



2022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

本研究所は、1967年の設立以来、「がんに関する学理及びその応用の研究」に焦点をあて、がんの本態解明を目指す基礎研究とそれを応用した臨床研究を一体的に推進してきました。転移や薬剤耐性などのがん悪性進展のメカニズムを解明し、先進的な診断・治療技術の開発に結びつけること、また、将来のがん研究や医療を担う優秀な人材を育成することを本研究所の使命と位置付けています。

また本研究所は、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」としての認定を継続して受けています。2022年度は71件の研究課題（うち国際共同研究7件、異分野融合研究5件）を採択し、共同研究を推進しました。2023年2月には、共同利用・共同研究拠点成果報告会を開催し、研究交流を介したがん研究ネットワークの拡大に努めました。拠点の活動を支えるため、共通機器の整備や研究資源の充実に積極的に取り組んでいます。本研究所の拠点活動は、前期の最終評価でA評価を獲得するなど、各方面から高い評価を頂戴しています。

なお10月には、本研究所がホストとなり、生命医学系国立大学附置研究所による第17回生命医科学研究所ネットワーク国際シンポジウムを開催しました。あわせてDUKE-NUS研究所（シンガポール）とのジョイントによる金沢国際がん生物学シンポジウムも合同開催し、国内外の生命科学系研究者間の交流を図るなど、国際的研究拠点としての機能強化に取り組んでいます。

さらに、本研究所では「オンコロジーセミナー」および「がん研若手コロキウム」を定期的な研究発表の場として設けており、それぞれ若手研究者（准教授、助教）や大学院生の研究の活性化につなげています。

このほか、初めての取り組みとして、未来のがん研究者発掘・養成のための高校生向け研究体験プログラム「がん研究早期体験プログラム」を8月に開催しました。本プログラムは、クラウドファンディングプロジェクト『金沢発！未来のがん研究者を育む「がん克服プロジェクト」』に寄せられたご寄附を運営資金に実施しました。研究体験プログラムには34名、講義編のセミナーには54名の高校生が参加し、現役の研究者から研究内容の解説を受け、実験に参加するなど、研究の現場を実際に体験しました。参加した高校生が、将来、アカデミアや産業界で研究に携わり、国際的に活躍する優秀な研究者に成長することを願っています。

2022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。本研究所の取り組みについて、皆様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 鈴木健之

金沢大学がん進展制御研究所年報 2022年

目 次

巻頭言

研究概要と研究業績

先進がんモデル共同研究センター

腫瘍遺伝学研究分野	2
分子病態研究分野	8
上皮幹細胞研究分野	15

がん幹細胞研究プログラム

遺伝子・染色体構築研究分野	20
腫瘍分子生物学研究分野	24
がん・老化生物学研究分野	29

がん微小環境研究プログラム

免疫炎症制御研究分野	34
腫瘍動態制御研究分野	37
腫瘍細胞生物学研究分野	43

がん分子標的探索プログラム

シグナル伝達研究分野	48
腫瘍制御研究分野	51
機能ゲノミクス研究分野	56

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	78
がん-免疫系相互作用ユニット	80
がん幹細胞環境制御ユニット	82
ミトコンドリア動態ユニット	85

基礎統計・教育活動

各種シンポジウム開催状況

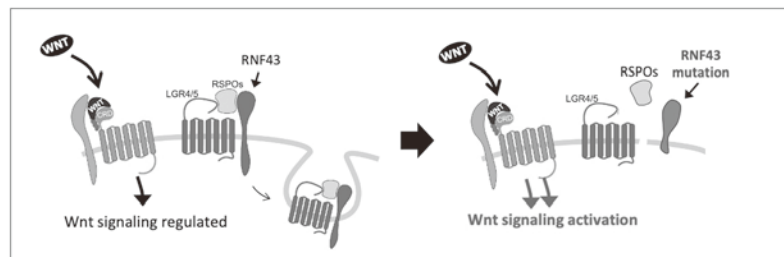
先進がんモデル共同研究センター

Division of Genetics 腫瘍遺伝学研究分野

Professor	Masanobu Oshima 大島 正伸
Associate Professors	Hiroko Oshima 大島浩子, Mizuho Nakayama 中山瑞穂
Assistant Professor	Dong Wang (WPI-Nano LSI 特任助教)
Research Associates	Mustafa A. Sakr (エジプト政府派遣) Sau Yee Kok (2022.11.21～ JSPS 外国人特別研究員)
Graduate Students	Atsuya Morita 森田 敦也 (D4), Xuelian Lei 雷 雪蓮 (D3) Yuichiro Furutani 古谷裕一郎 (D4), Hiroshi Saito 齋藤浩志 (D2) (YF, HS, 消化管外科学)
Technical Assistants	Manami Watanabe 渡辺真奈美, Ayako Tsuda 津田理子

【 Abstract 】

RNF43 is a ubiquitin ligase that targets Wnt receptor Frizzled. Thus, loss-of-function mutation in *RNF43* causes activation of Wnt signaling through stabilization of Frizzled (**Figure**), which is frequently found in microsatellite instability (MSI)-type colorectal cancer (CRC). However, the mechanism how *RNF43* mutations contribute to

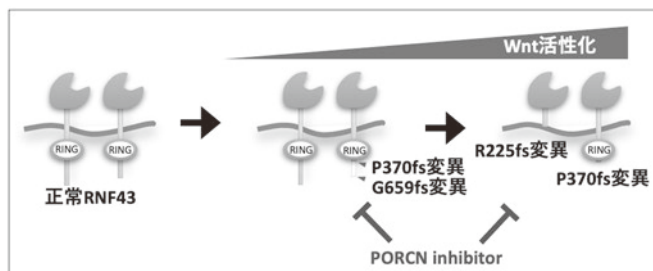


tumorigenesis has not been fully understood yet. We have established human CRC-derived organoids, and three lines of them derived from MSI-type tumors carried mutations in *RNF43* but not *APC* gene. As expected, *RNF43* mutant organoids required both Wnt ligands and R-spondin for proliferation. Interestingly, however, active β -catenin levels in *RNF43* mutant organoids were significantly lower than those in *APC* mutant CRC, suggesting lower threshold for Wnt activation level for MSI-type CRC development. Sequencing of subcloned organoid cell-expressing transcripts revealed that two lines carried monoallelic *RNF43* *cis*-mutations, namely, two *RNF43* frameshift mutations were introduced in the same allele and the wild-type *RNF43* allele remained, while the other organoid line carried two-hit biallelic *RNF43* *trans*-mutations. These results indicate that heterozygous *RNF43* frameshift mutation may sufficiently contribute to CRC development, although second-hit *RNF43* mutation may be advantageous in tumorigenesis through activation of Wnt signaling. These results provide a novel mechanism underlying *RNF43* mutation-associated CRC development, and therapeutic potential of Wnt ligand inhibition against MSI-type CRC (Yamamoto D, Oshima H, et al, *J Pathol*, 2022).

<2022 年の研究成果、進捗状況及び今後の計画>

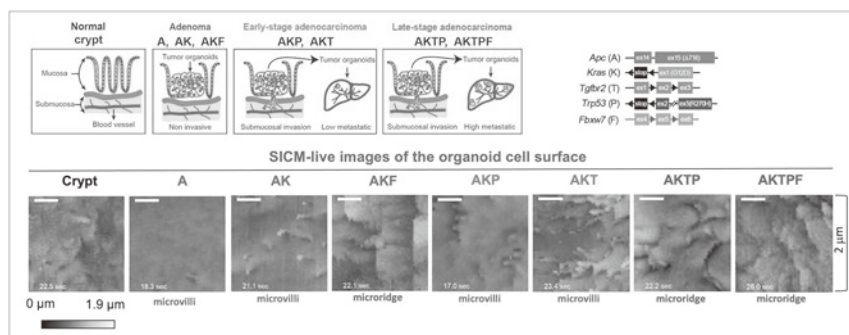
1. RNF43 遺伝子変異による大腸がん発生機構の研究

MSI 型の大腸がんでは APC 遺伝子変異は少なく、Wnt リガンド受容体 Frizzled を標的とする E3 リガーゼの *RNF43* に変異が認められる。*RNF43* 変異は受容体の安定化により、リガンド依存的な Wnt シグナル活性化を誘導すると考えられるが、その発がん機構には未だ不明な点が多い。研究室では大腸がん患者の手術検体からオルガノイドを樹立し、ゲノム解析により MSI 型大腸がん由来のオルガノイドで、*RNF43* 遺伝子変異を確認した。興味深いことに、*RNF43* 変異が同一染色体上で導入された *cis* 型変異が認められ、野生型 *RNF43* とのヘテロ変異で発がんが誘導されたと考えられた（右図中）。一方でbiallelic な *trans* 型変異も認められ、*RNF43* 遺伝子 2 ヒット変異による Wnt 活性化亢進が発がんを促進すると考えられた（右図右）。さらに、*RNF43* 変異大腸がん PDX モデルに、Wnt リガンド阻害活性のある PORCN 阻害薬を投与すると、腫瘍形成が顕著に抑制され、MSI 型大腸がんを対象とした Wnt リガンド阻害薬による治療戦略が考えられた（Yamamoto et al, *J Pathol*, 2022）。



2. 腸管腫瘍オルガノイド細胞表面構造の物性解析

走査型イオン伝導顕微鏡 (SICM) は、ガラスナノピペットが細胞に極限に近接した際のピペット内外のイオン電流変化の検出により、ナノレベルでの細胞表面構造や弾性などの物性を計測するプローブ型顕微鏡である。SICM を用いて、これまでに樹立した各遺伝子型の腸管腫瘍オルガノイド細胞表面解析を行った結果、転移性腫瘍細胞 (AKTP, AKTPF) に特徴的な変化 (microridge 構造の形成と高い運動性) が確認され、良性腫瘍や転移性の低い腫瘍細胞との物性の違いを明らかにした（上図）。この結果から、新規診断法開発につながる事が期待された（Wang et al, *Biomaterials*, 2022）。



3. ネガティブ選択によるがんの悪性化進化

がんの進化 (cancer evolution) は、ドライバ変異とポジティブ選択の繰り返しで説明されるが、転移性腸管腫瘍オルガノイド (AKTP) のサブクローニング実験により、約 30% の細胞集団で悪性化形質を失っており、ネガティブ選択により排除される可能性を発見した。機序解明は今後の課題となる（Morita et al, *Cancer Sci*, 2022）。

4. *Kras* と *Trp53* 遺伝子変異型による TGFβ 刺激の反応性制御

マウス腸管腫瘍由来オルガノイドを TGFβ ファミリーの activin A で刺激すると、*Kras* 活性化変異が、activin による増殖抑制に対して抵抗性を示し、LOH をともなう *p53* 機能獲得型変異が、上皮構造消失などの partial EMT 誘導に必要であることを明らかにした。

【研究業績】

<発表論文>

原著論文

(研究室主体)

1. Morita A, Nakayama M, Wang D, Murakami K, Oshima M. Frequent loss of metastatic ability in subclones of *Apc*, *Kras*, *Tgfbr2* and *Trp53* mutant intestinal tumor organoids. **Cancer Sci**, 2022 Dec. doi: 10.1111/cas.15709. Online ahead of print.
2. Yamamoto D, Oshima H, Wang D, Takeda H, Kita K, Lei X, Nakayama M, Murakami K, Ohama T, Takemura H, Toyota M, Suzuki H, Inaki N, Oshima M. Characterization of *RNF43* frameshift mutations that drive Wnt ligand- and R-spondin-dependent colon cancer. **J Pathol**, 257: 39-52, 2022. doi: 10.1002/path.5868.
3. Wang D, Sun L, Okuda S, Yamamoto D, Nakayama M, Oshima H, Saito H, Kouyama Y, Mimori K, Ando T, Watanabe S, Oshima M. Nano-scale physical properties characteristic to metastatic intestinal cancer cells identified by high-speed scanning ion conductance microscope. **Biomaterials**, 280: 121256, 2022. doi: 10.1016/j.biomaterials.2021.121256.
4. Wang D, Nguyen HG, Nakayama M, Oshima H, Sun L, Oshima M, Watanabe S. Mapping nanomechanical properties of basal surface in metastatic intestinal three-dimensional living organoids with high-speed scanning ion conductance microscopy. **Small**, 2206213, 2022. doi: 10.1002/smll.202206213.

