正常中皮では CBX-6 の核内局在が認められるのに対して, 悪性中皮腫組織では CBX-6 の消失が認められ, CBX-6 分解は悪性中皮腫患者での高い浸潤性に関与すると考えられる (Scientific Reports, 2020)。

<今後の計画>

1. HGF-MET 系を介したがん転移性ニッチ形成
2. HiP-8 を分子ツールとするイメージング活用創薬
3. 自然免疫応答における MET 新機能の腫瘍進展における意義
4. 自然免疫応答における MET の作用機作に関する構造ダイナミクス研究
5. MET 受容体活性化の構造ダイナミクスの研究
6. 環状ペプチド graft による高機能 MET リガンドタンパク質の創成と薬効の検証

【 研究業績 】

<論文発表>

原著

(研究室主体)

1. Sakai K, Nishiuchi T, Tange S, Suzuki Y, Yano S, Terashima M, Suzuki T, Matsumoto K. Proteasomal degradation of polycomb-group protein CBX6 confers MMP-2 expression essential for mesothelioma invasion. *Scientific Reports*, 10: 16678, 2020. doi: 10.1038/s41598-020-72448-y.

(共同研究)

1. Umitsu M, Sakai K, Tamura-Kawakami K, Matsumoto K, Takagi J. The constitutive high affinity Met binding site in the kringle domain is dispensable for the signaling activity of hepatocyte growth factor. *J Biochem*, 167: 577-586, 2020. doi: 10.1093/jb/mvaa006.
2. Wang R, Yamada T, Kita K, Taniguchi H, Arai S, Fukuda K, Terashima M, Ishimura A, Nishiyama A, Tanimoto A, Takeuchi S, Ohtsubo K, Yamashita K, Yamano T, Yoshimura A, Takayama K, Kaira K, Taniguchi Y, Atagi S, Uehara H, Hanayama R, Matsumoto I, Han X, Matsumoto K, Wang W, Suzuki T, Yano S. Transient IGF-1R inhibition combined with osimertinib eradicates AXL-low expressing *EGFR* mutated lung cancer. *Nature Commun*, 11: 4607, 2020. doi: 10.1038/s41467-020-18442-4.
3. Kajiwara K, Yamano S, Aoki K, Okuzaki D, Matsumoto K, Okada M. CDCP1 promotes compensatory renal growth 1 by integrating Src and Met signaling. *Life Science Alliance*, in press.

<総説・著書>

1. Sato H, Suga H, Matsumoto K, Sakai K. Cyclic peptide-based biologics regulating HGF-MET. *Int J Mol Sci*, 21: 7977, 2020. doi: 10.3390/ijms21217977.

(共同研究)

1. Mizutani S, Matsumoto K, Kato Y, Mizutani E, Mizutan H, Shibata K. New insights into human endometrial aminopeptidases in both implantation and menstruation. *Biochim Biophys Acta – Proteins & Proteomics*, 1868, 140332, 2020.

<学会発表>

1. 佐藤拓輝, 酒井克也, 今村龍, 大島浩子, 大島正伸, 村上和弘, 寺門侑美, 加藤幸成, 矢野聖二, 松本邦夫. 胃組織修復および発がん機構における活性型 HGF の役割. 第 79 回日本癌学会総会, 2020 年 10 月 1 日 (広島)
2. 今村龍, 酒井克也, 佐藤拓輝, 松本邦夫. 肺癌患者より同定された HGF 受容体 Met におけるミスセンス変異体 (V370D) の解析第 79 回日本癌学会総会, 2020 年 10 月 1 日 (広島)

3. 市川壮彦, 佐藤拓輝, 松本邦夫, 福間剛士. 肺腺がん細胞上の c-Met 受容体分子を原子間力顕微鏡で観察する方法の開発. 第 72 回 日本細胞生物学会大会, 6 月 9-11 日(京都)

<シンポジウム・講演>

1. 酒井克也, 高木淳一, 菅裕明, 柴田幹大, 松本邦夫. MET 受容体の人為制御と構造基盤. 第 93 回日本生化学会大会, 2020 年 9 月 15 日(横浜)
2. Kunio Matsumoto. Cyclic Peptide-based Drug Discovery Regulating HGF-MET. シンポジウム “肝細胞の生物学 Up to Date” 第 63 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2020 年 10 月 13 日(大津)
3. Katsuya Sakai. Artificial Met agonists based on macrocyclic peptides and protein engineering. The 15th International Symposium of the Institute Network for Biomedical Sciences. 2020 年 11 月 6 日(Maebashi)
4. 松本邦夫. 組換えタンパク質医薬が私たちにもたらしたものとこれから. ランチョンセミナー3, 第 65 回 日本生殖医療学会学術講演会・総会, 2020 年 12 月 3 日(東京).

<外部資金>

1. 松本邦夫: 次世代がん医療創生研究事業(P-CREATE) 「イメージング活用創薬の視点からの異分野技術融合によるシームレスな薬効評価システムの構築と実施」(分担課題)「抗 HGF 特殊環状ペプチドのイメージング活用創薬」(分担)直接経費 8,200 千円(間接経費込み)10,660 千円
2. 松本邦夫: 科学研究費補助金 基盤研究(B)「高機能環状ペプチド分子技術と融合する転移・薬剤耐性のがん微小環境の研究」(代表)4,100 千円
3. 松本邦夫: 産学連携共同研究 「NASH 治療薬を目指す Met アゴニストの医薬品特性の検証」(直接経費)7,171 千円
4. 松本邦夫: 産学連携受託研究「有用タンパク質の高発現細胞の構築」(代表)直接経費 1,500 千円
5. 酒井克也: 科学研究費補助金 基盤研究(C)「高機能ペプチドと AFM 分子動態計測による MET 受容体活性化の解明と制御」(代表)直接経費 1,200 千円
6. 佐藤拓輝: 科学研究費補助金 若手研究「特殊環状ペプチドを診断ツールとする低侵襲的な腫瘍特性解析法の開発」(代表)直接経費 1,000 千円

Division of Tumor Cell Biology and Bioimaging

腫瘍細胞生物学研究分野

Associate Professor	Eishu Hirata 平田 英周
Assistant Professor	Kojiro Ishibashi 石橋 公二郎
Technical Assistant	Sayuri Yamagishi 山岸 小百合

【 Abstract 】

Malignant brain tumors have an extremely poor prognosis regardless of whether they are primary or metastatic, and overcoming these devastating diseases is an extremely high social demand. Interactions with glial cells, the stromal cellular components in the brain microenvironment, are thought to play an important role in the development of malignant brain tumors, however the details are still unclear. One of the reasons is that a long-term and stable culture method for glial cells had not been established. Here we developed a stable and prolonged culture method for mixed-glial cells (mixed-glial culture on soft substrate, MGS method). In this method, astrocytes and microglial cells are cultured on an extremely soft substrate (Young's modulus <math><12\text{ Pa}</math>), which enables long-term culture of primary microglial cells. In addition, we can retain the plasticity of astrocytes for a long period of time, which is lost in about two weeks with the conventional culture method. Importantly, MGS closely mimics the brain microenvironment and we found that there is a strong correlation between the proliferative capacity of cancer cells in MGS condition and in mouse brain. Interestingly, we also found that cancer cells cultured in MGS condition for a certain period acquire proliferative capacity in mouse brain. Comprehensive and comparative gene expression analyses revealed some key molecules/signaling pathways that implicate the proliferative capacity of cancer cells in the brain microenvironment.

We also conducted drug screening by using MGS co-culture system and identified multiple molecules that strongly affects cancer cell behaviors in the brain microenvironment. Now we try to link the in vitro co-culture system, preclinical models (mouse models of primary and metastatic brain tumors) and clinical specimens to dissect the glial networks that support the survival and proliferation of primary and metastatic brain tumor cells.

<2020 年の研究成果, 進捗状況及び今後の計画>

1. 脳微小環境による DNMT1 抑制が脳転移がん細胞の生存と休眠に関与する

活性化アストロサイト由来の液性因子と脳組織のやわらかい力学的基盤が脳転移がん細胞の DNMT1 発現を抑制すること、この DNMT1 抑制によるエピジェネティ

ックリプログラミングが、脳転移がん細胞の生存と増殖抑制に関与することが明らかとなった。特に DNMT1 発現抑制によって強く誘導されるアポトーシス抑制因子・ α B-crystallin の発現が脳転移休眠がん細胞の生存維持に重要な役割を担うことが明らかとなり、これを標的とすることで治療が困難とされる脳転移休眠がん細胞を駆逐できる可能性が示唆された (Hirata et al., iScience 2020)。

2. 新規グリア培養法の確立とがん細胞-グリア細胞ネットワークの解析

マウス新生仔脳組織由来グリア細胞の画期的な長期培養法 (MGS 法: Mixed-glial culture on soft substrate) を確立することに成功した。本法ではグリア細胞を選別することなく極めてやわらかい基盤上 (Young's modulus < 12 Pa) で培養しており、これによってこれまで困難であった初代培養ミクログリアの長期培養が可能となった。また従来の培養法では2週間程度で失われていたアストロサイトの可塑性を数か月間に渡って保持することも可能となり、がん細胞とグリア細胞との複雑なネットワークを長期間に渡って解析することが可能となった (Ishibashi et al., in preparation)。この MGS 共培養系を用いた薬剤スクリーニングによりがん細胞の生存と増殖を規定する複数のグリアネットワーク介在分子・シグナル伝達経路を同定しており、今後更なる機能解析を進める。

3. カルボン酸系双性イオン液体の生命科学分野への応用

金沢大学理工研究域生命理工学系 黒田 浩介 博士との共同研究により、ヒスチジン類似構造を持つ極めて生体適合性の高い双性イオン液体 (zwitterionic liquid: ZIL) を見出した。ZIL 水溶液は様々な非水溶性薬剤に対する溶媒となり、DMSO を溶媒として用いることができないシスプラチンに対する溶媒としても機能することが明らかとなった。また DMSO は細胞凍結保存培地への添加剤 (氷晶形成防止剤) として広く利用されているが、ZIL は細胞外において DMSO よりも格段に優れた凍結細胞保護効果を有することが明らかとなった (Kuroda et al., Communications Chemistry 2020)。現在、化学構造の改変や混合液体の作製、用途毎の最適化により、これまで困難であった組織・PDX (patient-derived xenograft) の安定的凍結保存や精子・卵子・受精卵の高効率凍結保存、未分化能維持の観点から DMSO の使用が忌避される ES 細胞・iPS 細胞を含む幹細胞研究分野への応用を進めている。

その他、京都大学複合原子力科学研究所・近藤夏子博士との共同研究として、グリオーマ幹細胞を標的としたホウ素中性子捕捉療法に関する研究成果を *Cancers* 誌に発表した (Kondo et al., *Cancers* 2020)。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著

(研究室主体)

1. Hirata E*, Ishibashi K, Kohsaka S, Shinjo K, Kojima S, Kondo Y, Mano H, Yano S, Kiyokawa E, Sahai E. The brain microenvironment induces DNMT1 suppression and indolence of metastatic cancer cells. *iScience* 23(9):101480, 2020. (*corresponding author)

(共同研究)

1. Kuroda K*, Komori T, Ishibashi K, Uto T, Kobayashi I, Kadokawa R, Kato Y, Ninomiya K, Takahashi K, Hirata E*. Non-aqueous, zwitterionic solvent as an alternative for dimethyl sulfoxide in the life sciences. *Communications Chemistry* 3, 163 2020. (*corresponding author)

2. Kondo N, Hikida M, Nakada M, Sakurai Y, Hirata E, Takeno S, Suzuki M. Glioma stem like cells can be targeted in Boron Neutron Capture Therapy with boronophenylalanine. *Cancers*. 12(10): 3040, 2020.

< 学会発表 >

1. 石橋 公二郎、平田 英周 「転移性脳腫瘍におけるがん抑制性・促進性アストロサイトの制御メカニズム」 第2回金沢大学がん進展制御研究所・国立がん研究センター研究所 若手研究発表会 (石川県和倉町 2020年1月28-29日)
2. 平田 英周、石橋 公二郎 「脳転移におけるがん促進性・抑制性アストロサイトの同定」 公益財団法人 MSD 生命科学財団 合同研究発表会 (東京 2020年2月16日)
3. 平田 英周、石橋 公二郎 「脳微小環境による脳転移がん細胞の休眠維持機構」 第4回乳がん・転移若手研究会 (オンライン開催 2020年9月5日)
4. 石橋 公二郎、平田 英周 「がん抑制性・促進性グリア細胞による脳転移の制御メカニズム」 2020年度 先端モデル動物支援プラットフォーム 若手支援技術講習会 (オンライン開催 2020年9月11日)
5. 石橋 公二郎、平田 英周 「脳転移におけるがん抑制性・促進性グリア細胞の解析」 第79回 日本癌学会学術総会 (オンライン開催 2020年10月1-3日)

< 知的財産 >

1. PCT/JP2020/18668 「非プロトン性双性イオンを用いた未分化促進剤及び凍結保護剤」 黒田 浩介、平田 英周

<外部資金>

1. 基盤研究 (B) [研究代表者：平田 英周]
「がん脳転移微小環境分子基盤の統合的理解と治療への応用」 7,020 千円
2. 2020 年度 先進ゲノム支援 [研究代表者：平田 英周]
「がん脳転移微小環境分子基盤の統合的理解と治療への応用」
3. AMED 次世代がん医療創生研究事業・領域 B [研究代表者：平田 英周]
「アストロサイトを標的としたがん脳転移根治療法の開発」 18,000 千円
4. MSD 生命科学財団研究助成・がん領域 [研究代表者：平田 英周]
「脳転移におけるがん促進性・抑制性アストロサイトの同定」 1,500 千円
5. 若手研究 [研究代表者：石橋 公二郎]
「新規 *in vitro* 共培養系を用いた脳転移微小環境を形成する細胞間相互作用の解明」 1,560 千円
6. 研究活動スタート支援 [研究代表者：石橋 公二郎]
「がん脳転移関連アストロサイトの制御機構の解明」 1,430 千円
(学内研究資金)
7. 先魁プロジェクト 2020 [研究代表者：黒田 浩介 研究分担者：平田 英周]
「イオン性材料で革新するライフサイエンス」 4,000 千円

<その他>

(セミナー開催)

第3回腫瘍細胞生物学セミナー「がんゲノムの解読からがんシグナルの同定へ～発
生工学的アプローチによる～」国立精神・神経医療研究センター 川内 大輔 先生

がん分子標的探索プログラム

Division of Molecular Cell Signaling

シグナル伝達研究分野

Professor	Katsuji Yoshioka 善岡 克次
Assistant Professor	I Ketut Gunarta
Postdoctoral Researcher	Ryusuke Suzuki 鈴木 隆介
Graduate Student	Dewi Yuliana (D4), Purvee Erdenebaatar (D4), Ravdandorj Odongoo (D3), Yuhei Kishi 岸 勇平 (M1)
Assistant Staff	Hisayo Inotani 猪谷 久世

【 Abstract 】

Chromosomes contain all the genetic information required to grow and maintain a living organism. During mitosis, they are replicated and assorted identically into each daughter cell. Aneuploidy, a state of chromosome imbalance, is frequently observed in many types of cancer. JSAP2 (also known as JLP) can bind both kinesin and dynein motor proteins and regulate intercellular cargo trafficking as an adaptor protein. In recent years, overexpression of JSAP2 has been reported in various forms of cancer, and several groups have reported that downregulation of JSAP2 inhibits cancer cell proliferation and invasion. However, it remains unknown whether JSAP2 overexpression has some effects on non-transformed cells. We overexpressed JSAP2 in hTERT RPE1, a non-transformed cell line, and found remarkable increase in the proportion of aneuploid cells. By contrast, JSAP2 deletion mutants lacking kinesin-1 heavy chain-binding domain or dynactin p150^{Glued}-binding domain were unable to induce aneuploidy. Collectively, these findings may suggest that JSAP2 regulates chromosome stability through its motor adaptor function and its dysregulation induces aneuploidy.

Curcumin, a major component of turmeric, is known to exhibit antitumor activity. Curcumin has been shown to induce reactive oxygen species, mitogen-activated protein kinase (MAPK) activation, and cell death. Autophagy has been proposed as one of the protective mechanisms during curcumin-induced cell death. We explored the role of JSAP1 in curcumin-induced cancer cell death. The depletion of JSAP1 by shRNA-mediated knockdown or CRISPR-mediated knockout (KO) increased cell death induced by curcumin. Restoring the JSAP1 protein in the KO cells rescued the phenotype to a similar level of control parent cells. Activation of JNK and p38 MAPK was not largely affected by JSAP1 KO. Furthermore, analysis of autophagy markers showed impairment of autophagosome clearance in JSAP1 KO cells but not in control and rescued cells. These results suggest that JSAP1 protects cells from curcumin-induced cell death by modulating autophagy.

<2020年の研究成果, 進捗状況及び今後の計画>

1. 染色体安定性における JSAP2 の機能解析

染色体安定性の維持は 正常な発生や恒常性の維持に必要不可欠であり, その異常はがんの発生・悪性化や先天性疾患などと深く関わっている。これまでの多くの研究から, 染色体の均等分配機構は分子レベルで明らかにされつつある。しかし, 染色体分配に関わる鍵分子のダイナミックな局在変化を制御するメカニズムについては不明な点が多い。我々は, ヒト正常二倍体不死化 RPE1 細胞で JSAP2 タンパク質の発現レベルを上昇させると, 異数性細胞の割合が顕著に増加することを見出した。しかし, キネシン (あるいはダイニン・ダイナクチン) 結合領域を欠失した変異型 JSAP2 では発現亢進による異数性の誘導は認められなかった。これらの結果から, モーターアダプター JSAP2 は染色体の安定性維持において重要な役割を果たすと考えられる。今後, さらに解析を進め, JSAP2 による染色体安定性維持機構を分子レベルで明らかにする。

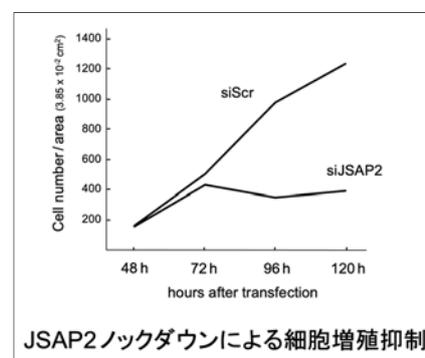
JSAP2 過剰発現による異数性の誘導

hTERT RPE-1	aneuploid cells
Parent	22.1% (n = 86)
HA-JSAP2_WT	59.7% (n = 77)
Parent	23.2% (n = 82)
HA-JSAP2_ΔKBD	28.9% (n = 90)
HA-JSAP2_ΔDBD	26.4% (n = 87)

WT, 野生型; ΔKBD, キネシン重鎖結合部位欠失; ΔDBD, ダイナクチン p150^{Glued} 結合部位欠失

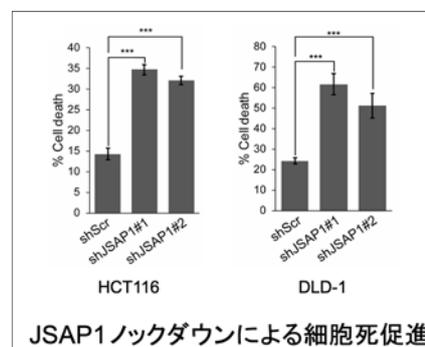
2. 細胞周期制御における JSAP の役割

JSAP1, 2 ダブルノックダウン (KD) RPE1 細胞 (shRNA による JSAP1 KD 細胞に JSAP2 に対する siRNA を導入した細胞) では, 増殖阻害が誘導されることを見出した。また, 細胞周期の解析から, この増殖阻害は G1 期停止の誘導によることを示唆する結果を得た。今後, より詳細な解析を行い, 細胞周期制御における JSAP の役割を明らかにする。



3. クルクミン誘導性細胞死における JSAP1 の役割とその分子機構

我々は, JSAP2 がリソソームの細胞内局在の新規制御因子として働くこと (Suzuki et al, DDT 2020) 及びクルクミン誘導性細胞死の制御に関与すること (Boldbaatar et al, BBRC 2020) を明らかにした。また, JSAP1 についても解析を行い, JSAP2 と同様, クルクミン誘導性細胞死に対して抑制的に働くことを見出した。しかし, JSAP1 は JSAP2 と異なり, オートファゴソームの分解に関与することが示唆された。さらに研究を進め, クルクミン誘導性細胞死における JSAP1 の役割とその分子機構を明らかにする予定である。



【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著

(研究室主体)

1. Boldbaatar J, Gunarta IK, Suzuki R, Erdenebaatar P, Davaakhuu G, Hohjoh H, Yoshioka K. Protective role of c-Jun NH₂-terminal kinase-associated leucine zipper protein (JLP) in curcumin-induced cancer cell death *Biochem Biophys Res Commun.* 522(3): 697-703, 2020.
2. Suzuki R, Gunarta IK, Boldbaatar J, Erdenebaatar P, Odongoo R, Yoshioka K. Functional role of c-Jun NH₂-terminal kinase-associated leucine zipper protein (JLP) in lysosome localization and autophagy. *Drug Discov Ther.* 14(1): 35-41, 2020.

(共同研究)

1. Yan Q, Zhu K, Zhang L, Fu Q, Chen Z, Liu S, Fu D, Nakazato R, Yoshioka K, Diao B, Ding G, Li X, Wang H. A negative feedback loop between JNK-associated leucine zipper protein and TGF- β 1 regulates kidney fibrosis. *Commun Biol.* 3(1): 288, 2020.
2. Hanata N, Shoda H, Hatano H, Nagafuchi Y, Komai T, Okamura T, Suzuki A, Gunarta IK, Yoshioka K, Yamamoto K, Fujio K. Peptidylarginine Deiminase 4 Promotes the Renal Infiltration of Neutrophils and Exacerbates the TLR7 Agonist-Induced Lupus Mice. *Front Immunol.* 11: 1095, 2020.

< 学会発表 >

1. 鈴木 隆介, 善岡 克次: Role of JLP in maintenance of chromosome stability. 第 79 回 日本癌学会学術総会, 2020 年 10 月 2 日, WEB 配信 (広島)
2. Gunarta IK, Erdenebaatar P, Yuliana D, Yoshioka K. Role of JNK/SAPK-associated protein 1 (JSAP1) in curcumin-induced cell death. 第 43 回日本分子生物学会年会, 2020 年 12 月 2 日, オンライン開催
3. Odongoo R, Suzuki R, Enomoto A, Tashiro K, Yoshioka K. Role of JSAP1 and JSAP2 in the regulation of cell proliferation and cell cycle progression. 第 43 回日本分子生物学会年会, 2020 年 12 月 3 日, オンライン開催
4. 鈴木 隆介, Odongoo R, 岩淵 禎弘, 橋本 真一, 善岡 克次: Role of the adaptor protein JSAP2 in chromosome stability. 第 43 回日本分子生物学会年会, 2020 年 12 月 3 日, オンライン開催

<外部資金>

1. 科学研究費補助金 若手研究 (B) (研究代表者：I Ketut Gunarta) “Role of kinesin/dynein adaptor JSAP in reactive oxygen species-induced cell death and lysosome positioning” 1,100 千円
2. 科学研究費補助金 研究活動スタート支援 (研究代表者：鈴木隆介) 「モーターアダプターJLPによる染色体安定性の制御機構」 1,100 千円
3. 高橋産業経済研究財団 (研究代表者：善岡 克次) 「国際連携による肝細胞癌の基礎研究」 2,000 千円

Division of Translational and Clinical Oncology

腫瘍制御研究分野

Professor	Toshinari Minamoto 源 利成
Assistant Professor	Takahiro Domoto 堂本貴寛
Graduate Student	Dilireba Bolidong (D4), Hiroyoshi Nakanishi 中西宏佳 (D4), Masahiro Uehara 上原将大 (D4), Ryosuke Ota 太田亮介 (D3), Kensaku Abe 阿部健作 (整形外科学; ~2020年3月), Satoshi Takenaka 竹中 哲 (消化器・腫瘍・再生外科学)
MRT* Program Student	Shuhei Morita 守田周平, Takashi Ishida 石田 岳 (2018.12.~)
Assistant Staff	Atsuko Asaka 浅香敦子, Naoko Abe 阿部尚子 (組織バンク; ~2020年3月) *MRT: Medical research training

【 Abstract 】

The mission of our division centers on laboratory and clinical research to develop the novel strategies and modalities for diagnosis and treatment of the gastrointestinal, refractory and rare cancers including glioblastoma, bone and soft tissue sarcomas. Research projects are based on biological characteristics of individual tumor types that are relevant to their invasive and metastatic potential, resistance to therapy, recurrence and outcome of patients. Our current efforts are focused on (1) research and development of the cancer therapy by targeting aberrant glycogen synthase kinase (GSK) 3 β ; (2) understanding of malignant phenotypes of cancer by investigating pathological metabolic properties (eg., aerobic glycolysis, tumor-promoting autophagy); and (3) biological basis of gastrointestinal and refractory cancers, all for clinical translation. We have been also establishing the tissue material resources of human stomach and colorectal cancer for our own projects described above as well as for studies collaborating with our institutional and many other research groups. In an immediate couple of years, we have obtained the preliminary results indicating the putative roles of tumor GSK3 β as a molecular hub that connects the pathways responsible for tumor invasion and resistance to therapy, thus enforcing its potential as a major cancer therapeutic target. We are extending this project toward investigation of the putative roles for GSK3 β in promoting esophageal squamous cell carcinoma (ESCC; the major type of esophageal cancer in Asia and Japan) and pancreatic neuroendocrine neoplasms as well as in acquiring chemoresistance in pancreatic cancer. We also have been trying to develop cellular and mouse models predisposing to ESCC by CRISPR-Cas9-based genome editing of the metabolic enzymes including glycogen synthase and GSK3 β . In addition to these projects, we have clarified the genetic and epigenetic characteristics of traditional serrated adenoma and duodenal non-ampullary adenoma and adenocarcinoma.

<2020年の研究成果、進捗状況及び今後の計画>

1. glycogen synthase kinase (GSK) 3 β 阻害によるがん治療法の研究, 開発

Wnt 経路抑制因子と認識されている GSK3 β が固有の分子経路を介して, がんの悪性形質を推進することを系統的に示してきた。そして, GSK3 β 阻害の強力で特異的ながん治療効果を細胞レベルと担がん動物で実証した。また, 学内外の外科系を中心とするグループと連携し, 膵がん, 膠芽腫や骨軟部肉腫などの難治, 希少がんで高活性を示す GSK3 β が, 高度の腫瘍浸潤性と治療(抗がん剤, 放射線)不応性の悪性形質を連結することを見出した。一連の研究をもとに, GSK3 β 阻害薬品の転用と抗がん剤を併用するがん治療法を開発し, 再発膠芽腫(附属病院脳神経外科)と進行膵がん(金沢医科大学病院)を対象とする医師主導臨床研究によりその安全性と抗腫瘍効果を検証した。現在, GSK3 β ががんの根源的特性である糖代謝改変と核分裂機構に共通の促進機能を示すことを示唆する予備成果を得ている。また, GSK3 β のがん促進理論の強化のため, その機能解析を食道扁平上皮がん, ラット食道発がんモデル, 腫瘍浸潤とがん幹細胞性を特徴とする抗がん剤耐性獲得膵がんや整形外科領域の軟部肉腫を対象に進め, 2020年は膵内分泌腫瘍(PNET)の共同研究を開始した。

2. がんの代謝特性にもとづく悪性形質の解析研究

GSK3 β は糖代謝の初期段階でグリコーゲン代謝を制御するという観点から, がん固有の糖代謝改変(Warburg 効果)に関わる触媒酵素やがん促進性自食作用に対する GSK3 β の機能解析を進めている。とくに, 特定の間代謝産物が解糖経路と自食作用の接点になるという最近の報告をもとに, これらの代謝経路における GSK3 β の機能を統合的に明らかにすることを目的とする。これとは別に, 食道の扁平上皮発がん初期の生物学的特性は細胞内グリコーゲンの減少, 消失である。この点に鑑み, 患者由来の正常食道扁平上皮細胞とマウスを対象に, グリコーゲン合成酵素と GSK3 β のゲノム編集による食道扁平上皮発がん状態の誘発を試みる研究を2018年に開始し, 目的の改変マウスを作出して, 長期の経過観察を始めた。

3. ヒト消化管がん組織バンクを中心とする大腸がんの分子病理学的研究

消化管がん研究や臨床研究の基礎資源として2008年から本事業を開始し, 2010年にこの事業を当研究所ヒトがん組織バンクに継承し現在に至っている。この組織資源の共同利用促進のために, 日本医療研究開発機構ゲノム医療支援サイト(<http://www.biobank.amed.go.jp/biobank/index.html>)に情報公開している。山梨大学:竹田 扇らが開発した大気圧イオン化法-質量分析を用いて, 大腸がん質量分析診断法開発の共同研究を継続している。大腸組織の質量分析パターンをもとに特有の統計解析と機械学習を組合わせて非がん/がんの判別(診断)アルゴリズムを構築し, 90%以上の感度と特異度による判別を可能にした(論文作成予定)。現在, 島津製作所基盤技術研究所と共同で, 大腸がんの質量分析-内視鏡診断法の内視鏡デバイス開発に着手した。組織バンク検体を利用して, 名古屋市立大学(大腸鋸歯状腺腫), 香川大学(大腸がんテロメア解析)と共同研究を開始した。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著

1. Uehara M, Domoto T, Takenaka S, Bolidong D, Takeuchi O, Miyashita T, Minamoto T. Glycogen synthase kinase 3 β participates in acquired resistance to gemcitabine in pancreatic cancer. *Cancer Sci*, in publication. 2020 Sep 28. doi: 10.1111/cas.14668. Online ahead of print.
2. Ota R, Sawada T, Tsuyama S, Yao T, Sasaki Y, Suzuki H, Kaizaki Y, Hasatani K, Yamamoto E, Nakanishi H, Inagaki S, Tsuji S, Yoshida N, Doyama H, Kasashima S, Kubota E, Kataoka H, Tokino T, Minamoto T. Integrated genetic and epigenetic analysis of cancer-related genes in non-ampullary duodenal adenomas and intramucosal adenocarcinomas. *J Pathol* 252 (3): 330-342, 2020. doi: 10.1002/path.5529. Epub 2020 Sep 12.
3. Bolidong D, Domoto T, Uehara M, Sabit H, Okumura T, Endo Y, Nakada M, Ninomiya I, Miyashita T, Wong RW, Minamoto T. Potential therapeutic effect of targeting glycogen synthase kinase 3 β in esophageal squamous cell carcinoma. *Sci Rep* 10 (1): 11807, 2020. doi: 10.1038/s41598-020-68713-9.
4. Chung Nien Chin S, O'Connor L, Scurr M, Busada JT, Graham AN, Alipour Talesh G, Tran CP, Sarkar S, Minamoto T, Giraud AS, Cidlowski JA, Sutton P, Menheniott TR. Coordinated expression loss of *GKN1* and *GKN2* in gastric cancer via impairment of a glucocorticoid-responsive enhancer. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 319 (2): G175-G188, 2020. doi: 10.1152/ajpgi.00019.2020. Epub 2020 Jun 15.
5. Nakanishi H, Sawada T, Kaizaki Y, Suzuki H, Yamamoto E, Ota R, Aoki H, Eizuka M, Hasatani K, Takahashi N, Kuno T, Inagaki S, Yamada S, Ebi M, Kubota E, Kataoka H, Takahashi S, Minamoto T¹, Tokino T, Sugai T, Sasaki Y. Significance of gene mutations in Wnt signaling pathway in traditional serrated adenomas of the colon and rectum. *PLoS One* 15 (2): e0229262, 2020. doi: 10.1371/journal.pone.0229262. eCollection 2020.
6. Ailiken G, Kitamura K, Hoshino T, Satoh M, Tanaka N, Minamoto T, Rahmutulla B, Kobayashi S, Kano M, Tanaka T, Kaneda A, Nomura F, Matsubara H, Matsushita K. Posttranscriptional regulation of BRG1 by FIR Δ exon2 in gastric cancer. *Oncogenesis* 9 (2): 26, 2020. doi: 10.1038/s41389-020-0205-4.