(共同研究)

1. Dawson RE, Deswaerte V, West AC, Tang K, West AJ, Balic JJ, Gearing LJ, Saad MI, Yu L, Wu Y, Bhathal PS, Kumar B, Chakrabarti JT, Zavros Y, Oshima H, Klinman DM, Oshima M, Tan P, Jenkins BJ. STAT3-mediated upregulation of the AIM2 DNA sensor links innate immunity with cell migration to promote epithelial tumorigenesis. **Gut**, 71: 1515-1531, 2022. doi: 10.1136/gutjnl-2020-323916.
2. Tang K, McLeod L, Livis T, West AC, Dawson R, Yu L, Balic JJ, Chonwerawong M, Wray-McCann G, Oshima H, Oshima M, Deswaerte V, Ferrero RL, Jenkins BJ. Toll-like receptor 9 promotes initiation of gastric tumorigenesis by augmenting inflammation and cellular proliferation. **Cell Mol Gastroenterol Hepatol**, 14: 567-586, 2022. doi: 10.1016/j.jmch.2022.06.002.
3. Ichikawa T, Wang D, Miyazawa K, Miyata K, Oshima M, Fukuma T. Chemical fixation creates nanoscale clusters on the cell surface by aggregating membrane proteins. **Commun Biol**, 5: 487, 2022. doi.org/10.1038/s42003-022-03437-2.
4. Kitagawa K, Shibata E, Yamamoto M, Harada H, Yoshino K, Iwashita T, Oshima M, Tsuji M. Subacute exposure to bisphenol F diglycidyl-ether (BFDGE) induces chronic dermatitis characterized by psoriasis-like skin inflammation in mice. **Genes Cells**, 2022. Dori: 10.1111/gtc.12995.

5. Sugawara S, Okada R, Loo TM, Tanaka H, Miyata K, Chiba M, Kawasaki H, Katoh K, Kaji S, Maezawa Y, Yokote K, Nakayama M, Oshima M, Nagao K, Obuse C, Nagayama S, Takubo K, Nakanishi A, Kanemaki MT, Hara E, Takahashi A. RNaseH2A downregulation drives inflammatory gene expression via genomic DNA fragmentation in senescent and cancer cells. **Commun Biol**, accepted, 13th Dec 2022.

総説・著書

(英文総説)

1. Nakayama M, Wang D, Kok SY, Oshima H, and Oshima M. Genetic alterations and microenvironment that drive malignant progression of colorectal cancer: Lessons from mouse and organoid models. **J Cancer Prev**, 27: 1-6, 2022, doi.org/10.15430/JCP.2022.27.1.1.
2. Liabeuf D, Oshima M, Stange DE, Sigal M. Stem cells, Helicobacter pylori and mutational landscape-Utility of pre-clinical models to understand carcinogenesis and to direct management of gastric cancer. **Gastroenterology**, 162: 1067-1087, 2022. doi: 10.1053/j.gastro.2021.12.252.

(日本語総説)

1. 中山瑞穂, 大島浩子, 大島正伸. 遺伝子異常と多段階発がん, 病理と臨床「がんゲノム医療時代の分子腫瘍学」(文光堂) 40: 36-40, 2022.
2. 中山瑞穂, 大島正伸. 固形がんの悪性化における p53 変異の生物学とバイオマーカー, 実験医学「臨床実装が進む次世代がんバイオマーカー」(羊土社) 40: 1503-1508, 2022.
3. 大島浩子, 中山瑞穂, 大島正伸. 慢性炎症が促進する発がん悪性化, 医学のあゆみ(医歯薬出版) 282: 86-91, 2022.
4. 大島浩子. 慢性炎症と消化器発がん, 別冊 Bio Clinica (北隆館) 11: 10-14, 2022.
5. 大島正伸. 大腸発がん・悪性化と TGF β , 別冊 Bio Clinica (北隆館) 11: 53-58, 2022.
6. 大島正伸. ニューオーリンズから AACR2022 参加レポート, 実験医学(羊土社) 40: 2316-2319, 2022.

<学会発表>

(国際学会・シンポジウム)

1. Oshima M. Modeling polyclonal metastasis of colon cancer by organoids. 115th Annual Meeting of American Association of Cancer Research (AACR), (New Orleans, USA) 2022, Apr 11.
2. Oshima H, Nakayama M, and Oshima M. Preclinical model of cholangiocarcinoma by cooperation of oncogenic activation and COX-2/PGE₂-associated inflammation. 7th JCA-AACR Special Joint Conference, (Kyoto) 2022 July 9-10.
3. Oshima M. Polyclonal metastasis of genetically and phenotypically distinct intestinal tumor organoids. 12th AACR-JCA Joint Conference, (Lahaina, Maui, USA) 2022 Dec 12.

(国内学会・セミナー)

1. 大島浩子. 消化器がんのポリクローナル転移機構, 第 40 回腫瘍病理セミナー・北信がんプロ FD 講演会 金沢女性研究者フォーラム, (金沢医科大学, 金沢) 2022 年 1 月 21 日.
2. 大島正伸. 個体モデルの観察による大腸がん悪性化過程の解析, 令和 3 年度 先端モデル動物支援プラットフォーム成果発表会, (琵琶湖ホテル, 大津) 2022 年 2 月 2 日.
3. Oshima M. Characterization of RNF43 frameshift mutations that drive Wnt ligand and R-spondin dependent colon cancer. Wnt Talks, (on line) 2022 年 2 月 11 日.
4. 大島正伸. 大腸がんのポリクローナル転移と線維性微小環境, 第 46 回日本リンパ学会総会, (東京医科歯科大学, 東京) 2022 年 6 月 4 日.
5. 大島正伸. 消化器がんの発生と悪性化における宿主反応-マウスモデルからの知見-, 第 26 回日本がん分子標的治療学会学術総会 (石川県立音楽堂, 金沢) 2022 年 6 月 29 日.
6. 中山瑞穂. 大腸がん転移機構に関わる遺伝子変異と微小環境の形成について-マウスオルガノイドモデルによる検証-, 第 31 回日本がん転移学会学術総会 (京都大学, 京都) 2022 年 7 月 8 日.
7. 大島正伸. 消化器がんの発生・悪性化における炎症反応, 第 124 回北海道癌談話会シンポジウム (オンライン) 2022 年 8 月 6 日.
8. Oshima H, Nakayama M, Terakado Y, Oshima M. Wnt signaling-dependent malignant progression of gastric cancer. (口演) 第 81 回日本癌学会学術総会 (パシフィコ横浜), 横浜, 2022 年 9 月 29 日.
9. Oshima M, Wng D, Nakayama M, Oshima H. Modeling development and malignant progression of intestinal tumors in mice. (口演) 第 81 回日本癌学会学術総会 (パシフィコ横浜), 横浜, 2022 年 9 月 29 日.
10. Nakayama M, Oshima H, Oshima M. The mechanisms of Wnt hyperactivation in intestinal tumor cells that carry gain-of-function p53 mutation. (口演) 第 81 回日本癌学会学術総会 (パシフィコ横浜), 横浜, 2022 年 9 月 30 日.
11. Wang D, Nakayama M, Oshima H, Oshima M. Activin promote intestinal tumor cell metastasis by interacting with gain-of-function mutant p53. ポスター) 第 81 回日本癌学会学術総会 (パシフィコ横浜), 横浜, 2022 年 9 月 29 日.
12. Morita A, Nakayama M, Oshima H, Oshima M. Heterogeneity of liver metastatic ability in the same driver gene mutations of colorectal cancer. (ポスター) 第 81 回日本癌学会学術総会 (パシフィコ横浜), 横浜, 2022 年 10 月 1 日.

13. Sun L, Wang D, Okuda S, Nguye HG, Yamamoto D, Nakayama M, Oshima H, Saito H, Kouyama Y, Mimori K, Ando T, Watanabe S, Oshima M. High-speed ion conductance microscope to reveal the nanoscale physical properties of metastatic intestinal cancer cells. (口演) 第 81 回日本癌学会学術総会 (パシフィコ横浜), 横浜, 2022 年 9 月 30 日.
14. 大島正伸. マウスモデルから見る消化器がんの発生と悪性化, 第 35 回発癌病理研究会 (NASPA ニューオータニ), 新潟, 2022 年 11 月 28 日.
15. 大島浩子. 消化器がんの発生と転移機構に関するモデル開発研究 (ランチョンセミナー), 日本薬剤学会・経口吸収 FG/日本薬物動態学会 吸収 DIS 合同研究討論会 2022 (オンライン), 2022 年 12 月 15 日.

<知的財産>

米国特許: Organoid with metastatic property and use thereof.

Applicant. National University Corporation Kanazawa University

Inventors. Oshima M, Nakayama M, Sakai E.

Patent No. US 11,414,691 B2, Aug. 16, 2022 (Date of Patent)

<外部資金>

1. AMED 革新的先端研究開発支援事業 (FORCE) [研究代表者: 大島正伸]
「ヒト大腸がんポリクロール転移機構に関する研究開発」18,000 千円
2. AMED 革新的がん医療実用化研究事業 [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」14,500 千円
3. 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」7,200 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」3,900 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」1,000 千円
6. 科研費 若手研究 [研究代表者: Dong Wang]
「The role of activin combined with different gene mutations in colorectal cancer EMT」1,400 千円
7. 外国人特別研究員 [研究代表者: 大島 正伸, 研究分担者: Kok Sau Yee]
「繊維性微小環境形成による消化器がん転移促進機構の研究」400 千円

Division of Cancer Cell Biology

分子病態研究分野

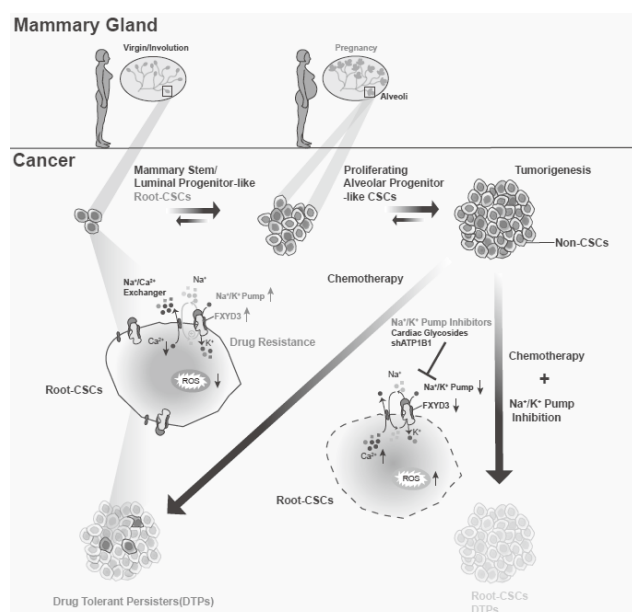
Professor	Noriko Gotoh 後藤 典子
Assistant Professors	Tatsunori Nishimura 西村 建徳 Yasuto Takeuchi 竹内 康人 (若手 PI) Tsunaki Hongu 本宮 綱紀 (特任助教)
Graduate Students	Li Mengjiao (D4), Saren Qiqige (D4), Wang Yuming (D4) Masahiro Yamazaki 山崎 雅弘 (D2) Huazi Zhang (D1) Hiroka Matsumoto 松本 寛加 (M2) Risa Kashimura 柏村 里沙 (M1)
Undergraduate student	Hirokazu Kusunoki 楠木 啓主 (卒研生)
Technical Staff	Hitomi Takamura 高村 瞳
Assistant Staff	Kiyoko Take 武 紀代子

【 Abstract 】

1. The intratumoral heterogeneity of cancer stem cells (CSCs) poses a challenge in further establishing the hierarchy among the CSC subpopulations, thereby making it difficult to identify the most ancestral CSC subgroup for therapeutic targeting. Here, we isolated the root of CSCs (hereafter, root-CSCs) that possess stem or progenitor-like traits, quiescence, and persistence after chemotherapy using single cell transcriptomic analysis of triple-negative breast cancer (TNBC)-derived CSCs. These cells evolve and proliferate with pregnancy-induced alveolar progenitor-like traits. The Na^+/K^+ pump component of FXYD domain-containing ion transport regulator 3 (FXYD3) enabled the isolation of root-CSCs. Consistent with the role of FXYD3, these cells were sensitive to senolytic Na^+/K^+ pump inhibitors, such as cardiac glycosides. After neoadjuvant chemotherapy, substantially more FXYD3-positive root-CSCs remained. This suggests that the root-CSC population overlaps with the recently defined drug tolerant persisters (DTPs), and highlights their importance as therapeutic targets. Therefore, Na^+/K^+ pump inhibitors could facilitate the elimination of root-CSCs cells and improve TNBC prognosis.

2. As the incidence of breast cancer continues to increase, it is critical to develop prevention strategies for this disease. Inflammation underlies the onset of the disease, and NF- κ B is a master transcription factor for inflammation; however, the precise molecular mechanisms remain obscure. Ductal carcinoma in situ (DCIS) is the earliest stage of breast cancer, and not all DCIS lesions develop toward invasive breast cancers (IBC). Currently, most

patients with DCIS undergo surgery with postoperative therapy, although there is a risk of overtreatment. There are unmet needs to diagnose malignant DCIS that has the potential to progress to IBC and to establish appropriate prevention strategy. We recently demonstrated novel molecular mechanisms for NF- κ B activation in premalignant mammary tissues which include DCIS, and resultant cytokine-enriched microenvironment is essential for breast cancer development. On the early endosomes in a few mammary epithelial cells, the adaptor protein FRS2 β forming a complex with ErbB2, carries the I κ B kinase (IKK) complex, leading to the activation of NF- κ B. A variety of cytokines are induced, including insulin growth factor (IGF) 1 and CXCL12, and stimulate the growth of cancer stem cells and cancer-associated fibroblasts (CAFs), respectively. Treatment with therapies targeting IGF1 and CXCL12 is an effective strategy to prevent disease onset. Therefore, FRS2 β -NF κ B axis in premalignant mammary environment could be targetable to prevent the IBC. Further analysis of the molecular mechanisms of inflammation in premalignant microenvironment will be needed to establish an accurate prediction model for the risk of IBC and appropriate prevention strategies.



トリプルネガティブ型乳がん組織内にある Root-がん幹細胞は、未分化な乳腺幹細胞及びルミナル前駆細胞と似た性質を持ち、最も薬剤抵抗性である。正常乳腺は妊娠期になると、腺房前駆細胞が分化し活発に増殖する。Root-がん幹細胞はその性質を利用して、活発に増殖する腺房前駆細胞と似た性質のがん幹細胞を生み出し、大きな腫瘍塊を作る。

＜2022 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きた。希少がんのオールジャパンコンソーシアムの中で，本学整形外科とも協力し，骨軟部腫瘍の PDX モデルの構築も行っている。

私どもが見出した Root-がん幹細胞は，膜タンパク質 FXYD3 を多く発言している。FXYD3 は，Na⁺/K⁺ポンプのサブユニットで，抗がん剤などのストレスによって生じる活性酸素から Na⁺/K⁺ポンプ機能を保護することによって，抗がん剤耐性を賦与する。Root-がん幹細胞は，いわゆる Drug tolerant persisters と同様の細胞である。

【 研 究 業 績 】

< 発表論文 >

原 著

(研究室主体)

1. Takeuchi Y and Gotoh N.: Inflammatory cytokines-enriched microenvironment plays key roles for the development of breast cancers. *Cancer Sci*, in press.

(共同研究)

2. Ishizaki T, Takeuchi Y, Ishibashi K, Gotoh N, Hirata E, Kuroda K.: Cryopreservation of tissues by slow-freezing using an emerging zwitterionic cryoprotectant. *Sci Rep*, in press.
3. Sato W, Ikeda K, Gotoh N, Inoue S, Horie K.: Efp promotes growth of triple-negative breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*, Oct 8:624, 81-88, 2022. On line publication 30 July 2022. DOI: 10.1016/j.bbrc.2022.07.071

総 説

1. 「乳がん発症に必須の分子が明らかに」
後藤典子 千里ライフサイエンスレポート：生命科学のフロンティア その 81, p7-9, 2022.

< 学会発表 >

< 国際学会 >

1. Noriko Gotoh: “FXVD3 functionally demarcates an ancestral breast cancer stem cell subpopulation with features of drug tolerant persisters.” **The 12th AACR-JCA Joint Conference: Breakthroughs in Cancer Research: Translating Knowledge into Practice**: 2022 年 12 月 10-15 日 米国 マウイ
2. Noriko Gotoh: “The membrane-linked adaptor FRS2beta fashions a cytokine-rich inflammatory microenvironment that promotes breast cancer carcinogenesis.” **Rethinking DCIS: An opportunity for prevention? AACR Special Conference**: 2022 年 9 月 8-11 日 on line
3. Noriko Gotoh: “The membrane-linked adaptor FRS2beta fashions a cytokine-rich inflammatory microenvironment that promotes breast cancer carcinogenesis” **Symposium on World Cancer Research 2022**: 2022 年 5 月 6-8 日 シンガポール on line
招待講演

4. Yasuto Takeuchi, Tatsunori Nishimura, Mengjiao Li, Yuming Wang, Noriko Gotoh: “The membrane-linked adaptor FRS2beta fashions a cytokine-rich microenvironment that promotes breast cancer carcinogenesis.” **17th International Symposium of The Institute Network for Biomedical Sciences International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa 2022, 2022 CRI and DUKE-NUS Joint Symposium: Fundamental Biological Principles and Cancer**: 2022 年 10 月 13-14 日 金沢
5. Masahiro Yamazaki, Tatsunori Nishimura, Mengjiao Li, Noriko Gotoh: “Specific roles of FXYD3 positive cancer stem cells in radio-resistance.” **The 12th AACR-JCA Joint Conference: Breakthroughs in Cancer Research: Translating Knowledge into Practice**: 2022 年 12 月 10-15 日 米国 マウイ

<全国学会>

1. 後藤典子: “Opening lecture from a senior female scientist about her experience of being a leader in Japan” EMBO Laboratory Leadership Course **第 45 回日本分子生物学会年会サテライトイベント** 2022 年 12 月 3 日 幕張メッセ 招待講演
2. 後藤典子: “トリプルネガティブタイプ乳がん臨床検体のスフェロイド培養から明らかになってきた「親玉がん幹細胞」” **第 4 回がん三次元培養研究会** 2022 年 11 月 28 日 東京 オーガナイザー, 講演
3. 後藤典子: “トリプルネガティブタイプ乳がんの親玉がん幹細胞-root-Cancer stem cells” 「がん三次元培養を活用したがんの分子機構の解明」 **日本患者由来がんモデル学会学術集会 2022 シンポジウム** 2022 年 11 月 16 日 on line シンポジウムオーガナイザー, 講演
4. 後藤典子: “乳がん発症と治療抵抗性の微小環境におけるメカニズム” **第 45 回宮崎呼吸器乳腺懇話会** 2022 年 11 月 11 日 on line 招待講演
5. 後藤典子: “Microenvironment creates premalignant mammary tissues and therapy-resistant persistent tumor cells in breast cancer” 女性科学者シンポジウム **第 81 回日本癌学会学術総会** 2022 年 9 月 29 日-10 月 1 日 横浜 シンポジウムオーガナイザー, 講演
6. 後藤典子: “過去と現在のがん研究・基礎研究者の立場から” 特別企画 「がん研究の魅力と意義」 **第 81 回日本癌学会学術総会** 2022 年 9 月 29 日-10 月 1 日 横浜 招待講演
7. 後藤典子: “乳がんの微小環境ニッチと腫瘍不均一性解明による新たな標的治療の可能性” **第 32 回日本サイトメトリー学会学術集会** 2022 年 5 月 28-29 日 on line 会長講演
8. 後藤典子: “FXYX3, a subunit of Na⁺ pump, determines the origin of triple-negative breast cancer stem-like cells, the preeminent driver of drug resistance” **The 19th Stem Cell Research Symposium** 2022 年 5 月 27-28 日 淡路夢舞台 招待講演

9. 西村 建徳, Lee Jin, Li Mengjiao, 後藤 典子: “新規葉酸代謝拮抗剤 MTHFD2 阻害剤と Chk1 阻害剤の併用による細胞死誘導” **第 26 回日本がん分子標的治療学会 学術集会**, 2022 年 6 月 30 日 金沢
10. 西村 建徳: “ミトコンドリア 1 炭素代謝酵素とがん幹細胞” **第 8 回がんと代謝研究会**, 2022 年 7 月 19-22 日 新潟県佐渡市 口演
11. 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: “乳がん幹細胞とがん関連線維芽細胞における相互作用の解明” **第 81 回日本癌学会**, 2022 年 9 月 29 日-10 月 1 日 横浜 ポスター
12. 竹内康人, 木村奈津子, 村山貴彦, 町田雪乃, 家島大輔, 西村建徳, 王禹銘, 坂本理恵子, 山本瑞生, 板野直樹, 井上優介, 伊藤正孝, 吉田進昭, 井上純一郎, 赤司浩一, 佐谷秀行, 藤田浩司, 黒田雅彦, 北林一生, 東條有伸, 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” **第 8 回がんと代謝研究会**, 2022 年 7 月 19-22 日 新潟県佐渡市 ポスター
13. 竹内康人, 木村奈津子, 村山貴彦, 町田雪乃, 家島大輔, 西村建徳, 王禹銘, 坂本理恵子, 山本瑞生, 板野直樹, 井上優介, 伊藤正孝, 吉田進昭, 井上純一郎, 赤司浩一, 佐谷秀行, 藤田浩司, 黒田雅彦, 北林一生, 東條有伸, 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” **第 26 回日本がん分子標的治療学会**, 2022 年 6 月 29 日-7 月 1 日 金沢 ポスター
14. 竹内康人, 木村奈津子, 村山貴彦, 町田雪乃, 家島大輔, 西村建徳, 王禹銘, 坂本理恵子, 山本瑞生, 板野直樹, 井上優介, 伊藤正孝, 吉田進昭, 井上純一郎, 赤司浩一, 佐谷秀行, 藤田浩司, 黒田雅彦, 北林一生, 東條有伸, 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” **第 32 回日本サイトメトリー学会**, 2022 年 5 月 28-29 日 オンライン
15. 竹内康人: “乳がん幹細胞様細胞とがん関連線維芽細胞における相互作用の解明” **第 4 回若手ワークショップ細胞社会ダイバーシティーの統合的解明と制御**, 2022 年 1 月 26-28 日 オンライン
16. 本宮綱記, 後藤典子, Thordur Oskarsson: “TNC triggers sequential activation of macrophages and endothelial cells to generate a metastatic vascular niche in lung.” **第 81 回日本癌学会**, 2022 年 9 月 29 日-10 月 1 日 横浜 口演
17. 本宮綱記, 後藤典子, Thordur Oskarsson: “乳癌肺転移における血管性ニッチの役割とその制御” **2022 年度先端モデル動物支援プラットフォーム**, 2022 年 8 月 30 日-9 月 1 日 名古屋

18. Mengjiao Li, Tatsunori Nishimura, Yasuto Takeuchi, Noriko Gotoh: “トリプルネガティブ乳がん幹細胞の起源ルミナル前駆細胞は、Na⁺ポンプ FXYD3 を利用し抗がん剤耐性を獲得する” 第 26 回日本がん分子標的治療学会学術集会, 2022 年 6 月 29 日-7 月 1 日 金沢 口演
19. Mengjiao Li, Tatsunori Nishimura, Yasuto Takeuchi, Daisuke Shiokawa, Masao Yano, Satoko Ishikawa, Tetsuo Ota, Masahiko Tanabe, Kei-ichiro Tada, Tetsu Akiyama, Teppei Shimamura, Shinya Sato, Youhei Miyagi, Yutaka Suzuki, Koji Okamoto, Arinobu Tojo, Noriko Gotoh: “FXYD3, a subunit of Na⁺ K⁺ pump, determines the root of triple-negative breast cancer stem-like cells.” 第 81 回日本癌学会, 2022 年 9 月 29 日-10 月 1 日 横浜 ポスター 「ポスター賞受賞」
20. Yuming Wang, Tatsunori Nishimura, Mengjiao Li, Ryoji Yao, Noriko Gotoh: “One carbon metabolic enzyme MTHFD2 is essential for breast cancer metastasis to lung.” 第 81 回日本癌学会, 2022 年 9 月 29 日-10 月 1 日 横浜 ポスター 「ポスター賞受賞」
21. 山崎雅弘, 西村建徳, Mengjiao Li, 後藤典子: “FXYD3 positive CSCs may play a key role in radioresistance.” 第 81 回日本癌学会, 2022 年 9 月 29 日-10 月 1 日 横浜 ポスター
22. Saren qiqige, Rojas Chaverra Nichole Marcela, Tsunaki Hongu, Tatsunori Nishimura, Kunio Matsumoto, Mikihiro Shibata, Noriko Gotoh: “Recombinant FGFR 1 in its monomeric and dimeric forms observed through High Speed-Atomic Force Microscope (HS-AFM)” 第 45 回日本分子生物学会年会 2022 年 11 月 30 日-12 月 2 日 幕張メッセ ポスター
23. 柏村里沙, 竹内康人, 村山貴彦, 西村建徳, 松本寛加, 矢野正雄, 田辺真彦, 石川聡子, 太田哲生, 多田敬一郎, 池田和博, 堀江公仁子, 井上聡, 岡本康司, 東條有伸, 後藤典子, “乳がん幹細胞とがん関連線維芽細胞における相互作用の解明” 第 32 回日本サイトメトリー学会, 2022 年 5 月 28-29 日 オンライン