7. Abe K*, Yamamoto N, Domoto T*, Bolidong D, Hayashi K, Takeuchi A, Miwa S, Inatani H, Aoki Y, Higuchi T, Taniguchi Y, Yonezawa H, Aiba H, Araki Y, Minamoto T, Tsuchiya H. Glycogen synthase kinase 3 β as a potential therapeutic target in synovial and fibrosarcoma. *Cancer Sci* 111 (2): 429-440, 2020. doi: 10.1111/cas.14271. Epub 2019 Dec 30. *Equal contribution

著書・総説

8. Abe K*, Shimozaki S*, Domoto T, Yamamoto N, Tsuchiya H, Minamoto T. Glycogen synthase kinase 3 β biology in bone and soft tissue sarcomas. *J Cancer Metastasis Treat* 6: 51, 2020. doi: 10.20517/2394-4722.2020.117. *Equal contribution
9. Domoto T, Uehara M, Bolidong D, Minamoto T. Glycogen synthase kinase 3 β in cancer biology and treatment. *Cells* 9 (6): 1388, 2020. doi: 10.3390/cells9061388.
10. Minamoto T. Detection and characterization of oncogene mutations in preneoplastic and early neoplastic lesions. *Methods Mol Biol* 2102: 419-37, 2020. doi: 10.1007/978-1-0716-0223-2_24.

<学会発表>

1. 澤田 武, 太田亮介, 津山 翔, 八尾隆史, 波佐谷兼慶, 海崎泰治, 中西宏佳, 吉田尚弘, 辻 重継, 土山寿志, 湊 宏, 山本英一郎, 久保田英嗣, 片岡洋望, 佐々木泰史, 源 利成, 鈴木 拓. 非乳頭十二指腸腫瘍における DNA メチル化と遺伝子変異の統合解析. 2020年2月7日(金)–8日(土), 姫路ホテル日航姫路, 姫路市.
2. Takeshi Sawada, Ryosuke Ota, Sho Tsuyama, Takashi Yao, Yasushi Sasaki, Hiromu Suzuki, Yasuharu Kaizaki, Kenkei Hasatani, Eiichiro Yamamoto, Hiroyoshi Nakanishi, Shigetsugu Tsuji, Naohiro Yoshida, Hisashi Doyama, Eiji Kubota, Hiromi Kataoka, Toshinari Minamoto. Integrated genetic and epigenetic analysis of cancer-related genes in non-ampullary duodenal adenomas and mucosal adenocarcinomas. *Digestive Disease Week® (DDW) 2020*, May 02 (Sat) – 05 (Tue), 2020, McCormick Place, Chicago, Illinois, U. S. A.
3. 吉村健太郎, Chen Lee Chuin, 二宮 啓, 城野悠志, 堂本貴寛, 源 利成, 竹田 扇. 質量分析内視鏡を用いたリアルタイムがん診断システムの開発. 日本質量分析学会 第68回質量分析総合討論会, 2020年5月11日(月)–13日(水), グランキューブ大阪, 大阪市.

4. Takahiro Domoto, Masahiro Uehara, Dilireba Bolidong, Osamu Takeuchi, Tomoharu Miyashita, Toshinari Minamoto. GSK3 β interconnects tumor invasion and stemness in pancreatic cancer acquiring resistance to gemcitabine. The 7th JCA-AACR Special Joint Conference for the Latest Advances in Pancreatic Cancer Research: From Basic Science to Therapeutics. June 9 (Tue)-11 (Thu), 2020. Kyoto Tokyu Hotel, Kyoto, Japan.
5. 阿部健作, 山本憲男, 堂本貴寛, 林 克洋, 武内章彦, 三輪真嗣, 五十嵐健太郎, 源利成, 土屋弘行. 滑膜肉腫・線維肉腫に対するGSK3 β を標的とした新しい分子標的治療. 第93回日本整形外科学会・学術集会, 2020年6月11日(木)–8月31日(月), 福岡市(ウェブ).
6. 堂本貴寛, 宮下知治, Bolidong Dilireba, 上原将大, 竹中 哲, 竹内 修, 太田哲生, 源利成. 膵がん細胞のゲムシタビン耐性化に伴う悪性進展機構の解明とGSK3 β の役割. Role of GSK3 β in malignant progression of pancreatic cancer associated with gemcitabine resistance. 第29回日本がん転移学会学術集会・総会, 2020年7月16日(木)–17日(金), 神戸国際会議場, 神戸市.
7. 中西宏佳, 吉田尚弘, 土山寿志. NBI併用拡大観察を用いたHelicobacter pylori除菌後胃癌の側方進展診断能の検討. Delineation of early gastric cancer after Helicobacter pylori eradication by using magnifying narrow-band imaging. 第99回日本消化器内視鏡学会総会, 2020年9月2日(水)–3日(木), 国立京都国際会館, 京都市.
8. 阿部健作, 山本憲男, 堂本貴寛, 林 克洋, 武内章彦, 三輪真嗣, 五十嵐健太郎, 樋口貴史, 源 利成, 土屋弘行. GSK3 β 阻害薬による滑膜肉腫・線維肉腫への新しい分子標的治療. 第53回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会, 2020年9月11日(金)–30日(木), ロイトン札幌, 札幌市(ウェブ).
9. Takahiro Domoto, Tomoharu Miyashita, Satoshi Takenaka, Masahiro Uehara, Dilireba Bolidong, Tetsuo Ohta, Toshinari Minamoto. GSK3 β interconnects cancer stemness and invasive capacity in pancreatic cancer with acquired resistance to gemcitabine. 堂本貴寛, 宮下知治, 竹中 哲, 上原将大, ボリドン デイリレバ, 太田哲生, 源 利成. GSK3 β はゲムシタビン耐性獲得膵がん細胞の幹細胞性と浸潤能に関与する. 第79回日本癌学会学術総会, 2020年10月1日(木)–3日(土), リーガロイヤルホテル広島, メルパルク広島, 広島県立総合体育館, 広島市(ハイブリッド).
10. Masahiro Uehara, Takahiro Domoto, Satoshi Takenaka, Diliraba Bolidong, Takeo Shimasaki, Tomoharu Miyashita, Tetsuo Ohta, Toshinari Minamoto. Glycogen synthase kinase (GSK)-3 β as a new target to overcome acquired resistance to gemcitabine in

- pancreatic cancer. 上原将大, 堂本貴寛, 竹中 哲, ディリラバ ボリドン, 島崎猛夫, 宮下知治, 太田哲生, 源 利成. Glycogen synthase kinase (GSK)-3 β を標的とする膵がんのゲムシタビン獲得耐性の克服. 第 79 回日本癌学会学術総会, 2020 年 10 月 1 日(木) – 3 日(土), リーガロイヤルホテル広島, メルパルク広島, 広島県立総合体育館, 広島市(ハイブリッド).
11. Takeshi Sawada, Yasushi Sasaki, Ryosuke Ota, Sho Tsuyama, Takashi Yao, Hiroyoshi Nakanishi, Eiichiro Yamamoto, Eiji Kubota, Hiromi Kataoka, Hiromu Suzuki, Takashi Tokino, Toshinari Minamoto. Integrated genetic and epigenetic analysis in non-ampullary duodenal adenomas and intramucosal adenocarcinomas. 澤田 武, 佐々木泰史, 太田亮介, 津山 翔, 八尾隆史, 中西宏佳, 山本英一郎, 久保田英嗣, 片岡洋望, 鈴木 拓, 時野隆至, 源 利成. 非乳頭十二指腸腺腫, 粘膜内癌におけるゲノム・エピゲノムの統合解析. 第 79 回日本癌学会学術総会, 2020 年 10 月 1 日(木) – 3 日(土), リーガロイヤルホテル広島, メルパルク広島, 広島県立総合体育館, 広島市(ハイブリッド).
12. Keiko Yamakawa, Yuko Narusawa, Juanjuan Ye, Masanao Yokohira, Keishi Nakamura, Toshinari Minamoto, Yoko Matsuda. Morphological characteristics influence tumor stage in colorectal cancer. 山川けいこ, 成澤裕子, 葉 娟娟, 横平政直, 中村慶史, 源 利成, 松田陽子. 大腸癌の組織学的特徴は病期と関連する. 第 79 回日本癌学会学術総会, 2020 年 10 月 1 日(木) – 3 日(土), リーガロイヤルホテル広島, メルパルク広島, 広島県立総合体育館, 広島市(ハイブリッド).
13. 阿部健作, 山本憲男, 林 克洋, 武内章彦, 三輪真嗣, 土屋弘行. GSK3 β を標的とした滑膜肉腫・線維肉腫に対する新規分子標的治療の解析. 第 135 回中部日本整形外科学会・災害外科学会・学術集会, 2020 年 10 月 9 日(金) – 11 月 10 日(火), 島根県立産業交流会館, 松江市(ウェブ).
14. 上原将大, 堂本貴寛, 竹中 哲, ディリラバ ボリドン, 竹内 修, 宮下知治, 源 利成. GSK3 β は膵がんのゲムシタビン耐性獲得に寄与する. Glycogen synthase kinase-3 β participates in acquired resistance to gemcitabine in pancreatic cancer. 第 31 回日本消化器癌発生学会総会, 2020 年 11 月 27 日(金), 大阪国際会議場, 大阪市(ウェブ).
15. ボリドン ディリレバ, 堂本貴寛, 上原将大, 奥村知之, 遠藤良夫, 中田光俊, 二宮 致, 宮下知治, ウォン リチャード, 源 利成. GSK3 β 阻害による食道扁平上皮がんの治療効果とメカニズム. Potential therapeutic effect of targeting glycogen synthase kinase 3 β in esophageal squamous cell carcinoma. 第 31 回日本消化器癌発生学会総会, 2020 年 11 月 27 日(金), 大阪国際会議場, 大阪市(ウェブ).

<外部資金>

1. 2020年－2022年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 課題番号 20K09100
宮下知治(代表), 源 利成, ほか(分担)
課題: GSK3 β を基軸とした食道発癌機構の解明と新規治療戦略の開発
研究経費: 4,160,000 円(直接経費 3,200,000 円, 間接経費 960,000 円)
2. 2019年－2021年度 科学研究費補助金 基盤研究(B) 課題番号 19H03727
源 利成(代表), Richard Wong, 宮下知治(分担)
課題: 大腸がんの糖代謝改変と細胞核分裂機構を繋ぐ分子経路の解明とがん制御法
開発への応用
研究経費: 17,420,000 円(直接経費 13,400,000 円, 間接経費 4,020,000 円)
3. 2019年－2021年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 課題番号 19K07710
堂本貴寛(代表)
課題: GSK3 β によるがん促進的糖代謝特性の解明と制御への応用
研究経費: 4,420,000 円(直接経費 3,400,000 円, 間接経費 1,020,000 円)
4. 2019年－2021年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 課題番号 19K08367
太田亮介(代表), 澤田 武, 源 利成, ほか(分担)
課題: RNA シーケンスによる大腸鋸歯状腺腫の発癌機構の解明と分子標的治療の基
盤確立
研究経費: 4,420,000 円(直接経費 3,400,000 円, 間接経費 1,020,000 円)
5. 2019年－2021年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 課題番号 19K08463
澤田 武(代表), 太田亮介, ほか(分担)
課題: 表在性非乳頭部十二指腸腫瘍の発癌機構の解明と, 進展を予測する内視鏡診
断体系の確立
研究経費: 4,420,000 円(直接経費 3,400,000 円, 間接経費 1,020,000 円)
6. 2018年－2020年度 科学研究費補助金(基盤研究C): 課題番号 18K07983
島崎猛夫(代表), 源 利成(連携), ほか
課題: 膵がん細胞の exosome を介した浸潤性伝播の解明とその抑制剤の開発
研究経費: 4,420,000 円

Division of Functional Genomics

機能ゲノミクス研究分野

Professor	Takeshi Suzuki 鈴木 健之
Assistant Professor	Akihiko Ishimura 石村 昭彦, Minoru Terashima 寺島 農
Graduate Student	Sasithorn Wanna-Udom (D4) Kusuma Suphakhong (D3) Hanbing Lyu (D2) Risa Takatsuka 高塚理沙 (D2) Gerelsuren Batbayar (D2)
Assistant Staff	Atsuko Odawara 小田原 敦子

【 Abstract 】

We have been studying the function of epigenetic regulators such as histone methyl-modifying enzymes and long noncoding RNAs in the various steps of the malignant progression of cancer. This year we investigated the roles of new types of epigenetic regulators, an RNA methyltransferase METTL3 and a pioneer transcription factor FOXA1. METTL3 is a catalytic enzyme of N6-Methyladenosine (m6A) modification of RNA. We found that m6A modification and METTL3 expression were increased in TGF- β -induced EMT of lung cancer cells. Mechanistic investigations revealed that METTL3 is indispensable for TGF- β -induced EMT through the regulation of JUNB mRNA that encodes one of the important transcriptional regulators of EMT. Our findings validated the significance of the regulation for m6A RNA modification in the important step of cancer progression and provided the possibility to develop novel therapeutic strategies for the treatment of cancer metastasis. On the other hand, FOXA1 is a pioneering transcription factor that can bind to and open “closed chromatin” and trigger transcriptional events on target genes. In the collaborative study with Dr. Yano, we observed that FOXA1 epigenetically activated the expression of IGF-1R in response to osimertinib (EGFR-TKI) treatment in EGFR mutated non-small cell lung cancer cells. Since activation of IGF-1R signaling pathway contributed to osimertinib resistance, an indispensable role of FOXA1 was demonstrated on the emergence of drug tolerant cells via IGF-1R activation during the EGFR-TKI treatment of lung cancer cells.