<全国学会，研究会主催>

1. 第 8 回がんと代謝研究会 2022 年 7 月 19-22 日 新潟県佐渡市 実行委員長
2. 第 32 回日本サイトメトリー学会学術集会 2022 年 5 月 28-29 日 on line 会長

<外部資金>

1. 後藤典子, AMED 次世代がん医療創生研究事業, 2020.4.1-2021.3.21, 代表, 16,000 千円
2. 後藤典子, AMED 次世代がん医療創生研究事業, 2020.4.1-2021.3.2, 分担, 3,900 千円
3. 後藤典子, AMED 創薬支援推進事業・創薬総合支援事業, 2021.10.1-2021.3.31, 代表, 3,960 千円

4. 後藤典子, AMED 次世代がん医療創生研究事業, 2021.4.1-2022.3.31, 分担, 650 千円
5. 後藤典子, AMED 革新的医療実用化研究事業, 2021.8.20-2022.3.31, 分担, 650 千円
6. 後藤典子, 基盤研究 B (一般), 2021.4.1-2024.3.31, 代表, 15,110 千円
7. 後藤典子, 新学術領域研究 (公募研究), 2021.4.1-2022.3.31, 代表, 3,120 千円
8. 竹内康人, 科学研究費助成事業 若手研究, 2021.4.1-2027.3.31, 代表, 4,550 千円
9. 竹内康人, 基盤研究 B, 2021.4.1-2022.3.31, 分担, 130 千円
10. 竹内康人, 挑戦的萌芽研究, 2021.4.1-2023.3.31, 分担, 100 千円

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

Visiting Professor	Nicholas Barker (シンガポール A-STAR 研究所・主任研究員)
Associate Professor	Kazuhiro Murakami 村上 和弘
Assistant	Kenji Kita 北 賢二 (共同研究拠点)

【 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 spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia in the stomach following conditional KRasG12D driver mutation, highlighting their likely contribution to gastric cancer initiation *in vivo*.

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*.

<2022 年の研究成果, 進捗状況及び今後の計画>

1. 胃幹細胞を維持する分子機構の解明

Wnt シグナルの下流因子である転写因子 Sox9 が胃正常幹細胞の維持および胃がん幹細胞の悪性化に必須であることが明らかとなった。また, Sox9 は胃正常幹細胞の増殖抑制を導く一方, 胃がん幹細胞ではその効果を示さず, むしろ胃がんの悪性化を導くことが明らかとなった。この差は, がん抑制遺伝子 *p53* の変異状況に依存していることが明らかとなった。さらに, Sox9 下流で働く新規胃がん悪性化因子の同定に成功した。今後は, これらの因子が胃がん悪性化を導く詳細な分子機構を明らかにする。これらの結果は, 第 81 回 日本癌学会総会で口頭発表された。

2. 新規びまん性胃がんマウスモデルの開発

多くのびまん性胃がんで *RhoA* 遺伝子の変異がみられる。理化学研究所 生体モデル開発チームの清成寛チームリーダーらと共同で, 変異型 *RhoA* を発現する新規マウスを作成した。これらのマウスを *Cldn18-CreERT2/Cdh1* cKO マウスと交配し, 胃のみで *Cdh1* をノックアウトしつつ変異型 *RhoA* を誘導したところ, びまん性胃がんが生じた。しかし, これらの腫瘍は転移しなかったことから, 転移性胃がんを模倣するマウスモデルの作出を目指して *p53* cKO マウスとの交配を行った。現在, 得られたマウスにタモキシフェンを投与し, 胃のみで変異型 *RhoA* の誘導および *Cdh1* と *p53* のノックアウトを誘導し, 生じたびまん性胃がんが転移するかどうかの検証を行なっている。

【 研 究 業 績 】

<発表論文>

(共同研究)

1. Yamamoto D, Oshima H, Wang D, Takeda H, Kita K, Lei X, Nakayama M, Murakami K, Ohama T, Takemura H, Toyota M, Suzuki H, Inaki N, Oshima M. Characterization of RNF43 frameshift mutations that drive Wnt ligand- and R-spondin-dependent colon cancer, *J Pathol*, 257(1):39-52, 2022.

<学会発表>

村上和弘;

1. 第 81 回 日本癌学会学術総会「Analysis of mechanisms which regulate the tumour malignancy in *Lgr5* expressing gastric cancer cells」2022 年 9 月 29-10 月 1 日 パシフィコ横浜, 横浜

<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. AMED Interstellar Initiative Beyond [研究代表者：村上和弘]
「Targeting LGR5 and CENP-A in colorectal cancer」160 万円
3. 公益財団法人 三谷研究開発支援財団 2022 年度 研究開発助成 [研究代表者：村上和弘]
「胃がん幹細胞を「見つけて」「取り除く」核酸医薬品の探索」200 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 Professors	Yuko Tadokoro 田所優子, Masahiko Kobayashi 小林昌彦, Masaya Ueno 上野将也 Mahmoud Ibrahim Shoulkamy
Postdoctoral Researcher	Kenta Kurayoshi 倉吉健太
Graduate Students	Youngwei Jing, Loc Thi Pharm, Hiroki Gugiyama 杉山雄紀, Xi Chen, Yihang Gu, Yuhang Yan, 周美琦
Assistant Staff	Kazue Sawa 澤和恵, Yukiko Takai 高井由紀子

【 Abstract 】

Nutrients are converted by the body to smaller molecules, which are utilized for both anabolic and catabolic metabolic reactions. Cooperative regulation of these processes is critical for life-sustaining activities. Our group has been focusing on **how the regulation of nutrient-driven metabolism controls cell fate determination of stem cells and cancer cells**. For this purpose, we have examined the metabolic regulation from two perspectives: (1) the control of intracellular metabolism by the balance of anabolic and catabolic reactions; and (2) the control of organismal metabolic status by dietary intake of nutrients.

We have attempted to develop the novel therapeutics for malignant brain tumors (malignant gliomas) by identifying nutrient metabolic pathways that characterize malignant properties, such as mTOR, autophagy, and lysosomal biogenesis. We revealed that lysosomal membrane integrity is supported by autophagy (Lysophagy), and that compounds that induce lysosomal membrane permeability (LMP) cause cell death, mediated by calcium elevation and subsequently elevate mitochondria-derived ROS. Furthermore, several FDA-approved drugs targeting lysosomal functions showed remarkable efficacy in the treatment of brain tumors (Jing Y *et al*, Cancer Sci. 2022)(**Figure**). More interestingly, we have recently discovered that restriction of an amino acid enhanced sensitivity to GBM therapy by inducing LMP. Importantly, it did not have a pronounced effect on normal neural progenitor cells, indicating that targeting lysosome function is a novel therapeutic strategy of brain tumors (Jing Y. *et. Al. Submitted*).

Metabolic pathways involved in stress tolerance are important therapeutic targets in leukemia. We reported that RHEB-specific inhibition caused cell death of T-ALL by inhibition of pyrimidine and purine metabolisms (Pham TL *et al*. BBRC 2022). In addition, we revealed critical roles of FOXO-responsive element in differentiation blockade of acute myeloid leukemia (Kurayoshi *et al. Submitted*). Furthermore, for the medical and biotechnological applications, we have been working with collaboration experts in the different fields, such as chemistry, pharmacy, and information technology.

In conclusion, delving into how cancer behavior is influenced by nutrient-driven metabolism leads to the development of novel therapeutics useful for treating a variety of cancers.

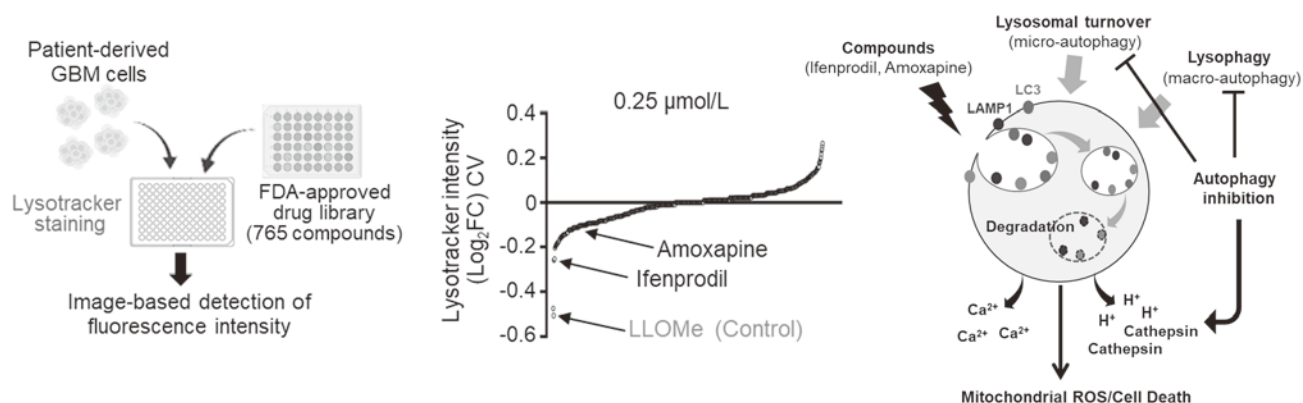
<2022 年の研究成果、進捗状況及び今後の計画>

様々な生体活動において、タンパク質、糖、脂質、ビタミン、ミネラル等の栄養素の摂取およびその代謝調節は極めて重要な役割を果たす。我々は、このような栄養代謝調節の観点から幹細胞の動態およびがんの悪性化制御機構を理解したいと考え、研究を進めている。そのため、(1) 幹細胞動態に関する異化・同化制御分子の特定と機能解析、(2) 食餌中の栄養素の変動がもたらす全身的栄養代謝変動と幹細胞制御に関して複数のプロジェクトを進めた。

リソソームは、細胞内消化のプロセスを通じて、傷害を受けたオルガネラや蛋白質などの処理、再利用など、細胞の品質管理に寄与する。脳腫瘍に関しても、その生存に必須の役割を果たすとされる一方で相反するデータも報告されるなど、一定の結論に至っていない。私たちは、今回、1. リソソーム膜透過性 (LMP) を惹起する化合物がリソソーム由来のカルシウム上昇を促し、その後、ミトコンドリア由来活性酸素を上昇させ細胞死を誘導すること、2. リソソーム膜堅牢性は、オートファジー (Lysophagy) によって保たれていること、3. FDA 承認薬の中でも、LMP を惹起する中枢神経系疾患薬が、脳腫瘍治療薬として顕著な有効性を示すことを見いだした (Jing Y *et al.* Cancer Sci. 2022) (図)。さらに、興味深いことに、特定のアミノ酸がリソソーム活性を制御することで、治療感受性を規定していることを見いだした (Jing Y *et al.* 投稿中)。

ストレス耐性に関与する代謝経路は、白血病の重要な治療標的である。私たちは、RHEB 特異的阻害が、核酸合成を阻害することで T-ALL の効率的治療につながることを報告した (Pham TL *et al.* BBRC2022)。また、FOXO 応答性エレメントが急性白血病の分化ブロックに重要な役割を果たすことを明らかにした (Kurayoshi *et al.* 投稿中)。さらに、これらの知見を活用し、化学、薬学、情報技術など異分野の専門家とのコラボレーションにより、医学・バイオテクノロジー分野への応用に取り組んでいる。

以上のように、がんの挙動が栄養代謝にどのように影響されるかを掘り下げることは、さまざまながんの治療に有用な新規治療薬の開発につながると期待される。



A novel GBM therapy by targeting of lysosomal membrane integrity

【 研 究 業 績 】

< 発表論文 >

原著

(分野主体)

1. Jing Y, Kobayashi M, Vu HT, Kasahara A, Chen X, Pham LT, Kurayoshi K, Tadokoro Y, Ueno M, Todo T, Nakada M, Hirao A. Therapeutic advantage of targeting lysosomal membrane integrity supported by lysophagy in malignant glioma. *Cancer Sci.* 2022, 113:2716-2726.
2. Pham LT, Peng H, Ueno M, Kohno S, Kasada A, Hosomichi K, Sato T, Kurayoshi K, Kobayashi M, Tadokoro Y, Kasahara A, Shoulkamy MI, Xiao B, Worley PF, Takahashi C, Tajima A, Hirao A. RHEB is a potential therapeutic target in T cell acute lymphoblastic leukemia. *Biochem Biophys Res Commun.* 2022, 621:74-79

(共同研究)

3. Hiraiwa M, Fukasawa K, Iezaki T, Sabit H, Horie T, Tokumura K, Iwahashi S, Murata M, Kobayashi M, Park G, Kaneda K, Todo T, Hirao A, Nakada M, and Hinoi E. SMURF2 phosphorylation at Thr249 modifies the stemness 1 and tumorigenicity of glioma stem cells by regulating TGF- β receptor stability. *Commun. Biol.* 2022, 5:22.
4. Tanabe M, Hosokawa K, Nguyen MAT, Nakagawa N, Maruyama K, Tsuji N, Urushihara R, Espinoza L, Elbadry MI, Mohiuddin M, Katagiri T, Ono M, Fujiwara H, Chonabayashi K, Yoshida Y, Yamazaki H, Hirao A, Nakao S. The GPI-anchored protein CD109 protects hematopoietic progenitor cells from undergoing erythroid differentiation induced by TGF- β . *Leukemia* 2022 36:847-855.
5. Harada Y, Sujino T, Miyamoto K, Nomura E, Yoshimatsu Y, Tanemoto S, Umeda S, Ono K, Mikami Y, Nakamoto N, Takabayashi K, Hosoe N, Ogata H, Ikenoue T, Hirao A, Kubota Y, Kanai T. *iScience.* 2022, 25:104021.

総説

6. Tadokoro Y, Hirao A. The Role of Nutrients in Maintaining Hematopoietic Stem Cells and Healthy Hematopoiesis for Life. *Int J Mol Sci.* 2022, 23:1574.

< 学会発表 >

1. Hirao A: Cell fate decision by nutrient-related metabolic regulation in malignant progression. JSPS Core-to-Core Program Symposium on Hematopoiesis and Leukemia. 2022 年 1 月 13-14 日, 熊本
2. 平尾敦: 栄養および免疫制御を介した造血幹細胞の発がん・老化, 第 8 回がんと代謝研究会, 2022 年 7 月 19-22 日, 佐渡
3. 田所優子: 加齢に伴う免疫変化による造血幹細胞エイジング進展機構, 第 32 回日本サイトメトリー学会学術集会, 2022 年 5 月 28-29 日, WEB 開催

4. 田所優子: 造血幹細胞競合のシステム変容と造血老化, 学術変革領域研究 (A)「競合的コミュニケーションから迫る多細胞生命システムの自律性」第 2 回 領域班会議, 2022 年 12 月 13-15 日, 金沢
5. Kobayashi M, Jing Y, Hirao A: Identification of regulatory molecules of mesenchymal phenotype in glioblastoma, 第 81 回日本癌学会学術総会, 2022 年 9 月 29 日-10 月 1 日, 横浜
6. 上野将也, 平尾敦: mTOR 複合体による白血病の治療体制制御機構の解明, 第 26 回 造血器腫瘍研究会, 2022 年 1 月 21 日-1 月 22 日, WEB 開催
7. Jing Y, Kobayashi M, Hirao A: A novel therapeutic strategy for glioma by targeting lysosome membrane integrity combined with amino acid restriction, 第 81 回日本癌学会学術総会, 2022 年 9 月 29 日-10 月 1 日, 横浜

<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」8,300 千円
2. 平尾敦: 挑戦的研究 (萌芽) R3~R4 年度「造血器腫瘍の治療および予防に資する代謝物探索システムの構築」2,000 千円
3. 平尾敦: 次世代がん医療加速化研究事業 R4~R5 年度「悪性化に伴う栄養代謝制御を標的とした革新的がん創薬に関する研究開発」18,000 千円
4. 田所優子: 基盤研究 (C) R4~R6 年度「加齢に伴う造血幹細胞ニッチ変容の解明」1,100 千円
5. 田所優子: 学術変革領域研究 (A) R4~R5 年度「造血の加齢変化における幹細胞競合パラドックスの解明」4,200 千円
6. 田所優子: 日本血液学会 2022 年度研究助成「造血-免疫連関における栄養環境変化の役割」1,000 千円
7. 田所優子: 金沢大学戦略的研究経費 先魁プロジェクト 2022 (分担) R4~R5 年度「先進的な健康長寿延伸医療の開発を目指した老化メカニズムの解明」1,500 千円
8. 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」800 千円
9. 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」1,300 千円
10. 倉吉健太: 若手研究 R3~4 年度「リソソーム代謝経路が規定する白血病幹細胞の未分化性維持機構の解明」1,900 千円

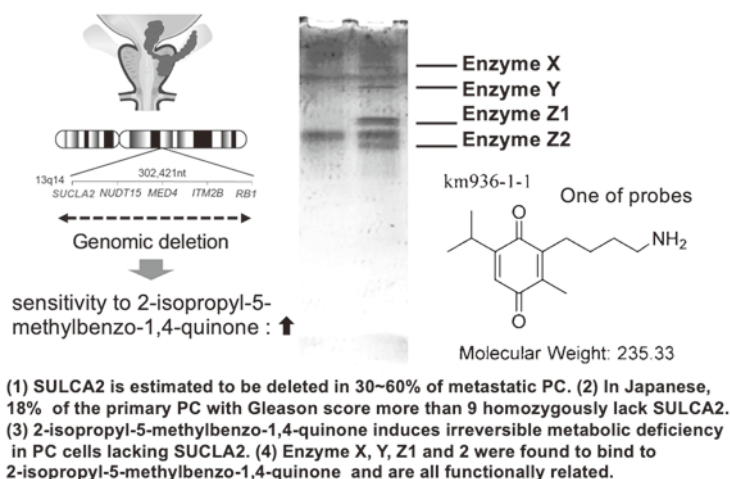
Division of Oncology and Molecular Biology 腫瘍分子生物学研究分野

Professor	Chiaki Takahashi 高橋 智聡
Assistant Professors	Susumu Kohno 河野 晋 Santosh Kumar Gothwal (2022.4.1～) Nakayama Joji 中山 淨二 (2022.8.1～)
Graduate Students	Yu Hai 余 海, Gong Linxiang 龔 麟祥, Kana Teranishi 寺西 夏菜 (～2022.3.31) , Zhang Yuanyuan 張 園園, Zhang Zixue 張 子雪, Yu Jinghui 于 靖暉, Renata Akhmetzianova, Quan Ruifang 權 瑞方, Yu Peifu 于 沛夫, Nada Hamdy Mohamed Hussein (2022.10.1～) , Yao Ziheng 姚 子衡 (2022.4.1～) , Pan Junjian 潘 俊堅 (2022.4.1～) , Sarah Momtazkari (2022.4.1～)
Technical Assistant	Naoko Nagatani 永谷 直子

【 Abstract 】

Cancers are RB1-positive or -negative. We tried to obtain rationales to expand the usage of CDK4/6 inhibitors to KRAS adenocarcinomas including LUAD, PDAC and COAD. We found sustained under-phosphorylation of RB1 induces feedbacks to a variety of druggable mitogenic signaling hampering the efficacy of CDK4/6 inhibitors. We assessed the influence of STK11/LKB1 and KEAP1 status on the sensitivity by which RB1-intact KRAS LUADs respond to a KRAS inhibitor AMG510. We explored number of promising therapeutic targets in RB1-negative tumors. In addition to a variety of mitotic kinase inhibitors which worsen the chromosomal instability in RB1-negative status, intervention to fatty acid elongation and mitochondrial cholesterol targets as well as thus far identified cytokines or chemokines might bear novel therapeutic opportunities. Based the collaboration with Jikei University School of Medicine, we identified a considerable percentage of SUCLA2-deleted cases in advanced PC Japanese patients. We are developing a method for rapid diagnosis of such patients using ctDNA in blood. 2-isopropyl-5-methylbenzo-1,4-quinone (TQ) had appeared to exhibit therapeutic effects on SUCLA2-negative PC. This year, we identified four cellular molecules that bind to TQ (Figure). Three of them explain the efficacy of TQ onto SUCLA2-deficient PC cells. RECK appeared to bind to GPR124 to regulate the WNT signaling in PDAC. RECK was found to be downregulated in CAFs trained with neighboring BC cells. Loss of RECK in CAF seems to

support the malignant progression of BC. Two new assistant professors are studying the mechanism of B cell lymphoma development in germinal center focusing on the difference of cell motility between when in light and dark zone, and genes involved in BC metastasis using the Zebrafish gastrulation system.



<2022 年の成果，進行状況と今後の計画・展望>

CDK4/6 阻害剤の適応拡大のためのコンビネーションセラピーを昨年度発表した肝細胞がんを引き続き KRAS 肺がん，膵臓がん，大腸がんにおいて検討した。CDK4/6 阻害剤によって誘導される RB1 無リン酸化状態が様々な druggable 増殖シグナルへのフィードバックを引き起こす発見をなした。これらのシグナルの同時抑制は CDK4/6 阻害剤と顕著な相乗的治療効果を発揮した（特許出願準備中）。KRAS 肺がんの KRAS^{G12C} 阻害剤 AMG510 への感受性発揮において STK11/LKB1 と KEAP1 の同時欠失が与える影響を腫瘍微小環境も含め検討した。RB1 陰性がん克服への取り組みを引き続き行い，脂質代謝関連酵素の複数に治療標的としての有効性を見出した。この過程において RB1 依存的な細胞分化に関わる cholesterol の新規標的蛋白質を同定した。進行前立腺がんにおいて RB1-SUCLA2 染色体領域の広範な欠失が起こること，および，2-isopropyl-5-methylbenzo-1,4-quinone（特願：2019-228526 審査請求開始）がこのタイプの患者に有効である可能性を報告している。AMED P-ROMOTE の技術支援と本学三代・国嶋・渡部らとの共同研究によりこの分子に結合する代謝遺伝子産物 4 種を同定した（図）。うち SUCLA2 欠失との合成致死性が判明した酵素 1 種に対する阻害剤の新規創薬デザインに着手した。東京慈恵会医科大学泌尿器科との共同研究により日本人症例における SUCLA2 欠失の実態を探索した。Gleason スコア値と SUCLA2 欠失頻度がぴたりと相関した。進行前立腺がん患者血中 ctDNA による SUCLA2 欠失迅速診断キットの開発を行っている。RECK と GPR124 の結合が膵臓がんの WNT シグナルを制御するメカニズムを探索。乳がん CAF における RECK の発現抑制が同がん腫の挙動に与える影響も検討している。本年度参入した助教 2 名はそれぞれ胚中心における B 細胞リンパ腫の発生機構と乳がん転移機構の研究を開始した。後者はゼブラフィッシュを用いる。

【 研 究 業 績 】

< 発表論文 >

原著論文

(研究室主体)

1. Okada N, Ueki C, Shimazaki M, Tsujimoto G, Kohno S, Muranaka H, Yoshikawa K and Takahashi C. NFYA promotes the malignant behavior of triple-negative breast cancer through the regulation of lipid metabolism. *bioRxiv* 2022. doi: 0.1101/2022.05.26.493660 (共同研究)
1. Murata T, Hashimoto K, Kohno S, Takahashi C, Yamaguchi M, Ito C, Itoigawa M, Kojima R, Hikita K and Kaneda N. Chemical inducer of regucalcin attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in pancreatic MIN6 β -cells and RAW264.7 macrophages. *FEBS Open Bio* 12:175-191, 2022. doi: 10.1002/2211-5463.13321
2. Oo SM, Oo HK, Takayama H, Ishii KA, Takeshita Y, Goto H, Nakano Y, Kohno S, Takahashi C, Nakamura H, Saito Y, Matsushita M, Okamatsu-Ogura Y, Saito M and Takamura T. Selenoprotein P-mediated reductive stress impairs cold-induced thermogenesis in brown fat. *Cell Reports* 38(13): 2022 Mar 29, 110566 doi:10.1016/j.celrep.2022.110566
3. Loc PT, Hui Peng H, Ueno M, Kohno S, Kasada A, Hosomichi K, Sato T, Kurayoshi K, Kobayashi M, Tadokoro Y, Kasahara A, Shoulkamy MI, Xiao B, Worley PF, Takahashi C, Tajima A, and Hirao A. RHEB is a potential therapeutic target in T cell acute lymphoblastic leukemia. *BBRC* 621:74-79, 2022. doi: 10.1016/j.bbrc.2022.06.089
4. Okahashi N, Shima T, Kondo Y, Araki C, Tsuji S, Sawai A, Uehara H, Kohno S, Shimizu H, Takahashi C and Matsuda F. Aerobic glycolysis in cancer cells supplies ATP while preventing excess metabolic thermogenesis. *bioRxiv* 2022. doi: 10.1101/2021.11.16.468557