<2020 年の研究成果, 進捗状況及び今後の計画>

1. がん細胞の EMT における RNA メチル化酵素 METTL3 の役割

RNA の A 塩基のメチル化修飾である m6A 修飾と、それを担う METTL3 酵素の発現は、肺がん細胞の TGF- β 誘導 EMT の過程で有意に増加する。ノックダウン実験から、METTL3 酵素が EMT の進行や細胞の運動性の上昇に必須であることが示された。また、m6A 修飾を受ける標的遺伝子候補のうち、JUNB 転写制御因子が METTL3 による EMT 制御に重要であることがわかった。すなわち、がん悪性進展のエピジェネティック制御において RNA の化学修飾が重要な役割を担うことを見いだした。

2. 肺がん細胞の EGFR-TKI 耐性獲得に関与するエピジェネティック制御因子

EGFR 変異を持つ非小細胞肺がんのうち、AXL 低発現のがん細胞は、高発現のものに比べてオシメルチニブ (EGFR-TKI) に対する感受性が高いが、それでもやはり薬剤耐性細胞が出現する。この耐性獲得には、薬剤による IGF-1R の発現上昇と活性化が関与する。矢野教授との共同研究により、オシメルチニブによる IGF-1R の発現上昇を誘導するのは、オープンクロマチン構造形成を担うパイオニア転写因子 FOXA1 であることを発見した。FOXA1 ノックダウンが薬剤耐性細胞の出現を著しく抑制することから、薬剤耐性克服のための新しい治療標的として注目される。

3. 乳がん悪性形質獲得に関与するエピジェネティック制御因子の探索

がん悪性進展の際のエピジェネティック制御の重要性を調べるために、ドライバー遺伝子変異導入がん細胞株の悪性形質獲得に対して協調的に作用するエピジェネティック制御因子を CRISPR/Cas9 スクリーニング法によって探索している。今年度は、P53 欠損 MCF7 細胞とエピジェネティック制御因子 sgRNA ライブラリーを用いて、スフィア形成を指標にスクリーニングを行った。その結果、ヒストン脱メチル化酵素である KDM3B, KDM8 とヒストンアセチル化酵素 X が同定された。これらの候補因子は、TCGA 解析でもその発現低下と乳がん悪性度との相関性が確認され、ノックダウン実験によっても乳がん細胞のスフィア形成能、細胞増殖・浸潤能に寄与することが確認された。今後、これらの酵素が直接的に制御する標的遺伝子を同定し、乳がん悪性進展過程における役割を明らかにする計画である。

4. ヒストンメチル化修飾分布に基づく EMT 制御転写因子の探索

ヒストンの H3K4me3 修飾は、細胞の特異性を決定する重要な遺伝子座に、より広範囲にマークされることが報告されている。そこで、EMT 進行をコントロールする新しい因子を同定するために、EMT 誘導の前後で H3K4me3 修飾の ChIP-seq 解析を行い、誘導後に H3K4me3 修飾範囲が拡大する遺伝子の中から EMT 制御転写因子の候補を探索した。選抜された候補には、SNAIL や SLUG など既知の EMT 転写因子に加えて、EMT との関係性が未報告の転写因子が 5 種類含まれていた。これらの転写因子について、ノックダウンや過剰発現実験を行い EMT への関与を調べて、候補の絞り込みを進めている。今後、候補転写因子の作用メカニズムを解明し、がん転移における EMT 制御機構の理解に貢献したい。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著

(研究室主体)

1. Wanna-Udom S, Terashima M, Lyu H, Ishimura A, Takino T, Sakari M, Tsukahara T and Suzuki T. The m6A methyltransferase METTL3 contributes to Transforming Growth Factor-beta-induced epithelial-mesenchymal transition of lung cancer cells through the regulation of JUNB. *Biochem Biophys Res Commun.*, 524(1): 150-155, 2020.
2. Wanna-Udom S, Terashima M, Suphakhong K, Ishimura A, Takino T and Suzuki T. KDM2B is involved in the epigenetic regulation of TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition in lung and pancreatic cancer cell lines. *J Biol. Chem.*, in press.

(共同研究)

3. Yamahana H, Takino T, Endo Y, Yamada H, Suzuki T and Uto Y. A novel celecoxib analog UTX-121 inhibits HT1080 cell invasion by modulating membrane-type 1 matrix metalloproteinase. *Biochem Biophys Res Commun.*, 521(1):137-144, 2020.
4. Takino T, Suzuki T and Seiki M. Isolation of Highly Migratory and Invasive Cells in Three-Dimensional Gels. *Curr Protoc Cell Biol.*, 6(1):e103, 2020.
5. Sakai K, Nishiuchi T, Tange S, Suzuki Y, Yano S, Terashima M, Suzuki T and Matsumoto K. Proteasomal degradation of polycomb-group protein CBX6 confers MMP-2 expression essential for mesothelioma invasion. *Sci Rep.*, 10(1):16678, 2020.
6. Wang R, Yamada T, Kita K, Taniguchi H, Arai S, Fukuda K, Terashima M, Ishimura A, Nishiyama A, Tanimoto A, Takeuchi S, Ohtsubo K, Yamashita K, Yamano T, Yoshimura A, Takayama K, Kaira K, Taniguchi Y, Atagi S, Uehara H, Hanayama R, Matsumoto I, Han X, Matsumoto K, Wang W, Suzuki T and Yano S. Transient IGF-1R inhibition combined with osimertinib eradicates AXL-low expressing EGFR mutated lung cancer. *Nat Commun.*, 11(1):4607, 2020.
7. Saifullah, Sakari M, Suzuki T, Yano S and Tsukahara T. Effective RNA knockdown using CRISPR-Cas13a and molecular targeting of the EML4-ALK transcript in H3122 lung cancer cells. *Int J Mol Sci.*, 21(23):e8904, 2020.

< 学会発表 >

国内学会

1. Suzuki T, Terashima M and Ishimura A. Functional analysis of the RNA methyltransferase in the transcriptional regulation of epithelial-mesenchymal transition. 第79回日本癌学会学術総会（広島2020年10月）
2. Takino T, Suzuki T and Takatsuka R. TGF-beta1 stimulates MT1-MMP-mediated MMP-9 activation and invasion in oral squamous cell carcinoma cells. 第79回日本癌学会学術総会（広島2020年10月）
3. Ishimura A, Wanna-Udom S, Tange S, Lyu H, Batbayar G, Terashima M and Suzuki T. CRISPR/Cas9 screening of epigenetic factors related to breast cancer malignancy. 第43回日本分子生物学会年会（2020年12月）
4. Terashima M, Ishimura A, Nishimura T, Tange S, Hazawa K, Wong RW and Suzuki T. The mechanism of transcriptional regulations controlling EMT in cancer cells. 第43回日本分子生物学会年会（2020年12月）
5. Suzuki T, Terashima M, Wanna-Udom S, Lyu H, Ishimura A, Sakari M and Tsukahara T. Functional analysis of the epigenetic factors in the transcriptional regulation of epithelial-mesenchymal transition. 第43回日本分子生物学会年会（2020年12月）

<外部資金>

1. 文部科学省科学研究費補助金, 基盤研究 (C), 研究代表者 鈴木健之, 1,100 千円 研究課題名「ゲノムワイドな挿入変異を利用した疾患関連 lncRNA の機能解析」
2. 文部科学省科学研究費補助金, 基盤研究 (C), 研究代表者 石村昭彦, 1,100 千円 研究課題名「がん悪性形質獲得に関係するエピジェネティック制御因子の探索」
3. 文部科学省科学研究費補助金, 基盤研究 (C), 研究代表者 寺島農, 1,000 千円 研究課題名「上皮間葉転換を制御する lncRNA の探索とその機能の解明」

がん分子標的医療開発プログラム

Division of Medical Oncology

腫瘍内科研究分野

Professor	Seiji Yano 矢野 聖二
Lecturer	Koshiro Ohtsubo 大坪 公士郎, Shinji Takeuchi 竹内 伸司
Assistant Professor	Kaname Yamashita 山下 要, Akihiro Nishiyama 西山 明宏 Azusa Tanimoto 谷本 梓, Koji Fukuda 福田 康二 Sakiko Ohtani 大谷 咲子 (2020年3月まで) Yohei Takumi 内匠 陽平, Xujun Han (Nano LSI)
Assistant	Sachiko Arai 新井 祥子
Resident	Chiaki Suzuki 鈴木 千晶, Naohiro Yanagimura 柳村 尚寛 Hiroyuki Sakaguchi 坂口 裕之 (2020年3月まで) Shigeki Sato 佐藤 成樹 (2020年4月から)
Assistant Staff	Junko Dohbayashi 堂林 淳子, Tomoko Kohori 小堀 朋子

【 Abstract 】

Our researches focus on clarifying mechanism of targeted drug resistance and circumvention of the resistance in various types of cancers with driver oncogenes. In this year, we reported a pivotal role for IGF-1R in the tolerance of AXL-low expressing EGFR-mutated lung cancer to EGFR tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI) osimertinib. Osimertinib increased IGF-1R expression by stimulating the expression of transcription factor FOXA1. Transient combination of the IGF-1R inhibitor with osimertinib could eradicate tumors and prevent regrowth even after the cessation of osimertinib. Leptomeningeal carcinomatosis (LMC) occurs frequently in anaplastic lymphoma kinase (ALK)-rearranged lung cancer and develops acquired resistance to ALK-TKIs. We found that ALK lung cancer cells could acquire ALK-TKI resistance by EGFR activation via overexpression of amphiregulin due to downregulation of miR-449a.

We completed the investigator initiated trial (Phase I/II) of alectinib, which has inhibitory activity to ALK and RET, in RET-rearranged lung cancer patients. We firstly determined the maximum tolerate dose of alectinib in the Japanese patients as 450mg twice a day (BID). In the phase II part, the response rate, disease control rate, and median progression free survival of alectinib 450mg BID was 4% (1/25), 52% (13/25), and 3.4 month, respectively. Due to these results, we terminated the further development of alectinib on RET-rearranged lung cancer.

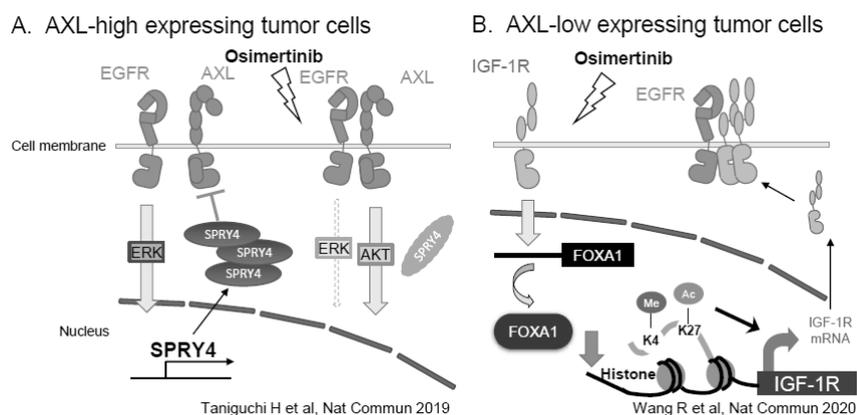
<2020年の研究成果，進捗状況及び今後の計画>

1. AXL 低発現 EGFR 変異肺がんのオシメルチニブ抵抗性機構解明とその克服

分子標的薬に曝露されたがん細胞は，一部が抵抗性細胞として生存し後に増殖を可能にする耐性因子を獲得して耐性腫瘍を形成する。昨年 AXL 高発現 EGFR 変異肺がん細胞は，AXL からのシグナルでオシメルチニブ(第3世代 EGFR-TKI)に抵抗性となることを報告した(図 A)。今回，AXL 低発現 EGFR 変異肺がん細胞はオシメルチニブに高感受性だが，転写因子 FOXA1 が IGF-1R 蛋白発現を増強し，IGF-1R からの刺激で一部が抵抗性細胞化することを示した(図 B)。

(Nat Commun, 2020)

今後 FOXA1 機能を抑制し抵抗性細胞の発生を阻害する薬剤を開発する。



2. 髄膜がん腫瘍におけるアレクチニブ耐性の機構解明とその克服

臨床上治療に難渋する髄膜がん腫瘍(LMC)は分子標的薬耐性が生じやすい。ALK 阻害薬アレクチニブは ALK 融合遺伝子陽性肺がん(ALK 肺がん)の LMC に奏効するが，がん細胞が miR-449a 発現低下によりアンフィレグリン(AREG)発現が上昇し EGFR 活性化により耐性化することを見出した。また，この耐性を EGFR 阻害薬併用で克服できることを動物モデルで示した。さらに，アレクチニブ耐性 ALK 肺がん患者の髄液中に高濃度の AREG が検出されたことより，AREG が臨床的に重要な LMC におけるアレクチニブの耐性因子かつ治療標的であることを示した。(J Thorac Oncol 2020)

3. RET 融合遺伝子陽性肺がんに対するアレクチニブの医師主導第 I/II 相試験

ALK 阻害薬として認可(300 mg 1日2回投与・600mg/日)されているアレクチニブが RET 阻害活性を併せ持っていることに着目し，RET 融合遺伝子陽性肺がん(RET 肺がん)を対象とした第 I/II 相医師主導試験を実施した。第 I 相(9 症例)では日本人 RET 肺がんにおいて最大耐用量が(450mg1日2回投与・900mg/日)であることを明らかにした。第 II 相では 25 症例に 450mg1日2回投与し，忍容性は良好であったが，奏効率 4%(1/25)，病勢制御率 52%(13/25)，無増悪生存期間中央値 3.4 か月であった。5 症例では 1 年以上の治療継続が可能で著明な臨床的効果が得られたが，目標奏効率 60%を満たさず，開発を中止した。(Transl Lung Cancer Res 2020)

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著

(研究室主体)