(著書・総説)

1. Takahashi C and Kato J. Targeting Abnormal Cell Cycle in Cancer: A Preface to the Special Issue. *Onco* 2 34-35, 2022. doi.org/10.3390/onco2010003
2. 河野晋. 実験医学 News and Hot Paper Digest 「翻訳をハイジャックせよ」 Vol.40 No.6 p896, 2022 小笠原 理 編, 羊土社刊

< 学会発表 >

1. Gothwal KS, Kohno S, Sato A and Takahashi C. A mutant p53 P72R driven modulation of CXCR5-CXCL13 axis in human B cell lymphoma migration. 18th International p53 Workshop 2022 年 5 月 22 日 (Rehovot, Israel/ Michael Sela Auditorium Weizmann Institute of Science 5/22-25 ポスター)

2. 龔 麟祥, Dominic Chih-Cheng Voon, 高橋智聡, 河野晋. RB 欠損は ERK 経路の不活性化を介して MYC を不安定化させる. 日本生化学会北陸支部 第 40 回大会 2022 年 6 月 4 日 (富山市/富山大学杉谷キャンパス 6/4 口頭)
3. Zhang Y, Gothwal KS, Kohno S, Sheng J, Takahashi C. Application of CDK4/6 inhibition therapies to PDACs. The 7th JCA-AACR Special Joint Conference 2022 年 7 月 9 日 (京都市/京都ブライトンホテル 7/8-10 ポスター)
4. 河野晋, 曾我朋義, 高橋智聡. RB 欠失による脆弱性を標的とした前立腺がん治療法の探索. 第 8 回がんと代謝研究会 2022 年 7 月 20 日 (佐渡市/あいぼーと佐渡 7/19-22 口頭)
5. Takahashi C, Linn P, Mishiro K, Kunishima M, Watanabe Y and Kohno S. Targeting cancers carrying *RBI-SUCLA2* deletion. Mechanisms & Models of Cancer. Cold Spring Harbor Laboratory Meetings 2022 年 8 月 16 日 (New York/Cold Spring Harbor Laboratory 8/16-8/20 ポスター)
6. 河野晋, 高橋智聡. RB 欠失による脆弱性を標的とした前立腺がん治療法の探索. 第 80 回日本癌学会学術総会 2022 年 10 月 1 日 (横浜市/パシフィコ横浜 9/29-10/1 口頭)
7. 張園園, Gothwal KS, 河野晋, 盛金丹, 高橋智聡. PDAC に対する Cdk 4/6 阻害療法の応用. 第 80 回日本癌学会学術総会 2022 年 10 月 1 日 (横浜市/パシフィコ横浜 9/29-10/1 ポスター)
8. Gothwal KS, Kohno S, Sato A and Takahashi C. A mutant p53 P72R driven modulation of CXCR5-CXCL13 axis in human B cell lymphoma-migration. 第 80 回日本癌学会学術総会 2022 年 9 月 30 日 (横浜市/パシフィコ横浜 9/29-10/1 ポスター)
9. Zhang Y, Gothwal KS, Kohno S, Sheng J, Takahashi C. Application of CDK4/6 inhibition therapies to PDACs. 第 17 回生命医科学研究所ネットワーク国際シンポジウム/令和 4 年度金沢国際がん生物学シンポジウム 2022 年 10 月 14 日 (金沢市/金沢大学ナノ生命科学研究所 10/13-10/14 ポスター)
10. 河野晋, 高橋智聡. SUCLA2 遺伝子欠失前立腺がんに対する thymoquinone の治療効果. 第 66 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会 2022 年 11 月 5 日 (沖縄県西原町/琉球大学千原キャンパス 11/5-7 口頭)
11. 河野晋. アジレント細胞解析ウェビナーシリーズ 2022
「RB 不活性化による代謝リモデリングと治療標的の可能性」
2022 年 12 月 14 日 オンライン

<外部資金> (2022 年度/ R4 年度が含まれる課題)

高橋智聡

1. 科学研究費補助金 基盤研究 (B) R2～R5 年度「RB がん抑制遺伝子の代謝制御機能」(代表) 3,300 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) 1,000 千円

3. 次世代がん医療創生研究事業（AMED）R3～R4 年度「SUCLA2 遺伝子欠失を標的とする進行前立腺がんの新規治療法開発」（代表）4,000 千円＋調整費 11,500 千円
4. The Hospital Research Foundation Grant 2022-S-DTFA-004-QA25222 (Australia)
A novel model to investigate the contribution of fat metabolism to breast cancer. （分担）
CIs: S Kumar, L Dorstyn and C Takahashi. Total amount: AU\$ 99,970 （総額）

河野 晋

1. 科学研究費補助金 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）800 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）1,000 千円
3. 次世代がん医療創生研究事業（AMED）R3～R4 年度「SUCLA2 遺伝子欠失を標的とする進行前立腺がんの新規治療法開発」（分担）2,500 千円

Santosh Kumar Gothwal

1. 科学研究費補助金 若手研究 R3～R5 年度「Different roles of C/EBP-alpha in chromosome conformation during lung injury of young and old mice.」（代表）1,300 千円

中山 淨二

1. 科学研究費補助金 基盤研究（C）R3～R5 年度「乳がん細胞内の HSD11β1 によるホルモン生産が転移を亢進する分子機構の解明」（代表）900 千円

<その他>

高橋智聡 金沢大学公開講座 「がんを治す～がんの遺伝子診断と治療法の進歩～」
2022 年 5 月 21 日金沢大学サテライトプラザ

Division of Cancer and Senescence Biology

がん・老化生物学研究分野

Professor	Yoshikazu Johmura 城村 由和
Associate Professor	Tomohisa Baba 馬場 智久
Assistant Professor	Yasuhiro Nakano 中野 泰博
Technical Assistant	Yoshie Jomen 定免 由枝

【 Abstract 】

We aim to elucidate the molecular mechanisms of induction, maintenance, and function of senescent cells *in vivo*, and to develop innovative approaches to control senescent cells (Senotherapy), such as selective removal of senescent cells and cell rejuvenation by altering epigenomic information. In this year, we focused our research on the following two issues.

【1】 A mechanism for the accumulation of senescent cells *in vivo* during aging

Little is known about the molecular basis underlying the accumulation of senescent cells and its potential as a target to ameliorate the ageing process. We found that senescent cells heterogeneously express the immune checkpoint protein pPD-L1 and that PD-L1+ senescent cells accumulate with age *in vivo*. Administration of PD-1 antibody to naturally ageing mice a mouse model of non-alcoholic steatohepatitis reduces the total number of p16+ cells *in vivo* as well as the PD-L1+ population by augmenting cytotoxic activity of CTL, ameliorating various ageing-related phenotypes. These results suggest that the heterogeneous expression of PD-L1 has an important role in the accumulation of senescent cells and inflammation associated with ageing (Wang TW et al, Nature 2022).

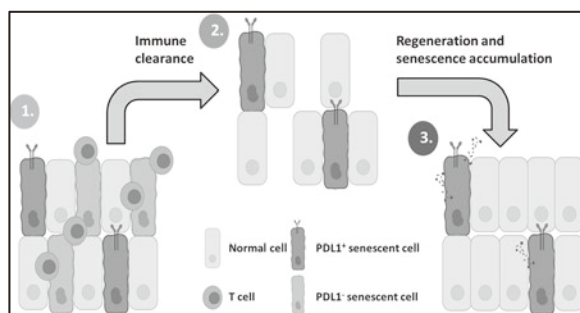
【2】 A mechanism for the maintenance of proteostasis and its implication in senescence

Protein misfolding is a major cause of neurodegenerative diseases. Post-mitotic neurons are highly susceptible to protein aggregates that are not diluted by mitosis, which are unable to be degraded during mitosis. To avoid an accumulation of protein aggregates, post-mitotic cells may have a specific protein quality control (PQC) system. We found that LONRF2 is a bona fide protein quality control ubiquitin ligase induced in post-mitotic senescent cells. LONRF2 binds and ubiquitylates abnormally structured TDP-43 and hnRNP M1 and artificially misfolded proteins. Under unperturbed conditions, LONRF2 is predominantly expressed in neurons, and LONRF2^{-/-} mice exhibit age-dependent TDP-43-mediated motor neuron degeneration and cerebellar ataxia. Furthermore, Mouse iPS cell-derived motor neurons lacking LONRF2 showed reduced survival, shortening of neurites, and accumulation of pTDP-43 and G3BP1 after long-term culture (In revision).

<2022 年の研究成果、進捗状況及び今後の計画>

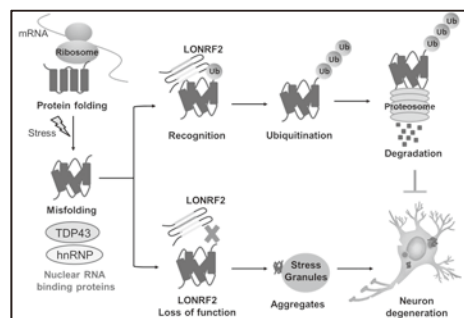
1. 加齢に伴い老化細胞が体内に蓄積するメカニズムの解明

不可逆的な細胞増殖停止・生理活性因子の分泌等の特徴を示す細胞、いわゆる『老化細胞』の蓄積は、加齢に伴う炎症の主な原因であり、様々な加齢性疾患の素因となると考えられている。しかし、老化細胞の蓄積の分子的基盤は不明であった。老化細胞可視化マウスを用いた一細胞レベルでの老化細胞の解析により、老化細胞が免疫チェックポイントタンパク質である PD-L1 を不均一に発現していること、PD-L1 陽性老化細胞は生体内で加齢とともに蓄積するとともに、過剰なタンパク質凝集体の形成や強い炎症機能を有していることを明らかにした。さらに、PD-L1 陽性細胞は T 細胞による免疫監視に抵抗性を示すこと、免疫チェックポイント阻害剤として臨床応用されている抗 PD-1 抗体を自然老化マウスや非アルコール性脂肪肝炎マウスに投与すると、活性化 CD8 陽性 T 細胞依存的に体内に蓄積した老化細胞の数が大きく減少し、老化に関連するさまざまな表現型が改善されることも分かった (Wang TW et al, Nature 2022)。



2. タンパク質恒常性維持メカニズムの解明とその破綻による老化制御

タンパク質恒常性維持機構の解明を目的として、老化細胞の安定的な長期培養系を用いた網羅的遺伝子発現解析を行った結果、正常な細胞と比較して老化細胞で発現が上昇する遺伝子の一つにユビキチンリガーゼをコードしている LONRF2 を見出した。LONRF2 は、TDP-43 や hnRNP M1 などの異常な構造を持つタンパク質や、人為的にミスフォールドしたタンパク質に結合し、ユビキチン化することが分かった。LONRF2 遺伝子欠損マウスの作製・解析を行ったところ、年齢依存性の運動ニューロン変性と小脳失調症を示すことが分かった。LONRF2 遺伝子欠損マウス iPS 細胞から作製した運動神経細胞は長期培養により、生存率の低下、神経突起の短縮、pTDP-43 や G3BP1 の蓄積を示すことも分かった。これらの結果から、LONRF2 は PQC リガーゼであり、その欠損が運動ニューロンの変性や運動障害に関与している可能性が示唆された (In revision)。



3. 今後の計画

老化細胞可視化・除去マウスを用いて、特に肝疾患・骨髄 DNA 損傷モデルを中心に、がん組織及びその周辺組織の老化細胞の全体像を明らかにすることで、個体老化とがんの発症率増加・悪性化進展のメカニズムを解明する。

【研究業績】

<発表論文>

原著

(研究室主体)

1. Wang TW, Johmura Y, Suzuki N, Omori S, Migita T, Yamaguchi K, Hatakeyama S, Yamazaki S, Shimizu E, Imoto S, Furukawa Y, Yoshimura A, Nakanishi M. Blocking PD-L1-PD-1 improves senescence surveillance and ageing phenotypes. *Nature* 2022 611(7935):358-364.

(共同研究)

2. Reyes NS, Krasilnikov M, Allen NC, Lee JY, Hyams B, Zhou M, Ravishankar S, Cassandras M, Wang C, Khan I, Matatia P, Johmura Y, Molofsky A, Matthay M, Nakanishi M, Sheppard D, Campisi J, Peng T. Sentinel p16INK4a+ cells in the basement membrane form a reparative niche in the lung. *Science* 2022 378(6616):192-201.
3. Zhu J, Wu W, Togashi Y, Taira Nihira N, Johmura Y, Zhu D, Nakanishi M, Miyoshi Y, Ohta T. Alteration of Trop-2 expression in breast cancer cells by clinically used therapeutic agents and acquired tamoxifen resistance. *Breast Cancer* 2022 29(6):1076-108.
4. Nakano Y, Nakao S, Sueoka M, Kasahara D, Tanno Y, Sumiyoshi H, Itoh T, Miyajima A, Hozumi K, Inagaki Y. Two distinct Notch signals, Delta-like 4/Notch1 and Jagged-1/Notch2, antagonistically regulate chemical hepatocarcinogenesis in mice. *Communications Biology* 2022 21;5(1):85.

著書・総説

1. 城村由和, 中西真: 【老化細胞を標的とした Senolytics への挑戦 加齢性疾患を引き起こすメカニズムの理解と治療への展開】代謝性疾患と細胞老化 *実験医学* 2022 40(3): 395-400
2. 大森徳貴, 城村由和, 中西真: 〈Basic Science〉T細胞の疲弊, 老化と寿命 老化細胞除去による老化形質の改善 *炎症と免疫* 2022 30(4): 317-320
3. 城村由和, 荒谷紗絵, 中西真: 老化細胞を殺して若返る *生体の科学* 2022 73(3): 278-282
4. 城村由和, 中西真: 老化細胞の除去による加齢関連疾患の制御 *感染・炎症・免疫* 2022 52(1): 46-47

<学会発表>

1. 城村由和: Escape from senescence surveillance by PD-L1-PD-1 immune checkpoint and its blockade ameliorates various senescence-associated disorders. 2nd Chinese Oncology Young Elite Summit 2022 年 12 月 3 日, Web 開催
2. 城村由和: リソソーム恒常性維持の破綻による老化細胞形質の獲得メカニズム. 第 95 回日本生化学会大会 2022 年 11 月 9-11 日, 名古屋
3. Johmura Y: Identification and functional analysis of senescent cells in tumor microenvironment. 第 17 回生命医科学研究所ネットワーク国際シンポジウム 2022 年 10 月 13~14 日, 金沢

4. 馬場智久, 城村由和: Cytosolic DNA-sensor signaling potentiates AML differentiation therapy to induce an irreversible differentiation. 第 81 回日本癌学会学術総会 2022 年 9 月 29 日～10 月 1 日, 横浜
5. Johmura Y: Targeting immune escape mechanism in senescent cells ameliorates various senescence-associated disorders. 第 23 回北東アジアシンポジウム 2022 年 9 月 1～2 日, 東京
6. 中野泰博, 宮島篤, 木戸丈友: ヒト iPS 細胞由来肝星細胞の脱活性化誘導に立脚した肝線維症治療薬の開発. 第 29 回肝細胞研究会 2022 年 8 月 25～26 日, 東京
7. 城村由和: 組織恒常性の破綻と予防・修復 老化細胞の免疫監視機構の解明による新たな個体老化制御法の可能性. 第 32 回日本サイトメトリー学会学術集会 2022 年 5 月 28～29 日, Web 開催

<外部資金>

1. 城村由和: 科学研究費・基盤研究 (B) (代表)「新規マウスモデルを用いた細胞老化制御機構の解明による『老い』の分子基盤の構築」 (直接経費 3,200 千円, 間接経費 960 千円)
2. 城村由和: 科学研究費・挑戦的研究 (萌芽) (代表)「個体老化・加齢関連疾患の理解を目指した変性タンパク質アトラスマップの構築」 (直接経費 2,500 千円, 間接経費 750 千円)
3. 城村由和: AMED・PRIME (代表)「加齢に伴うプロテオスタシス破綻のメカニズム解明に基づく老化制御法の開発」 (直接経費 10,000 千円, 間接経費 3,000 千円)
4. 城村由和: 先魁プロジェクト 2022 (代表)「先進的な健康長寿延伸医療の開発を目指した老化メカニズムの解明」 (直接経費 2,000 千円, 間接経費 0 千円)
5. 城村由和: 第 54 回内藤記念科学奨励金・研究助成 (代表)「健康寿命延伸の先進的技術基盤となる老化細胞リプログラミング機構の解明」 (直接経費 3,000 千円, 間接経費 0 千円)
6. 城村由和: 第 36 回北國がん基金助成 (代表)「膵管腺がん微小環境に存在する老化細胞の統合的理解による新規がん治療法の開発」 (直接経費 1,000 千円, 間接経費 0 千円)
7. 馬場智久: 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)
8. 馬場智久: 科学研究費・基盤研究 (C) (分担)「時空間的解析による大動脈瘤発生から進行過程でのケモカイン・システムの機能解明」 (直接経費 300 千円, 間接経費 0 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
Assistant Staff	Shoko Hosojima	細島 祥子
Research Cooperator	Hiroko Kushiya	串山 裕子

【 Abstract 】

We have been studying the molecular mechanism and biological roles of apoptosis and pyroptosis, both of which are mediated by caspases. In contrast to apoptosis which often results in non-inflammatory and/or immunosuppressive outcomes, pyroptosis is a highly inflammatory and immunogenic form of cell death. Thus, pyroptosis may be a more preferable way than apoptosis to kill tumor cells to induce anti-tumor immunity in therapy.

Pyroptosis was originally discovered as a necrotic form of programmed cell death of macrophages infected by pathogens. In this context, innate immunity activators derived from pathogens (pathogen-associated molecular patterns = PAMPs) induce formation of multiprotein complex called inflammasomes, which consist of pattern recognition receptors (such as NLRP3, NLRC4, and AIM2), an adaptor protein ASC, and caspase-1, and cause caspase-1 activation. Some PAMPs including lipopolysaccharide induce oligomerization and activation of caspase-4 and caspase-5. These caspases (caspase-1,4,5) cleave a cytoplasmic protein gasdermin D (GSDMD), and the N-terminal fragments of GSDMD forms pores in the plasma membrane to induce pyroptosis.

We have found that a motor protein KIF11 contributes to inflammasome formation and induction of pyroptosis. KIF11 interacts with multiple inflammasome components including caspase-1, NLRP3, and NLRC4, but not with ASC. We are currently investigating how KIF11 contribute to the inflammasome assembly.

We are searching for novel proteases that mediates the proteolytic maturation of GSDMs. Recently we found that caspase-12 cleaves GSDMD and induces pyroptosis. We also identified bacterial PAMPs that activates the proteolytic maturation of caspase-12. Thus, caspase-12 may be a novel sensor for the bacterial PAMPs.

＜2022 年の研究成果，進捗状況及び今後の計画＞

1. 自然免疫応答におけるモーター蛋白 KIF11 の役割の解析

両端にモータードメインを配置した 4 量体を形成し，隣接する細胞分裂期の微小管を架橋して反平行にスライドさせる力を発生する KIF11 が NLR の細胞内輸送に際して単一の微小管の上を運動するモータータンパクとして機能するための新規の分子機構を想定し，その仮説を裏付けるための HEK293 細胞を用いた免疫沈降実験を行なった。微小管と結合する一方の 2 量体がもう一方の 2 量体を介して NLR と結合した複合体が形成しうることを示唆する結果を得た。引き続き，native PAGE のシステム等を用いて想定している複合体の形成の証明を試みる。また，レコンビナント蛋白を用いた in vitro システムで KIF11 が微小管の上を運動するモータータンパクとして機能することを示すイメージ画像を取得することも試みる。

2. パイロトーシスを誘導する新規カスパーゼの同定とそのパイロトーシス誘導機構の解明

パイロトーシスは病原体由来物質（pathogen-associated molecular patterns = PAMPs）や死細胞由来物質(danger-associated molecular patterns = DAMPs)などによって誘導されるネクロトーシス様の炎症誘導性プログラム細胞死である。パイロトーシスは，PAMPs や DAMPs がパターン認識受容体(pattern recognition receptors = PRRs)と呼ばれるセンサー分子を介してカスパーゼ 1,4,5 を活性化し，さらにこれらのカスパーゼがガスダーミン(GSDMD)D を切断することで生じた GSDMD の N 末断片が細胞膜に孔を形成することで誘導される。今回我々は，特定の生物種由来のカスパーゼ-12 が GSDMD を活性化することを見出した。さらに，カスパーゼ-12 が細菌由来分子パターンによって活性化されることが明らかになり，同分子が新しい病原体センサーである可能性が示唆された。現在，その活性化機序について詳細な解析を続けている。その他，GSDMD ファミリー分子を活性化させる細菌/真菌由来のプロテアーゼの探索やパイロトーシスを引き起こしやすい抗がん剤の探索などを行っている。

3. マスト細胞におけるインフラマソーム応答の特徴と役割の解明

インフラマソームは病原体感染などの刺激に応答し，カスパーゼ 1 の活性化に働く巨大蛋白複合体である。マクロファージでは，活性化カスパーゼ 1 は IL-1 β や IL-18 を成熟型に転換するとともに，GSDMD を切断してパイロトーシスを誘導する。我々は，マスト細胞や神経細胞は GSDMD の発現が低く，カスパーゼ 1 が活性化してもパイロトーシスは誘導されず，Bid 依存性のアポトーシスが誘導されることを見出した。現在，この細胞死様式の違いがマスト細胞のインフラマソーム応答に与える影響を明らかにすることを目指した研究を行っている。

【 研 究 業 績 】

<発表論文>

原著

(共同研究)

Tanishita Y, Sekiya H, Inohara N, Tsuchiya K, Mitsuyama M, Núñez G, Hara H. Listeria toxin promotes phosphorylation of the inflammasome adaptor ASC through Lyn and Syk to exacerbate pathogen expansion. Cell Reports, 38:110414, 2022.

<学会発表>

1. Kinoshita T, Tsuchiya K, and Suda T. Kinesin molecular motor Eg5 functions during innate immune responses. 第 45 回日本分子生物学会年会. 幕張メッセ, 2022 年 11 月 30 日
2. 土屋晃介, 細島祥子, 須田貴司. パイロトーシスを誘導する新規カスパーゼの同定と活性化機序の解明. 第 33 回日本生体防御学会学術総会. 鹿児島大学. 2022 年 9 月 15~17 日.
3. 土屋晃介. パイロトーシスを誘導する新規カスパーゼの同定と活性化機序の解明. 第 3 回 細胞死コロキウム. 東京大学. 2022 年 11 月 18 日

<外部資金>

1. 須田貴司 (代表) 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 3,800 千円
2. 土屋晃介 (代表) 科学研究費 挑戦的研究 (萌芽)「ガスダーミン・ファミリー分子を成熟化させる細菌・真菌由来プロテアーゼの探索」直接経費 2,300 千円
3. 土屋晃介 (分担) 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 300 千円
4. 土屋晃介 (分担) AMED 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策実用化研究事業「過栄養による肝細胞死の様式変容とその生活習慣病発症・増悪のメカニズムの解明」直接経費 1,000 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 Neval Yilmaz (ナノ生命科学研究所)
Research Fellow	Nichole Marcela Rojas Chaverra
Graduate Student	Borui Lee
Undergraduate Student	Asuka Kida 喜田 明日香
Assistant Staff	Natsuko Higashi 東 奈津子

【 Abstract 】

Our research is focusing on 1) discovery of new physiological function of MET/HGF receptor, 2) mechanism and detection of metastatic niche formation by HGF-MET activation, 3) dynamic structure of MET receptor activation revealed by atomic force microscopy (AFM), and 4) drug discovery based on cyclic peptides and protein engineering. Our research progresses in 2022 are followings. (1) As an innate immunity, infection of RNA virus induces inflammatory cytokine production in epithelial cells. MET intracellularly facilitates MAVS aggregation in mitochondria, which induces inflammatory cytokine production. This innate immune response does not depend on tyrosine kinase activity of MET. Promotion of innate immune response is new function of MET regulated by non-canonical kinase-independent mechanism (by Imamura). (2) The processing from precursor inactive HGF to active HGF occurred in the lung before the colonization of tumor cells. Active HGF was not seen in normal lung, while it was generated before tumor cell colonization. HGF-induced epithelial MET activation induced expression of genes closely involved in metastatic niche formation. Metastatic niche formation was suppressed by HiP-8 (HGF-inhibitory Peptide-8), selective inhibitor of active HGF, in sustained-release material. Processing of HGF, rather than de novo HGF production, in distant site facilitates MET activation which promotes premetastatic niche formation (by Sato). (3) High-speed AFM analysis revealed dynamic 2:2 structure of HGF and MET purified from living cells, and the structure was different from structures proposed by previous studies (by Yilmaz). (4) Employing Lasso-Graft technology, high-performance MET receptor agonists were created. The one is immunoglobulin Fc-based MET agonist with long circulatory residency, and the other is anti-transferrin antibody-based MET agonist with the blood-brain-barrier (BBB) penetrance (by Sakai). NASH improvement by Fc-based MET agonist and BBB penetrance by anti-transferrin antibody-based MET agonist have been investigated (respectively by Chaverra and Kida).