1. Takeuchi S, Yanagitani N, Seto T, Hattori Y, Ohashi K, Morise M, Matsumoto S, Yoh K, Goto K, Nishio M, Takahara S, Kawakami T, Imai Y, Yoshimura K, Tanimoto A, Nishiyama A, Murayama T, Yano S. Phase I/II study of alectinib in RET-rearranged previously-treated non-small cell lung cancer (ALL-RET). **Transl Lung Cancer Res** 2021, 10(1):314-25. doi: 10.21037/tlcr-20-549.
2. Nishiyama A, Sakaguchi H, Yanagimura N, Suzuki C, Otani S, Tanimoto A, Yamashita K, Takeuchi S, Otubo K, Yano S. Bronchoesophageal fistula formation after three courses of nivolumab for carcinoma of unknown primary with a subgroup of lung squamous cell carcinoma. **Oxford Medical Case Reports** 2020 Dec 28;2020(12):omaa116.
3. Nishiyama A, Staub Y, Suga Y, Fujita M, Tanimoto A, Ohtsubo K, Yano S. Sarcopenia may influence the prognosis in advanced thyroid cancer patients treated with molecular targeted therapy. **In Vivo** 2021;35(1):401-10. doi: 10.21873/invivo.12271.
4. Tanimoto A, Matsumoto S, Takeuchi S, Arai S, Fukuda K, Nishiyama A, Goto K, Yano S. Proteasome inhibition overcomes ALK-TKI resistance by p53 inactivation through Noxa expression in *ALK*-rearranged NSCLC. **Clin Cancer Res** 2020, 27(5):1410-20. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-2853. Epub 2020 Dec 11.
5. Ohtsubo K, Yamashita K, Yanagimura N, Suzuki C, Tanimoto A, Nishiyama A, Takeuchi S, Iwaki N, Kawano M, Izumozaki A, Inoue D, Gabata T, Ikeda H, Watanabe M, Yano S. Multiple malignant lymphomas of the bile duct developing after spontaneous regression of an autoimmune pancreatitis-like mass. **Int Med**, 2021 Feb 1;60(3):409-15. doi: 10.2169/internalmedicine.5429-20.
6. Wang R, Yamada T, Kita K, Taniguchi H, Arai S, Fukuda K, Terashima M, Ishimura A, Nishiyama A, Tanimoto A, Takeuchi S, Ohtsubo K, Yamashita K, Yamano T, Yoshimura A, Takayama K, Kaira K, Taniguchi Y, Atagi S, Uehara H, Hanayama R, Matsumoto I, Han X, Matsumoto K, Wang W, Suzuki T, Yano S. Transient IGF-1R inhibition combined with osimertinib eradicates AXL-low expressing EGFR mutated lung cancer. **Nat Commun** 2020 Sep 14;11(1):4607.
7. Arai S, Takeuchi S, Fukuda K, Tanimoto A, Nishiyama A, Konishi H, Takagi A, Takahashi H, Ong ST, Yano S. Resminostat, a histone deacetylase inhibitor, circumvents tolerance to EGFR inhibitors in EGFR-mutated lung cancer cells with BIM deletion polymorphism. **J Med Invest** 2020;67(3.4):343-50.
8. Nishiyama A, Takeuchi S, Adachi Y, Otani S, Tanimoto A, Sasaki M, Matsumoto S, Goto K, Yano S. MET amplification results in heterogenous responses to osimertinib in EGFR-mutant lung cancer previously treated with erlotinib, **Cancer Sci** 2020;111(10):3813-23.
9. Fukuda K, Takeuchi S, Arai S, Kita K, Tanimoto A, Nishiyama A, Yano S. Glycogen synthase kinase-3 inhibition overcomes epithelial-mesenchymal transition-associated resistance to osimertinib in EGFR-mutant lung cancer. **Cancer Sci** 2020;111:2374-84.

10. Adachi Y, Yanagimura N, Suzuki C, Otani S, Tanimoto A, Nishiyama A, Yamashita K, Ohtsubo K, Takeuchi S, Yano S. Reduced doses of dabrafenib and trametinib combination therapy for BRAF V600E-mutant non-small cell lung cancer prevent rhabdomyolysis and maintain tumor shrinkage: a case report. **BMC Cancer** 2020 Feb 24;20(1):156.
11. Arai S, Takeuchi S, Fukuda K, Taniguchi H, Nishiyama A, Tanimoto A, Satouchi M, Yamashita K, Ohtsubo K, Nanjo S, Kumagai T, Katayama R, Nishio M, Zheng MM, Wu YL, Nishihara H, Yamamoto T, Nakada M, Yano S. Osimertinib overcomes alectinib resistance caused by amphiregulin in a leptomeningeal carcinomatosis model of ALK-rearranged lung cancer. **J Thorac Oncol** 2020;15:752-65.
12. Takeuchi S, Hase T, Shimizu S, Ando M, Hata A, Murakami H, Kawakami T, Nagase K, Yoshimura K, Fujiwara T, Tanimoto A, Nishiyama A, Arai S, Fukuda K, Katakami N, Takahashi T, Hasegawa Y, Ko TK, Ong ST, Yano S. Phase I study of vorinostat with gefitinib in BIM deletion polymorphism/EGFR mutation double-positive lung cancer. **Cancer Sci** 2020;111:561-70.
13. Suzuki C, Kiyota N, Imamura Y, Rikitake J, Sai S, Koyama T, Hyogo Y, Nagatani Y, Funakoshi Y, Toyoda M, Otsuki N, Nibu KI, Minami H. Effect of tumor burden and growth rate on treatment outcomes of nivolumab in head and neck cancer. **Int J Clin Oncol** 2020 Jul;25(7):1270-7. doi: 10.1007/s10147-020-01669-y.

(共同研究)

1. Kanno A, Yasuda I, Irisawa A, Hara K, Ashida R, Iwashita T, Takenaka M, Katanuma A, Takikawa T, Kubota K, Kato H, Nakai Y, Ryozaawa S, Kitano M, Isayama H, Kamata H, Okabe Y, Hanada K, Ohtsubo K, Doi S, Hisai H, Shibukawa G, Imazu H, Masamune A. Adverse events of Endoscopic Ultrasound-Guided Fine-Needle Aspiration for Histologic Diagnosis in Japanese Tertiary Centers: A Multicenter Retrospective Study. **Dig Endosc** 2020 Dec 7. doi: 10.1111/den.13912. Online ahead of print.
2. Saifullah, Sakari M, Suzuki T, Yano S, Tsukahara T. Effective RNA knockdown using CRISPR-Cas13a and molecular targeting of the EML4-ALK transcript in H3122 lung cancer cells. **Int J Mol Sci** 2020 Nov 24;21(23):E8904.
3. Sakai K, Nishiuchi T, Tange S, Suzuki Y, Yano S, Terashima M, Suzuki T, Matsumoto K. Proteasomal degradation of polycomb-group protein CBX6 confers MMP-2 expression essential for mesothelioma invasion. **Sci Rep** 2020 Oct 7;10(1):16678.
4. Hirata E, Ishibashi K, Kohsaka S, Shinjo K, Kojima S, Kondo Y, Mano H, Yano S, Kiyokawa E, Sahai E. The brain microenvironment induces DNMT1 suppression and indolence of metastatic cancer cells. **iScience** 2020 Aug 20;23(9):101480.
5. Lim K, Kadera N, Wang H, Mohamed M, Hazawa M, Kobayashi A, Yoshida T, Hanayama R, Yano S, Ando T, Wong R. High-speed AFM reveals molecular dynamic of human influenza A hemagglutinin and its interaction with exosomes. **Nano Letters** Sep 9;20(9):6320-8.
6. Shimokawa M, Nosaki K, Seto T, Ohashi K, Morise M, Horinouchi H, Sakakibara J, Murakami H, Yano S, Satouchi M, Matsumoto S, Goto K, Yoh K. Phase II, open-label, multicenter trial of crizotinib in Japanese patients with advanced non-small cell lung cancer

harboring a MET gene alteration: Co-MET study. **Trials** 2020 Mar 30;21(1):298.

7. Okura N, Nishioka N, Yamada T, Taniguchi H, Tanimura K, Katayama Y, Yoshimura A, Watanabe S, Kikuchi T, Shiotsu S, Kitazaki T, Nishiyama A, Iwasaku M, Kaneko Y, Uchino J, Uehara H, Horinaka M, Sakai T, Tanaka K, Kozaki R, Yano S, Takayama K. ONO-7475, a novel AXL inhibitor, suppresses the adaptive resistance to initial EGFR-TKI treatment in *EGFR*-mutated non-small lung cancer. **Clin Cancer Res** 2020;26:2244-56.
8. Nakamura Y, Taniguchi H, Ikeda M, Bando H, Kato K, Morizane C, Esaki T, Komatsu Y, Kawamoto Y, Takahashi N, Ueno M, Kagawa Y, Nishina T, Kato T, Yamamoto Y, Furuse J, Denda T, Kawakami H, Oki E, Nakajima T, Nishida N, Yamaguchi K, Yasui H, Goto M, Matsuhashi N, Ohtsubo K, Yamazaki K, Tsuji A, Okamoto W, Tsuchihara K, Yamanaka T, Miki I, Sakamoto Y, Ichiki H, Hata M, Yamashita R, Ohtsu A, Odegaard JI, Yoshino T. Clinical utility of circulating tumor DNA sequencing in advanced gastrointestinal cancer: SCRUM-Japan GI-SCREEN and GOZILA studies. **Nat Med** 2020; <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1063-5>.
9. Han X, Sato M. DWnt4 and DWnt10 globally regulate the morphogenesis and arrangement of the columnar structures through Fz2/PCP signaling in the fly medulla. **Cell Reports** 2020, 33(4):108305.
10. Liu C, Trush O, Han X, Wang M, Takayama R, Yasugi T, Hayashi T, Sato M. Dscam1 establishes the columnar units through lineage-dependent repulsion between sister neurons in the fly brain. **Nature Commun** 2020, 11(1):4067.

著書・総説

1. 矢野聖二. 第5章 耐性メカニズムとその克服方法. チロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) 耐性の分子機構アップデート **実験医学** 38(15):150-6, 2020
2. 矢野聖二. 肺がんの中樞神経系転移と分子標的薬耐性. **分子呼吸器病** 24(3):6-8, 2020
3. 大坪公士郎, 矢野聖二. I 総論 4 がん診断 2 がんにかかわる主要症候 (がんの症候学) **入門腫瘍内科学** 日本臨床腫瘍学会 編集 南江堂 53-5, 2020
4. 大坪公士郎. 中沼安二, 古川 徹, 福村由紀. IV 章 診断アプローチ 2 超音波内視鏡下穿刺吸引法 (EUS-FNA). **膵臓を診る医師のための膵臓病理テキスト** 南江堂 239-43, 2020
5. 竹内伸司. Driver 遺伝子に対し期待される新規薬剤. 5) RET 阻害薬 **腫瘍内科** 25(5):503-8, 2020
6. 西山明宏. 中樞神経病変での TRK 阻害薬耐性. **Medical Science Digest** 7月臨時増刊号 526-9, 2020

7. 西山明宏, 矢野聖二. Driver 遺伝子に対し期待される新規薬剤. 1) 臓器横断的
ドライバ-遺伝子変異・NTRK 融合遺伝子と NTRK 阻害薬 **腫瘍内科** 25(5): 478-
82, 2020
8. 谷本 梓, 矢野聖二. ROS1/RET/BRAF 遺伝子変異肺癌の治療. **呼吸器ジャー
ナル** 特集 進行期肺癌治療への道～がんゲノム医療と免疫プレシジョン医療の接
点～ 68(3): 390-400, 2020
9. 谷本 梓. がん薬物療法専門医のための模擬テスト 122. **腫瘍内科** 25(5): 602,
2020

<学会発表>

1. 第 117 回日本内科学会講演会 谷本 梓, 松本慎吾, 後藤功一, 矢野聖二.
ALK 融合遺伝子陽性肺癌における p53 の機能低下に起因する ALK 阻害薬耐性の
克服治療の開発. 2020 年 8 月 東京
2. 医学生・研修医の日本内科学会ことはじめ 2020 佐藤成樹, 谷本 梓, 吉田好
雄, 林 龍二, 小泉知展, 中沢洋三, 伊藤研一, 浦本秀隆, 西野善一, 矢野
聖二. 北信地域における障がい者のがん医療の実態を明らかにするための後方
視的検討. 2020 年 8 月 東京
3. 第 29 回日本がん転移学会学術集会・総会 新井祥子, 竹内伸司, 福田康二, 西
山明宏, 谷本 梓, 谷口寛和, 片山量平, 山本卓志, 矢野聖二. EML4-ALK 肺
癌の髄膜癌腫症モデルにおける amphiregulin に起因するアレクチニブ耐性の克服.
2020 年 7 月 紙上発表
4. 第 24 回日本がん分子標的治療学会学術集会 柳村尚寛, 竹内伸司, 福田康二,
新井祥子, 谷本 梓, 西山明宏, 矢野聖二. ALK 融合遺伝子陽性肺癌におけ
る STAT3 阻害薬の併用によるアポトーシス抵抗性の克服. 2020 年 10 月 徳島
5. 第 79 回日本癌学会学術総会（臓器別シンポジウム） Yano S. Circumvention of
targeted drug tolerance of lung cancer. 2020 年 10 月 広島.
6. 第 36 回日本癌学会市民公開講座 矢野聖二. 研究が切り拓く がん治療の最前
線. 2020 年 10 月 広島.
7. 第 79 回日本癌学会学術総会 Nishiyama A, Arai S, Fukuda K, Sato S, Yanagimura N,

Takeuchi S, Suzuki C, Tanimoto A, Yamashita K, Takeuchi S, Ohtsubo K, Yano S.
Mechanisms of targeted drug resistance in central nervous system (CNS) 2020年10月
広島

8. 第79回日本癌学会学術総会 Fukuda K, Otani S, Takeuchi S, Nanjo S, Tanimoto A, Nishiyama A, Yano S. MEK inhibitor overcomes resistance to osimertinib caused by KRAS mutation in a LMC model of EGFR-mutant lung cancer. 2020年10月 広島
9. 第61回日本肺癌学会学術集会 竹内伸司. 開発中の分子標的薬のバイオマーカー. 2020年11月 岡山

<学会発表・国際>

1. Sixth AACR-IASCL International Joint Conference: Lung Cancer Translational Science from the Bench to the Clinic. Yano S. Mechanism of alectinib resistance in a leptomeningeal carcinomatosis of EML4-ALK lung cancer and its circumvention by EGFR-TKIs. 2020年1月 San Diego, CA, USA.

<外部資金>

1. 日本医療研究開発機構 革新的がん医療実用化研究事業
矢野聖二 研究代表者
RET肺がんに対するアレクチニブの医師主導治験と耐性機構解析 1,060千円
2. 日本医療研究開発機構 次世代がん医療創生研究事業
矢野聖二 研究代表者
MAPKシグナル抑制が誘導するフィードバック機構の不均一性解明と制御に基づくKRAS/BRAF変異腫瘍に対する新規治療開発 23,076千円
3. 日本医療研究開発機構 革新的がん医療実用化研究事業
矢野聖二 研究分担者
遺伝子スクリーニング基盤 (LC-SCRUM-Japan) を利用した、MET遺伝子異常陽性の進行非小細胞肺癌に対する治療開発を目指した研究 100千円
4. 基盤研究 (B) 日本学術振興会
矢野聖二 研究代表者
分子標的薬で肺がんの根治を目指す治療の非臨床研究基盤の形成 3,600千円

5. 厚生労働科学研究費補助金 がん政策推進総合研究事業
矢野聖二 研究分担者
3学会合同「がんゲノムネット」を用いた、国民への「がんゲノム医療」に関する教育と正しい情報伝達に関する研究 300千円
6. 日本医療研究開発機構 革新的がん医療実用化研究事業
竹内伸司 研究分担者
RET肺がんに対するアレクチニブの医師主導治験と耐性機構解析 200千円
7. 基盤研究 (C) 日本学術振興会
竹内伸司 研究代表者
ALK肺がんのアポトーシス抵抗性因子を標的とした新規治療の開発 1,000千円
8. 若手研究 日本学術振興会
西山明宏 研究代表者
BRAF V600E陽性甲状腺未分化がんの分子標的薬耐性と耐性を克服する基礎研究 2,300千円
9. 若手研究 日本学術振興会
谷本 梓 研究代表者
治療抵抗性小細胞肺がんにおけるケモカインネットワークを標的とした新規治療の開発 2,300千円
10. 若手研究 日本学術振興会
新井祥子 研究代表者
ALK肺癌の髄膜癌腫症におけるALK-TKI耐性克服治療の開発 1,600千円
11. 金沢大学附属病院 臨床研究助成金
矢野聖二
肺がんの分子標的薬による根治を目指す FOXA1 を標的とした阻害薬の開発 2,000 千円
12. 中外製薬研究活動助成金
矢野聖二

NTRK 融合遺伝子陽性がん細胞における TRK 阻害薬耐性を克服する研究 800 千円

13. 大鵬薬品工業株式会社研究助成金

矢野聖二

がんの分子標的薬抵抗性を克服する研究 500 千円

14. 上原記念生命科学財団 海外留学助成金リサーチフェローシップ

谷本 梓

ケモカインに着目した小細胞肺癌の新規治療標的の同定 2,000 千円

15. 北国がん基金助成金

谷本 梓

MD Anderson Cancer Center における再発小細胞肺がんに対する新規治療法の開発 300 千円

16. 三谷研究開発支援財団助成金

福田康二

肺癌の EMT に起因する分子標的治療薬剤耐性克服に関する研究 2,000 千円

<その他>

1. 教育プログラムの運営

1) 文部科学省 平成 29 年度大学教育再生戦略推進費：多様なニーズに対応する「がん専門医療人材（がんプロフェッショナル）」養成プラン「超少子高齢化地域での先進的がん医療人養成」（北信がんプロ）を事業責任者として推進

2) 石川県がん診療連携協議会研修会開催（9 月 3 日，11 月 19 日，12 月 3 日）

2. がんゲノム医療の提供

金沢大学附属病院がんゲノム医療センターで，保険診療による遺伝子パネル検査を実施（50 件）

3. 先進的医療の提供

医師主導治験「RET 融合遺伝子を有する進行非小細胞肺がんにおける RET チロシンキナーゼ阻害薬耐性の分子機構を明らかにする研究（ALL-RET：UMIN000020628）」の完遂

4. **外来化学療法**の提供
金沢大学附属病院で外来化学療法センターを運営
5. **金沢大学ナノ生命科学研究所**
生命科学領域の研究室として参画
6. **金沢大学卓越大学院**
ナノ先制医学コース教員として参画

中央実験施設

Central Research Resource Branch 中央実験施設

Professor Kunio Matsumoto 松本 邦夫
Associate Professor Yoshio Endo 遠藤 良夫, Kouji Kuno 久野 耕嗣

【 Abstract 】

An iron metabolism-targeting drug with antitumor activity enhances the effect of 5-ALA-based photodynamic therapy (Endo Y)

A precursor of protoporphyrin IX (PpIX), 5-aminolevulinic acid (ALA), is widely used for PpIX-dependent photodynamic diagnosis (PDD) and photodynamic therapy (PDT) in the treatment of various cancers. Previously, we reported high expression of iron metabolism-related genes in cells established from human gastric cancer cell line MKN-45 that had acquired resistance to ALA-PDT. Furthermore, we have demonstrated the enhancing activity of deferoxamine mesylate (DFX), an iron chelator, on ALA-PDT in cells with the ALA-PDT resistance. DFX could effectively increase intracellular PpIX accumulation and overcome the acquired resistance in the ALA-PDT-resistant cells. Recently, we found that the continuous exposure to DFX results in direct anti-proliferative activity in the ALA-PDT-resistant cells and the parental MKN-45 cells. The sensitivity of the ALA-PDT-resistant cells to DFX was clearly higher than that of parental MKN-45 cells. Interestingly, DFX also inhibited the growth of various human cancer cells. These findings indicate that iron metabolism-related molecules are important targets for enhancing the therapeutic effect of ALA-PDT in cancer cells and that DFX may be a potent enhancer of ALA-PDT.

Analysis of the functional roles of ADAMTS-1 in female genital organs (Kuno)

ADAMTS-1 is an extracellular matrix (ECM)-anchored metalloproteinase that degrades ECM molecules such as proteoglycans and regulates ECM remodeling. Our Previous studies showed that ADAMTS-1 is involved in the ovulatory process and in the ovarian follicular development. Recently, we found that ADAMTS-1 null mice on a BALB/c background exhibited impaired parturition. In this study, ADAMTS-1 null mice showed normal progesterone withdrawal but displayed significantly reduced expression of uterine genes encoding for contraction-associated proteins (CAPs), suggesting that ADAMTS-1 is required for uterine activation process prior to parturition. Reduced expression of the CAP genes may lead to decreased contractile responses to uterotonins as well as decreased spontaneous contractile activity, both of which were measured by means of uterine strips prepared from ADAMTS-1 null mice. These results demonstrate that parturition failure in ADAMTS-1 null

mice was due to their impaired uterine contractile ability. In addition, we found that the morphology of the decidual tissue in ADAMTS-1 null mice sometimes differed from that observed in the control mice. We are currently investigating the role of ADAMTS-1 in the organization and activation of myometrial and decidual tissues during the prepartum period.

<2020年の研究成果, 進捗状況及び今後の計画>

鉄代謝を標的とする 5-アミノレブリン酸を用いるがん光線力学的療法の効果増強とその抗腫瘍作用に関する研究 (遠藤)

これまでの研究で我々は、プロトポルフィリン (PpIX) の前駆物質である 5-アミノレブリン酸 (ALA) を用いる光線力学的治療 (PDT) に対して耐性を獲得したヒト胃癌 MKN-45 細胞では鉄代謝系を促進するとともに、PpIX からヘムを生成し、それを分解する経路が活性化していること、鉄のキレーターで PpIX からプロトヘムの合成を阻害するデフェロキサミンは、MKN-45 の ALA-PDT 獲得耐性細胞に対して耐性克服効果を示すことを報告してきた。今年度の研究では、デフェロキサミンが ALA-PDT 獲得耐性細胞に対して直接的な増殖抑制活性を示し、耐性細胞の感受性は親株よりも高いこと見出した。さらに、デフェロキサミンは ALA-PDT に低感受性の様々な腫瘍細胞に対しても直接的な増殖抑制活性を示し、このデフェロキサミンの増殖抑制活性は鉄の添加により抑制された。以上の結果から、鉄代謝系は ALA-PDT 効果増強のための有用な分子標的となることが示唆された。さらに、本年度、我々は膜輸送系を標的とする ALA-PDT 効果増強剤として有望な新規化合物を見出した。今後、この化合物をリードとした誘導体展開を実施する予定である。

ADAMTS-1 の雌生殖機能における役割の解析 (久野)

ADAMTS-1^{-/-}マウス (129/B6 遺伝子背景) は、排卵、卵胞生育過程に異常を示す。一方 BALB/c 遺伝子背景の ADAMTS-1^{-/-}マウスは分娩異常を示す。ADAMTS-1^{-/-}マウスでは、分娩開始のシグナルである Progesterone の低下は正常に起こるが、Oxytocin receptor, Connexin43 などの収縮調節タンパク (CAP) 遺伝子群の発現誘導が起こらないことから、ADAMTS1 は分娩前に CAP 遺伝子群の発現が誘導される過程に必要であることが示唆された。これら CAP 遺伝子群の発現低下は、同マウスの子宮条片を用いた収縮実験で観察される、Oxytocin、プロスタグランジンへの収縮応答性の低下や自発収縮力の低下に繋がっていると考えられる。結果的に、これらの子宮収縮機能の低下が、ADAMTS-1^{-/-}マウスの分娩異常の原因であると推定している。また組織学的な解析から、分娩前の ADAMTS-1^{-/-}マウスの子宮脱落膜組織は、しばしばコントロールマウスとは異なる形態を示すことも見出ししている。現在、ADAMTS-1^{-/-}マウスを用いて、ADAMTS-1 の子宮平滑筋、脱落膜組織の組織構築における役割や、分娩時の子宮活性化における役割、また子宮頸管熟化過程における役割について詳しい解析を行っている。また ADAMTS-1 によるがん微小環境の制御について解析を行う。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著（共同研究）

1. Bolidong D, Domoto T, Uehara M, Sabit H, Okumura T, Endo Y, Nakada M, Ninomiya I, Miyashita T, Wong RW, Minamoto T: Potential therapeutic effect of targeting glycogen synthase kinase 3 β in esophageal squamous cell carcinoma. *Sci Rep*. 2020 Jul 16;10(1):11807. doi: 10.1038/s41598-020-68713-9
2. Yamahana H, Takino T, Endo Y, Yamada H, Suzuki T, Uto Y: A novel celecoxib analog UTX-121 inhibits HT1080 cell invasion by modulating membrane-type 1 matrix metalloproteinase. *Biochem Biophys Res Commun*. 2020 Jan 1;521(1):137-144. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.10.092.

著書・総説

1. Kuno K: Chapter: ADAMTS-1. *In Handbook of Proteolytic Enzymes. 4th Edition, Volume 1, Metallopeptidases, ed. Neil D Rawlings, Elsevier, in press.*

< 学会発表 >

1. 遠藤良夫, 宇都 義浩, 篠原 侑成, 安部 千秋, 小幡 徹, 小倉 俊一郎, 米村 豊: アミノレブリン酸を用いるがん光線力学的療法に対する新規シッフ塩基誘導体の感受性増強作用 日本薬学会第 140 年会 2020 年 3 月 25 日-28 日 (国立京都国際会館) (中止)
2. 篠原侑成, 遠藤良夫, 安部千秋, 小幡徹, 小倉俊一郎, 米村豊, 宇都義浩: 5-ALA を用いた光線力学療法における新規シッフ塩基併用による増強作用 日本農芸化学会 2020 年度中四国支部大会(第 57 回講演会) 2020 年 9 月 17 日(木)~9 月 18 日(金) (WEB 開催)
3. Yoshio Endo, Yoshihiro Uto, Yusei Shinohara, Chiaki Abe, Tohru Obata, Yutaka Yonemura, Shun-ichiro Ogura: An iron metabolism-targeting drug with antitumor activity enhances the effect of 5-ALA-based photodynamic therapy. 鉄代謝を標的とする 5-アミノレブリン酸を用いるがん光線力学的療法の効果増強とその抗腫瘍作用に関する研究 第 79 回日本癌学会学術総会 2020 年 10 月 1 日 (木) ~3 日 (土) (リーガロイヤルホテル広島、メルパルク広島、広島県立総合体育館) (WEB 開催)

4. Hirari Yamahana, Takahisa Takino, Yoshio Endo, Takeshi Suzuki, Yoshihiro Uto: Development of a Novel Celecoxib Derivative UTX-121 as an Antimetastatic Agent. Celecoxib をリードとした MMPs 阻害能を有する抗転移剤 UTX-121 の創製 第 79 回日本癌学会学術総会 2020 年 10 月 1 日 (木) ~3 日 (土) (リーガロイヤルホテル広島、メルパルク広島、広島県立総合体育館) (WEB 開催)
5. Yusei Shinohara, Itasu Ninomiya, Yoshio Endo, Takahisa Takino, Yoshihiro Uto: Development of a Novel Amiloride Derivatives as a Na⁺/H⁺ Exchanger 5 Selective Inhibitor. Na⁺/H⁺交換輸送体 5 選択的阻害剤としての新規アミロライド誘導体の創製 第 79 回日本癌学会学術総会 2020 年 10 月 1 日 (木) ~3 日 (土) (リーガロイヤルホテル広島、メルパルク広島、広島県立総合体育館) (WEB 開催)
6. 遠藤良夫 : 鶏卵モデル確立の変遷 患者由来がんモデル講演会 2020 年 10 月 29 日 (木) ~30 日 (金) (国立がんセンター) (WEB 開催)

<外部資金>

科学研究費補助金 基盤研究 (C) 分担 : 遠藤 良夫 (直接経費 : 100 千円)
消化器癌における Na⁺/H⁺交換輸送体 5 の機能解析と特異的阻害薬の開発

新學術創成研究機構 PI・若手 PI

Inflammation and Epithelial Plasticity

上皮可塑性・炎症ユニット

Associate Professor Dominic Chih-Cheng VOON
Graduate Student Zachary YONG (D4) (Co-supervisor: Prof. Masanobu Oshima)
Linxiang GONG (M2) (Co-supervisor: Prof. Chiaki Takahashi)

【 Abstract 】

The link between inflammation and cancer has long been established. A proinflammatory tumor microenvironment is generally regarded as one that promotes carcinogenesis, tumor growth and the suppression of tumor immunity. Although great advances have been made in terms of the cellular composition and immune interaction within a tumor niche, how cell-intrinsic mutations within the epithelium drive this process, through the aberrant secretion of growth factors and cytokines, is under appreciated. We are interested in two specific aspects of this interaction: 1) the role of epithelial-derived IL23A (eIL23A) in modulating immunity during gastrointestinal infection and carcinogenesis; and 2) the increased epithelial plasticity during gastrointestinal inflammation and repair.

< 2020 research achievement and future plan >

During this year, we successfully published our findings on the co-regulation of epithelial cell-derived IL23A by mitogenic and inflammatory signals in intestinal epithelial cells. We made two key observations: Firstly, there is a strong cooperativity between MAPK and canonical NF- κ B pathways in inducing *IL23A*. This stems from the cooperative assembly of a transcription enhancer complex by AP-1/c-Jun and RelA/p65 on the *IL23A* proximal promoter. As AP-1/c-Jun and RelA/p65 are the downstream effectors of MAPK and NF- κ B pathways, respectively, their synergy meant that the inhibition of one pathway would effectively block the other. In our study, we effectively demonstrated this through the use of the MEK inhibitor trametinib and the BAY-11-7082, an IKK α /I κ B inhibitor. Secondly, we showed for the first time the secretion of endogenous IL23A by activated epithelial cells and provided empirical evidence that this was achieved remarkably without IL23A's canonical partner, IL12B.

Our focus now shifts to the detailed characterization of this novel form of IL23A. To this end, we have raised new monoclonal antibodies that would specifically recognize epithelial-derived IL23A/eIL23A. The utility of these new tools in clinicopathological applications will now be assessed. In addition, in depth analyses of eIL23A is underway where we study the collaboration between eIL23A and canonical IL-23 in the induction of Th17-type

response in primary mouse immune cells. Lastly, we observed in a isogenic transplantation model that IL-23/IL23A exerts a pro-tumor immunity effect in immune competent mice. We are deepening this study to evaluate a potential role for eIL23A to influence the tumor immune microenvironment, which may have therapeutic implications in view of recent reports and our earlier findings that trametinib could attenuate the production of eIL23A.

【 Achievements 】

< Publications (Primary) >

1. Lim KS, Yong ZWE, Wang H, Tan TZ, Huang RY, Yamamoto D, Inaki N, Hazawa M, Wong RW, Oshima H, Oshima M, Ito Y*, **Voon DC*** (2020) *Inflammatory and mitogenic signals drive interleukin 23 subunit alpha (IL23A) secretion independent of IL12B in intestinal epithelial cells*. J Biol Chem. **295**(19):6387-6400. *Joint Corresponding Author.

< Publications (Collaboration) >

2. Hazawa M*, Sakai K, Kobayashi A, Yoshino H, Iga Y, Iwashima Y, Lim KS, **Voon DC**, Jiang YY, Horike SI, Lin DC, Wong RW* *Disease-specific alteration of karyopherin- α subtype establishes feed-forward oncogenic signaling in head and neck squamous cell carcinoma*. Oncogene. **39**(10):2212-222. *Joint Corresponding Author.

< Symposiums (Oral Presentations) >

1. **Voon DC**. *Understanding how IL23A expression is controlled by inflammation and growth signals in epithelial cells*. 5th InFiniti Symposium. 18th Feb 2020. Kanazawa, Japan.
2. Yong ZWE, Lim KS, Wang H, Tan TZ, Huang RY, Yamamoto D, Inaki N, Hazawa M, Wong RW, Oshima H, Oshima M, Ito Y, **Voon DC**. *Inflammatory and mitogenic signals drive IL23A secretion independent of IL12B in intestinal epithelial cells* 79th Annual Meeting of Japanese Cancer Association. 1st-3rd Oct 2020. Hiroshima, Japan.

Cancer-Immune System Interactions

がん-免疫系相互作用ユニット

Associate Professor (11月1日～) Kohsuke Tsuchiya 土屋 晃介

【 Abstract 】

Pyroptosis is a pro-inflammatory form of regulated necrosis caused due to the formation of plasma membrane pores by gasdermin (GSDM) family proteins. Although GSDMs are expressed as inactive forms, they are proteolytically activated by certain proteases, leading to pyroptosis. Caspase-1, an inflammatory caspase, is known to induce pyroptosis by cleaving GSDMD. Recently, we have demonstrated that caspase-1 also serves as an apoptosis-initiating caspase in the absence of GSDMD and that Bid plays a critical role in caspase-1-induced apoptosis. However, an additional mechanism that mediates this cell death independently of Bid has also been suggested. Our study suggests that caspase-7, a substrate of caspase-1, mediates apoptosis induced by caspase-1 in a Bid-independent manner. Caspase-1 also processes pro-IL-1 β into the biologically active cytokine IL-1 β , which is in turn released from macrophages via GSDMD pores. We demonstrated that IL-1 β was released from living macrophages independently of GSDMD during stimulation with mycoplasmal lipoproteins/lipopeptides, suggesting a novel mechanism for IL-1 β release. It has been suggested that caspase-1 activation leads to IL-1 α maturation. However, pro-IL-1 α is not a substrate for caspase-1, and the mechanism of caspase-1-induced IL-1 α maturation remains unclear. We found that GSDMD processed by caspase-1 forms membrane pores that mediate Ca²⁺ influx, resulting in calpain-dependent maturation of IL-1 α .

<2020年の研究成果, 進捗状況及び今後の計画>

カスパーゼ-1 誘導性アポトーシスの第二経路を担うシグナル伝達分子としてカスパーゼ-7を同定した。また、北大・口腔分子生物学教室との共同研究で、マイコプラズマ由来リポペプチドが GSDMD 非依存的に IL-1 β の放出を誘導することを報告した。さらに、GSDMD 依存的なカルパイン活性化がインフラマソームの下流で誘導される IL-1 α の成熟化に重要な役割を果たすことを明らかにした (投稿中)。今後、これまで行ってきたカスパーゼ誘導性細胞死の研究をさらに発展させるために、パイロトーシスを誘導するプロテアーゼを多様な病的状況から同定し、病態形成におけるその役割を検討する。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著（研究室主体）

Mahib M.R., Hosojima S., Kushiyama H., Kinoshita T., Shiroishi T., Suda T.*, Tsuchiya K.*. Caspase-7 mediates caspase-1-induced apoptosis independently of Bid. *Microbiology and Immunology*. **64**(2):143-152. (2020).

原著（共同研究）

Saeki A., Tsuchiya K., Suda T., Into T., Hasebe A., Suzuki T., Shibata K.I. Gasdermin D-independent release of interleukin-1 β by living macrophages in response to mycoplasmal lipoproteins and lipopeptides. *Immunology*. **161**:114-122. (2020)

総説（研究室主体）

Tsuchiya K.*. Inflammasome-associated Cell Death: Pyroptosis, Apoptosis, and Physiological Implications. *Microbiology and Immunology*. **64**:252-269 (2020)

< 学会発表 >

1. Kohsuke Tsuchiya, Takashi Suda. Gasdermin D mediates the release and maturation of IL-1 α during inflammasome formation. 第93回日本細菌学会総会 2月20日 名古屋市

< 外部資金 >

1. 土屋晃介: 科研費 基盤研究 (C) 「細菌感染治療の分子基盤を自然免疫機構と化学療法との協調的相互作用から理解する試み」(代表) (2018~2020年) (R2年度) 直接経費 900千円
2. 土屋晃介: 科研費 基盤研究 (B) 「パイロトーシス細胞が放出するリステリア増殖抑制因子の解析」(分担) (2020~2022年) (R2年度) 直接経費 370千円
3. 土屋晃介: 北国がん基金 「炎症性がん微小環境の形成におけるカスパーゼ1依存の細胞死の役割の解明」(代表) (2020年) 500千円

Microenvironment Regulation in Cancer Stem Cells Unit

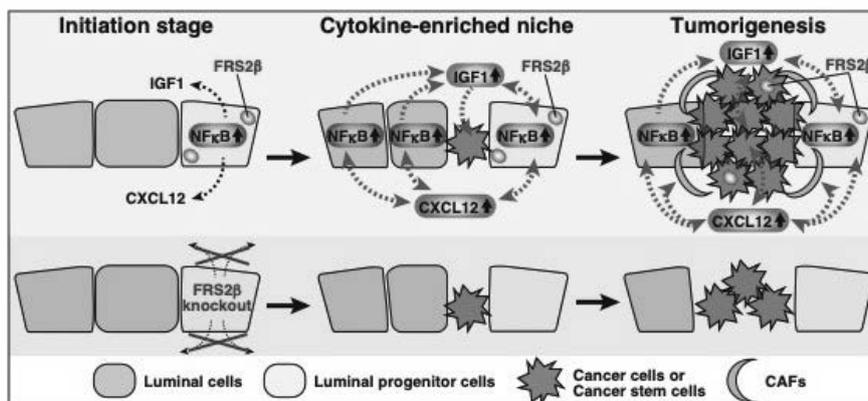
がん幹細胞環境制御ユニット

Assistant Professor Yasuto Takeuchi 竹内 康人

【 Abstract 】

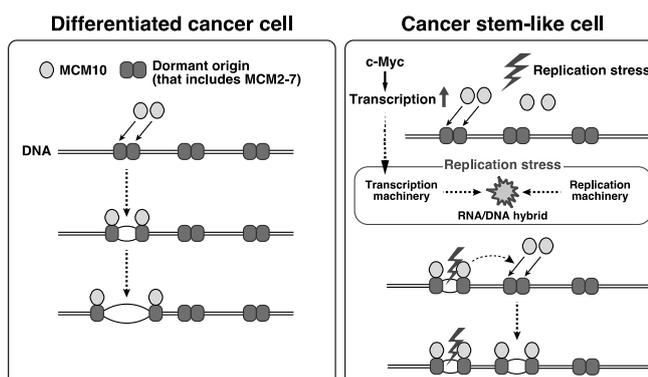
Accumulating evidence indicates the presence of cancer stem-like cells (CSCs) in many types of tumors. They are defined as cell populations which have self-renewal ability and multi-differentiation capacity, and have been thought to contribute to tumor initiation and recurrence. Stem-cell properties are thought to be maintained in the CSC niche that is the tumor microenvironment surrounding CSCs. Therefore, our final goal is to identify key factors regulating the interaction between cancer stem-like cells (CSCs) and their niche.

We demonstrated that FRS2 β was expressed in a small subset of luminal progenitor cells and induced the production of cytokines, including IGF1 and CXCL12, through activation of the NF κ B pathway. IGF1 and CXCL12 amplify NF κ B activation in surrounding mammary cells, leading to the establishment of a cytokine-rich microenvironment. This microenvironment supports the growth of cancer cells and facilitates the migration of stroma cells and immune cells to develop more favorable condition for breast cancer.



< 2020 年の研究成果, 進捗状況及び今後の計画 >

2020 年は、乳がん幹細胞の薬剤耐性メカニズムに関する研究で以下の成果を上げた。乳がん幹細胞では、DNA 複製ストレスが強くかかっていることが知られていたが、DNA 複製ストレスがかかったまま、どのように薬剤耐性を獲得しているのか、そのメカニズムは不明であった。一般的に細胞に DNA 複製ストレスが強くかかると、DNA 複製が停止してしまうが、乳がん幹細胞では、MCM10 と呼ばれるタンパク質が、新たな複製起点を活性化し、DNA 複製を進めていることを明らかにした。本研究によって、DNA 複製ストレス下における MCM10 の機能は、がん幹細胞の薬剤耐性にも関与しており、がん幹細胞に対する新たな治療標的を発見した。



今後は、がん幹細胞と、その周囲に存在するがん組織を形成する周囲細胞との相互作用に着目した研究を進めていく。がん幹細胞が周囲細胞によってどのように制御されているのか、そのメカニズムを明らかにしたい。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

1. **Y. Takeuchi**[†], N. Kimura[†], T. Murayama[†], Y. Machida, D. Iejima, T. Nishimura, R. Sakamoto, M. Yamamoto, N. Itano, Y. Inoue, M. Ito, N. Yoshida, J. Inoue, K. Akashi, H. Saya, K. Fujita, M. Kuroda, I. Kitabayashi, A. Tojo, N. Gotoh. The membrane-linked adaptor FRS2b fashions a cytokine-rich inflammatory microenvironment that promotes breast cancer carcinogenesis. [†]Equally contribution. *Proc Natl Acad Sci, USA.*, under revision.
2. T. Murayama[†], **Y. Takeuchi**[†], K. Yamawaki, T. Natsume, R. Chaverra, T. Nishimura, Y. Kogure, A. Nakata, K. Tominaga, A. Sasahara, M. Yano, S. Ishikawa, T. Ohta, K. Ikeda, K. Horie-Inoue, S. Inoue, M. Seki, Y. Suzuki, S. Sugano, T. Enomoto, M. Tanabe, K. Tada, M. Kanemaki, K. Okamoto, A. Tojo, N. Gotoh. MCM10 compensates for Myc-induced DNA replication stress in breast cancer stem-like cells. [†]Equally contribution. *Cancer Science*. 2021. Mar;112(3):1209-1224.
3. **Y. Takeuchi**, R. Narumi, R. Akiyama, V. Elisa, T. Shirai, N. Tanimura, K. Kuromiya, S. Ishikawa, M. Kajita, M. Tada, Y. Haraoka, Y. Akieda, T. Ishitani, Y. Fujioka, Y. Ohba, S. Yamada, Y. Hosokawa, Y. Toyama, T. Matsui, Y. Fujita*. Calcium wave promotes cell extrusion. *Current Biology*. 2020. Feb 24;30(4):670-681.

< 学会発表 >

1. **竹内康人**、村山貴彦、西村建徳、矢野正雄、笹原麻子、田辺真彦、石川聡子、太田哲生、多田敬一郎、池田和博、井上聡、堀江公仁子、岡本康司、東條有伸、後藤典子：がん関連線維芽細胞由来の液性因子は乳がん幹細胞様細胞の維持に寄与する。2020 患者由来がんモデル講演会、オンライン、2020.10.29-30.
2. **竹内康人**、村山貴彦、西村建徳、矢野正雄、笹原麻子、田辺真彦、石川聡子、太田哲生、多田敬一郎、池田和博、井上聡、堀江公仁子、岡本康司、東條有伸、後藤典子：がん関連線維芽細胞由来の液性因子は乳がん幹細胞様細胞の維持に寄与する。第24回日本がん分子標的治療学会、オンライン、2020.10.6-8.
3. **竹内康人**、村山貴彦、西村建徳、矢野正雄、笹原麻子、田辺真彦、石川聡子、太田哲生、多田敬一郎、池田和博、井上聡、堀江公仁子、岡本康司、東條有伸、後藤典子：がん関連線維芽細胞由来の液性因子は乳がん幹細胞様細胞の維持に寄与する。第79回日本癌学会学術総会、オンライン、2020.10.1-3.
4. **竹内康人**、後藤典子：細胞質アダプタータンパク FRS2 β は、乳がん形成を促進する炎症性サイトカインリッチ環境を形成する。2020 若手支援技術講習会、オンライン、2020.9.11.

< 外部資金 >

1. 令和2年度 新学術創生研究機構 異分野融合研究推進費 代表
「がん幹細胞の分裂様式決定メカニズムの解明」(1,600,000円)
2. 令和2年度 戦略的研究推進プログラム 先魁プロジェクト2020 分担
「イオン性材料で革新するライフサイエンス」(500,000円)

Mitochondrial Dynamics in Stem Cells

ミトコンドリア動態ユニット

Assistant Professor

Atsuko KASAHARA 笠原敦子

【Abstract】

Mitochondria play pleiotropic roles in glucose-amino acids-lipid metabolic pathways, calcium and redox homeostasis, and apoptosis. These diverse mitochondrial functions are reflected by their extremely dynamic morphology, and distribution in the cells. Mitochondrial quality, distribution, size, and motility are excellently tuned by their continuous fusion and fission.

Mitochondrial fusion factor and anti-apoptotic protein OPA1 was up-regulated in gefitinib-resistant lung adenocarcinoma cell line, and down-regulation of OPA1 in these resistant cells restored the gefitinib sensitivity. Likewise, the OPA1 specific inhibitor, developed in the laboratory of Prof. Scorrano (University of Padua) also restored the gefitinib sensitivity in these resistant cells. This effect was mediated by the reduction of OPA1 inhibition of cytochrome c release. We will validate the effect of this drug on xenograft.

ER-mitochondria contacts are important for proper calcium uptake from the ER to the mitochondria, and phospholipids synthesised in both organelles are shuttling at the contacts. ER-mitochondria contacts are less in glioma stem-like cells, while the contacts are more in differentiated glioma cells. Likewise, undifferentiated embryonic stem cells (ESCs) displayed distant two organelles with fewer contacts, while differentiated cardiomyocytes (CM) showed close organelles with more contacts, with up-regulation of MFN2, which is a known tether protein. Since two organelles are closer upon CM differentiation, I hypothesised more phosphatidylserine (PS) goes to mitochondria from the ER, and is converted to phosphatidylethanolamine (PE). PS-PE conversion was low in CM compared to ESCs, and PC was detected instead using ^{14}C serine label trace experiment in a collaboration with Dr Miyata at Kyushu University. Since PE-PC conversion requires methyl group addition, SAM/SAH ratio was measured by Dr Arakawa, Faculty of Pharmacy Institute of Medical, and the ratio was reduced upon CM differentiation. We will perform these experiments using Phosphatidylethanolamine N-methyltransferase (PEMT) knockdown ESCs. Moreover, we will use the ER-mitochondria synthetic linker construct in order to understand whether the physical contacts without specific protein could influence the stemness/differentiation and phospholipids metabolism.

<2020年の研究成果, 進捗状況及び今後の計画>

ミトコンドリアは、糖・アミノ酸・脂質代謝、 Ca^{2+} レベル、アポトーシスを制御するプラットフォームであり、細胞最大のパワープラントである、重要なオルガネラである。ミトコンドリアの融合と分裂、細胞骨格、モータータンパク質などが協調し、その特異的な形態、細胞内局在が調整されており、ミトコンドリアの多彩な機能は、随時変化するその形態と細胞内局在に由来する。

これまでに薬剤 (gefitinib) 耐性肺がん細胞で、ミトコンドリア融合因子 OPA1 の発現上昇を見出しており、OPA1 の発現低下によって gefitinib の感受性が回復したが、同様に、Scorrano 研究室 (イタリア) で同定された OPA1 特異的阻害剤が、gefitinib の感

受性を回復させること、OPA1による cytochrome c の放出阻害を低下させることを確認した。今後は xenograft で、マウス個体でのこの薬剤の効果を評価する。

ミトコンドリアは小胞体との接点を通じて、Ca²⁺を取り込み、リン脂質は両オルガネラ感を行き来している。グリオーマの幹細胞様細胞と分化細胞で見出したミトコンドリアと小胞体の距離、接点の違いを、ES細胞とES細胞から分化させた心筋細胞でも同様に見出した。グリオーマ同様に細胞分化にともなって、ミトコンドリアと小胞体を繋ぐ因子、MFN2の発現が上昇する。心筋分化にともなって、ミトコンドリアと小胞体は近づき、より多くの接点が生じるので、よりPSがミトコンドリアへ移行し、PEへ変換されていると予想していたが、むしろPS-PE変換率はES細胞の方が高く、一方で、分化心筋細胞では、ES細胞では検出されないPCが検出された(共同研究・九州大学宮田先生)。PSから変換されたPEがさらに小胞体へ戻されて、PCまで変換されていると考えられる。PE-PC変換には必要なメチル基供与体 S-Adenosyl methionine (SAM)とSAMがメチル基を失った S-Adenosyl-L-homocysteine (SAH)をLC-MS/MSで定量したところ、分化心筋細胞では、ES細胞に比べ、SAM/SAHが大きく低下していることを確認した(共同研究・薬学系荒川先生)。そこで、今後はPE-PC変換が関与するメチル化量の変化を調べるために、PE-PC変換酵素、Phosphatidylethanolamine N-methyltransferase (PEMT)の発現低下ES細胞を用いて実験を行う。また、特異的なタンパク質を介さない物理的なオルガネラの距離・接点とこれら表現型との関連を調べるため、人工的にミトコンドリアと小胞体をつなぐリンカーコンストラクトを用いて実験を行う。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

1. Nomura N, Ito C, Ooshio T, Tadokoro Y, Kohno S, Ueno M, Kobayashi M, **Kasahara A**, Takase Y, Kurayoshi K, Si S, Takahashi C, Komatsu M, Yanagawa T, Hirao A. Essential role of autophagy in protecting neonatal haematopoietic stem cells from oxidative stress in a p62-independent manner. *Sci Rep.* 2021 18;11(1):1666
2. Ueno M, Tomita T, Arakawa H, Kakuta T, Yamagishi T, Terakawa J, Daikoku T, Hiroke S, Si S, Kurayoshi K, Ito C, **Kasahara A**, Tadokoro Y, Kobayashi M, Fukuwatari T, Tamai I, Hirao A, Ogoshi T. Pillar[6]arene acts as a biosensor for quantitative detection of a vitamin metabolite in crude biological samples. *Communications Chemistry* 2020 3; 183

< 学会発表 >

「幹細胞性におけるミトコンドリア動態の果たす役割について」笠原敦子、第93回生化学会大会、2020年9月14-16日、『ミトコンドリアでつながる細胞機能』シンポジウム2S10a

< 外部資金 >

科学研究費助成事業(学術研究助成基金助成金)基盤研究(C)

「がん幹細胞性におけるミトコンドリア動態の果たす役割を明らかにする」
3,300千円 3年間

基礎統計

決算額（運営費交付金）

（単位：千円）

区 分		平成 28 年度	平成 29 年度	平成 30 年度	令和元年度	令和 2 年度
運営費交付金		584,800	539,525	498,004	507,855	513,654
内 訳	人件費	451,496	404,750	369,283	404,442	385,923
	物件費等	133,304	134,775	128,721	103,413	127,730

科学研究費補助金（間接経費を含む）

（単位：千円）

研究種目	年度		平成 28 年度		平成 29 年度		平成 30 年度		令和元年度		令和 2 年度	
	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額		
特定領域研究	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
新学術領域研究	4	34,450	5	35,100	4	30,680	0	0	1	3,120		
基盤研究（A）	2	20,800	3	36,270	3	36,660	3	36,270	2	22,230		
基盤研究（B）	4	22,620	5	21,450	4	25,480	7	42,250	8	43,290		
基盤研究（C）	12	19,370	13	21,060	15	23,660	16	24,570	20	30,420		
挑戦的萌芽研究	3	4,810	1	910	0	0	0	0	0	0		
挑戦的研究（萌芽）			4	13,650	5	15,600	4	13,390	3	9,100		
若手研究（S）	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
若手研究（A）	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
若手研究（B）	12	24,959	10	18,590	7	12,480	0	0	0	0		
若手研究					5	11,700	9	15,080	9	17,550		
研究活動スタート支援	2	2,730	2	2,730	1	1,300	2	2,860	2	2,860		
特別研究員奨励費	1	1,170	3	2,940	4	3,894	1	1,040	0	0		
国際共同研究加速基金	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
最先端・次世代研究開発支援プログラム	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
合 計	40	130,909	46	152,700	48	161,454	42	135,460	45	128,570		

外部資金（間接経費を含む）

（単位：千円）

研究種目	年度		平成 28 年度		平成 29 年度		平成 30 年度		令和元年度		令和 2 年度	
	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額		
受託研究	11	355,400	10	408,031	9	208,623	9	186,055	7	136,214		
受託事業経費	1	2,600	1	2,400	2	2,510	0	0	0	0		
補助金	1	9,000	1	9,000	1	2,000	0	0	0	0		
民間等との共同研究	2	4,360	2	17,000	4	3,489	4	10,482	3	23,847		
寄附金	29	36,753	28	29,080	24	22,935	19	19,170	16	15,040		
合 計	44	408,113	42	465,511	40	239,557	32	215,707	26	175,101		

土地・建物

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

教育活動

大学院生・研究生数

令和3年5月1日現在

				先進がんモデル共同研究センター	がん幹細胞研究プログラム	がん微小環境研究プログラム	がん分子標的探索プログラム	がん分子標的医療開発プログラム	合計(人)	
大学院生	医薬保健学総合研究科	修士課程	I	1	3	1			39	
			II		3		1			
		博士課程	I	2	2			1		
			II		3					
			III	3			3			
			IV	3	5	1	6			
		医学系研究科	博士課程	I						
				II						
	III									
	IV					1				
	先進予防医学研究科	博士課程	I							
			II							
			III							
			IV							
	自然科学研究科	前期課程	I						1	
			II				1			
後期課程		I								
		II								
		III								
研究生(特別研究学生含む)				2	3	2	1			8

※平成24年度に医学系研究科から医薬保健学総合研究科へ改組

交流協定校

令和3年5月1日現在

交流協定校	協定大学・部局等名	国(都市名)
大学間交流協定 Partner Universities	蘇州大学	中国(蘇州)
	四川大学	中国(成都)
	ハルビン医科大学	中国(ハルビン)
	釜山国立大学校	韓国(釜山)
	バルナ医科大学	ブルガリア(バルナ)
	モンゴル国立大学	モンゴル(ウランバートル)
	モンゴル科学アカデミー	モンゴル(ウランバートル)
	モンゴル国立医科大学	モンゴル(ウランバートル)
	モンゴル国立がんセンター	モンゴル(ウランバートル)
	モンゴル国立第二病院	モンゴル(ウランバートル)
	ナレースワン大学	タイ(ピサヌローク)
	台北医学大学	台湾(タイペイ)
	シャルジャ大学	アラブ首長国連邦(シャルジャ)
	サンクトペテルブルク医科大学	ロシア(サンクトペテルブルク)
部局間交流協定 Partner Faculties	韓国科学技術研究院遺伝工学研究所	韓国(大田)
	復旦大学上海がん病院	中国(上海)
	ソウル大学校がん研究所	韓国(ソウル)
	ソウル大学がん微小環境研究センター	韓国(ソウル)

各種シンポジウム開催状況

1. 金沢国際がん生物学シンポジウム2020

International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa 2020

※ナノ生命科学研究所第4回国際シンポジウムと共催

目 的：世界的に著名な研究者との交流と最新の
がん研究の動向についてディスカッション
を行うことを目的とする。

日 時：2020年11月26日(木) 8:00～19:30
27日(金) 10:00～12:05

場 所：オンライン

参加者数：約260名

プログラム：

①セッション1：

「Molecular and cellular dynamics in
biological regulation and regenerative
medicine」

座長 松本 邦夫 (がん進展制御研究所/ナ
ノ生命科学研究所)

「High-speed atomic force microscopy: a
forceful tool for molecular biophysics」

Simon SCHEURING (Weill Cornell
Medicine)

「Toward understanding transcriptional
events deep inside the chromatin jungle」

宮成 祐介 (がん進展制御研究所/ナノ生命
科学研究所)

「Two-parameter, single-molecule-
tracking assessments discriminate diverse
regulatory factor behaviors in chromatin」

Kenneth S. ZARET (University of
Pennsylvania)

「Promise and impact of organoid medicine」

Takanori TAKEBE (Tokyo Medical and
Dental University)

②セッション2：

「Chemistry-Driven Challenges: from
Molecule to Nano/Microscale」

座長 新井 敏 (ナノ生命科学研究所)

「Supramolecular Assemblies of Pillar[n]
arenes for Molecular Separation,
Artificial Water Channels and Biosensor
Applications」

生越 友樹 (京都大学)

「Printed Nanofilm to Engineer Bioelectronic
"Second Skin"」

藤枝 俊宣 (東京工業大学)

「CUBIC-HistoVision: a versatile three-
dimensional whole-organ/body staining and
imaging based on electrolyte-gel properties
of biological tissue」

洲崎 悦生 (東京大学)

「New Dimensions of Porous Coordination
Polymers/ Metal-Organic Frameworks」

北川 進 (京都大学)

③セッション3：

「Nano-scale approaches to physiological
and pathological phenomena」

座長 安藤 敏夫 (ナノ生命科学研究所)

「Autophagy regulation by liquid-liquid
phase separation」

野田 展生 (微生物化学研究所)

「Single-molecule visualization of intrinsically
disordered rett syndrome protein, MeCP2
by high-speed atomic force microscopy」

古寺 哲幸 (ナノ生命科学研究所)

「Probing and characterizing nano-bio
interfaces by scanning ion conductance
microscopy」

渡邊 信嗣 (ナノ生命科学研究所)

「Facilitating nuclear delivery of
pharmacological nanoparticles by interfering
with the selective nuclear pore barrier」

Victor SHAHIN (University of Münster)

④セッション4：

「Imaging approaches to explore cancer
biology」

座長 大島 正伸 (がん進展制御研究所/ナ
ノ生命科学研究所)

「Real-time intravital characterization of non-
classical monocytes in cancers」

Keehoon JUNG (Seoul National
University College of Medicine)

「Development of in vivo cancer imaging
technique by advanced multi-photon laser
excitation microscopy」

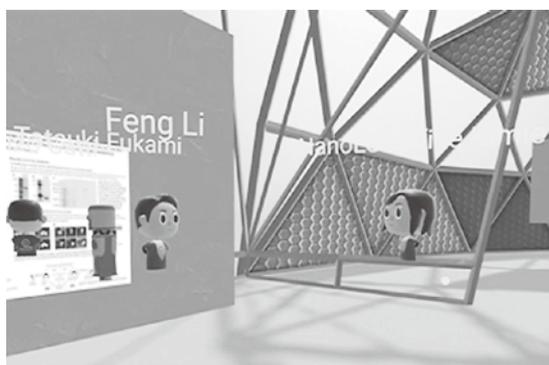
今村 健志 (愛媛大学)

「Developing novel probes for in vivo molecular PET imaging of cancer immunotherapy」

Ann-Marie CHACKO (Duke-NUS Medical School)



「Polyclonal metastasis of colorectal cancer」
大島 正伸 (がん進展制御研究所/ナノ生命科学研究所)



2. 共同利用・共同研究拠点研究成果報告会

目 的：共同利用・共同研究拠点としての機能強化および共同研究活動活性化のため、当該年度に採択された共同研究課題の研究代表者を招聘し、研究成果報告会を開催するもの。

日 時：令和3年2月5日(金)
14:00~15:45【第1回】
2月12日(金)
14:00~15:40【第2回】
2月19日(金)
14:00~15:40【第3回】
2月26日(金)
14:00~15:40【第4回】

場 所：オンライン

参加者数：約270名

【第1回】

「膵臓の発癌過程におけるテロメア異常」

松田 陽子 (香川大学)

「血管新生阻害剤への治療抵抗性を生み出す腫瘍血管のダイナミズム」

戸屋 浩康 (大阪大学)

「パイロトーシス阻害剤の開発と作用機序解析」

関 孝介 (理化学研究所)

【第2回】

「Interleukin-11は、癌ならびに炎症関連線維芽細胞のマーカーであり、腫瘍形成を促進する因子である」

仁科 隆史 (東邦大学)

「組織工学技術を応用したin vitro がん転移モデル構築研究」

関谷 佐智子 (東京女子医科大学)

「染色体転座陽性肉腫におけるPI3K阻害剤のアポトーシス誘導メカニズムの解析」

磯山 翔 (がん研究会)

【第3回】

「脂肪細胞によるがん幹細胞性制御能の解析」

下野 洋平 (藤田医科大学)

「脂肪酸伸長酵素ELOVL6の膀胱がんにおける役割」

松坂 賢 (筑波大学)

「細胞性粘菌の分化誘導因子DIF-3は哺乳動物培養細胞のmTOR pathwayを阻害する」

山下 克美 (金沢大学医薬保健研究域薬学系)

【第4回】

「皮膚発がんにおける骨髄由来間葉系前駆細胞

とケモカインの相互関係および病態生理学的役割解明」

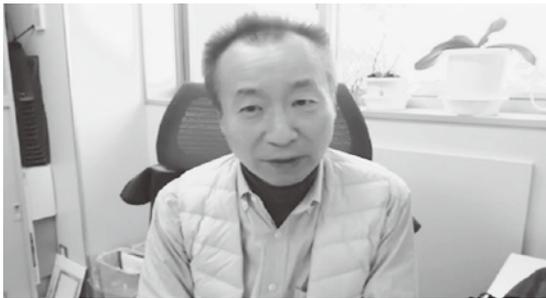
石田 裕子 (和歌山県立医科大学)

「ストレス応答によるEphA2の非定型的活性化を介したがん細胞の遊走機構」

周 越 (富山大学)

「Glioma stem cell 標的型 Boron Neutron Capture Therapy 抵抗性の機序解明」

近藤 夏子 (京都大学)





金沢大学がん進展制御研究所年報2020年

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

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