＜2022 年の研究成果，進行状況＞

1. Non-canonical MET 受容体経路を介した自然免疫制御

(1) RNA ウイルス感染から炎症性サイトカイン誘導に至る自然免疫応答が MET 欠損で低下すること，(2) MET はミトコンドリア MAVS の重合を促進すること，(3) 自然免疫応答には MET 受容体のチロシンキナーゼに依存しないことを見出した。MET 受容体を介した自然免疫応答は，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新しい生理機能である（論文投稿中）。

2. 前転移ニッチ微小環境形成とイメージング用分子の創成

がん細胞の転移に先立って前転移ニッチが形成されるが，そのトリガーとなるメカニズムは明らかにされていない。HGF は 1 本鎖不活性 HGF として分泌・貯留され，細胞表面近傍で MET 活性化能をもつ活性型 HGF にプロセッシングされる。肺転移性細胞モデルを解析系として，肺転移に先立って腫瘍由来因子により肺上皮細胞での活性型 HGF への変換と MET 活性化がみられること，MET 活性化によって転移ニッチ形成に関与する分子群の発現が上昇すること，肺局所での活性型 HGF の特異阻害は肺転移を抑制することを見出した。遠隔組織での HGF のプロセッシングが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）。一方，活性型 HGF あるいは MET 受容体に結合する環状ペプチドを，PET イメージング診断に適した小サイズタンパク質に内挿（Lasso-Graft）することにより，HGF や MET を標的とする PET イメージング用分子としての特性を明らかにした。

3. Lasso-Graft 法を用いた高機能 MET アゴニスト創成

MET 受容体に高親和性結合する環状ペプチド配列（aMD4）を Fc 分子に Lasso-Graft（内挿）することによって，MET 受容体を活性化するタンパク質（aMD4-Fc）を創成した。aMD4-Fc は Fc の特性に起因する長期血中安定性を示すことから慢性疾患治療に有用と考えられる。また，aMD4 を抗トランスフェリン抗体分子内に内挿し，血液脳関門（BBB）を通過する MET 受容体アゴニストを創成した。

4. HGF-MET 系活性化を介した NASH 改善

NASH（非アルコール性脂肪肝炎）は肝疾患の中でも患者数が多い。肝臓の炎症・脂肪蓄積を特徴とし，病態が進むと線維化に至り，有用な医薬に乏しい。肝特異的 MET 欠損マウスでは，NASH モデルでの脂肪蓄積と線維化の顕著な増悪が報告されている。そこで，Lasso-Graft 法で作成される長期安定な MET アゴニストを用いて，NASH に対する効果を解析した。MET アゴニストは肝臓での炎症や脂肪の蓄積を抑制し，線維化を抑制・改善した。長期安定 MET アゴニストは NASH 改善の医薬候補と期待される（論文準備中）。

＜今後の計画＞

1. HGF-MET 系を介した premetastatic niche 形成とイメージング検出
2. 自然免疫応答における MET 新機能と腫瘍進展における意義
3. MET 受容体活性化の構造ダイナミクスの研究
4. 高機能 MET リガンドの創成と薬効検証

【 研 究 業 績 】

<論文発表>

原著

(研究室主体)

1. Sakai K[†], Sugano-Nakamura N, Mihara E, Rojas-Chaverra NM, Watanabe S, Sato H, Imamura R, Voon DC, Sakai I, Yamasaki C, Tateno C, Shibata M, Suga H, Takagi J[†], Matsumoto K[†]. Designing receptor agonists with enhanced pharmacokinetics by grafting macrocyclic peptides into fragment crystallizable regions. *Nat Biomed Eng*, 7: 164-176, 2023. DOI: 10.1038/s41551-022-00955-6. ([†]corresponding authors)

(共同研究)

1. Kawase N, Sugihara A, Kajiwaru K, Hiroshima M, Akamatsu K, Nada S, Matsumoto K, Ueda M, Okada M. SRC kinase activator CDCP1 promotes hepatocyte growth factor-induced cell migration/invasion of a subset of breast cancer cells. *J Biol Chem*, 298: 101630, 2022. DOI: 10.1016/j.jbc.2022.101630.
2. Kasai S, Kuwayama N, Motoo Y, Kawashima A, Matsumoto K, Yano S, Matsushima K, Yasumoto K. Dual blockade of MET and VEGFR2 signaling pathways as a potential therapeutic maneuver for peritoneal carcinomatosis in scirrhous gastric cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, 600: 80-86, 2022. DOI: 10.1016/j.bbrc.2022.02.045.
3. Saitou A, Hasegawa Y, Fujitani N, Ariki S, Uehara Y, Hashimoto U, Saito A, Kuronuma K, Matsumoto K, Chiba H, Takahashi M. N-glycosylation regulates MET processing and signaling. *Cancer Science*, 113: 1292-1304, 2022. DOI: 10.1111/cas.15278.
4. Matsukawa T, Mizutani S, Matsumoto K, Kato Y, Yoshihara M, Kajiya H, Shibata K. Placental leucine aminopeptidase as a potential specific urine biomarker for invasive ovarian cancer. *J Clin Med*, 11: 222, 2022. DOI: 10.3390/jcm11010222.
5. Shirasaki T, Yamagoe S, Shimakami T, Murai K, Imamura R, Ishii K, Takayama H, Matsumoto Y, Shirasaki N, Nagata N, Shimizu R, Yamanaka S, Abe A, Omura H, Kawaguchi K, Okada H, Yamashita T, Yoshikawa T, Takimoto K, Taharaguchi M, Takatsuka S, Miyazaki Y, Tamai T, Tanabe Y, Kurachi M, Yamamoto Y, Kaneko S, Matsumoto K, Takamura T, Honda M. Leukocyte cell-derived chemotaxin 2 is an antiviral regulator acting through the proto- oncogene MET. *Nat Commun*, 13: 3176, 2022. DOI: org/10.1038/s41467-022-30879-3.
6. Hino N, Matsuda K, Jikko Y, Maryu G, Sakai K, Imamura R, Tsukiji S, Aoki K, Terai K, Hirashima T, Trepas X, Matsuda M. A feedback loop between lamellipodial extension and HGF-ERK signaling specifies leader cells during collective cell migration. *Developmental Cell*, 57: 1-15, 2022. DOI: org/10.1016/j.devcel.2022.09.003.

7. Takumi Y, Arai S, Suzuki C, Fukuda K, Nishiyama A, Takeuchi S, Sato H, Matsumoto K, Sugio K, Yano S. MET kinase inhibitor reverses resistance to entrectinib induced by hepatocyte growth factor in tumors with NTRK1 or ROS1 rearrangements. *Cancer Medicine*, DOI: 10.1002/cam4.5342.
8. Kamoshita K, Ishii K, Tahira Y, Kikuchi A, Abuduwaili H, Tajima-Shirasaki N, Li Q, Takayama H, Matsumoto K, Takamura T. Long-term insulin stimulation suppresses ubiquitination via the deubiquitinating enzyme ubiquitin-specific protease 14, independent of proteasome activity in H4IIEC3 hepatocytes. *J Pharmacol Exp Therapeutics*, 2022. Online ahead of print. DOI: 10.1124/jpet.122.001088.

<総説・著書>

(共同研究)

1. Yoshihara M, Mizutani S, Kato Y, Matsumoto K, Mizutani E, Mizutani H, Osuka S, Kajiyama H. New insights into human endometrial peptidases in blastocysts implantation. *J Mol Science*, 121: 32-39, 2022. DOI: 10.3390/ijms222413479

<学会発表>

1. 佐藤拓輝, 源利成, 矢野聖二, 松本邦夫. 転移ニッチ形成における HGF-MET 系活性化と環状ペプチド阻害. 第 26 回 日本がん分子標的治療学会, 2022 年 6 月 29 日 (金沢) .
2. 酒井克也, 今村龍, 佐藤拓輝, 山崎ちひろ, 立野知世, 菅裕明, 高木淳一, 松本邦夫. 環状ペプチド内挿型の Met 受容体代替アゴニストの創成. 第 29 回 肝細胞研究会. 2022 年 8 月 25 日 (東京) .
3. 佐藤拓輝, 酒井克也, 今村龍, 源利成, 松本邦夫. HGF 活性の遠隔制御による転移ニッチ形成. 第 81 回日本癌学会総会. 2022 年 9 月 29 日 (横浜)
4. 今村龍, 佐藤拓輝, 酒井克也, 松本邦夫. 増殖因子受容体 Met がキナーゼ活性非依存的に寄与するウイルス感染防御機構. 第 81 回日本癌学会総会. 2022 年 9 月 29 日 (横浜)
5. Han X, 古寺哲幸, 松本邦夫, 矢野聖二. 高速原子間力顕微鏡を用いて発がん融合タンパク質の分子動態解明. 第 81 回日本癌学会総会. 2022 年 9 月 30 日 (横浜)
6. 葛西傑, 桑山直美, 松本邦夫, 松島綱治, 安本和生. MET および VEGFR2 シグナル両経路の複合的阻害は, スキルス高頻度合併癌性腹膜炎に対する新たな胃癌治療アプローチとなりうる. 第 81 回日本癌学会総会. 2022 年 9 月 30 日 (横浜)
7. 津本彩乃, 増尾友佑, 山口有紀子, 近藤友美, 酒井克也, 今村龍, 水谷栄介, 牛田貴文, 小谷友美, 梶山広明, 松本邦夫, 水谷栄彦, 加藤将夫. Aminopeptidase A 組換えタンパク質による妊娠高血圧症治療薬の開発. 第 42 回日本妊娠高血圧学会学術集会. 2022 年 10 月 30 日 (東京)

8. Rojas Chaverra N, Sarenqiqige, Nishimura T, Matsumoto K, Shibata M, Gotoh N. Recombinant FGFR 1 in its monomeric and dimeric forms observed through High Speed-Atomic Force Microscope (HS-AFM). 第 45 回 日本分子生物学会. 2022 年 11 月 30 日～12 月 2 日（幕張）

<シンポジウム・講演>

1. 松本邦夫. HGF-MET 系を制御する環状ペプチドの特性と応用. 第 17 回 日本分子標的治療学会 TR ワークショップ ランチョンセミナー. 2022 年 1 月 28 日（オンライン）.
2. 松本邦夫. HGF-MET 系を標的に新展開する環状ペプチド革新創薬. 第 23 回 北陸 COG Open Clinical Conference. 2022 年 2 月 19 日（オンライン）.
3. 松本邦夫. Cyclic Peptide-Based Discovery of Neo-Biologics Targeting Growth Factor Signaling. 京都大学大学院生命動態研究センターセミナー. 2022 年 4 月 28 日（京都大学）.
4. 松本邦夫. 1. 細胞増殖因子の機能と医薬開発. 2. ネオバイオロジクス革新創薬. 北陸大学健康医療薬学演習コース特別講義. 2022 年 6 月 10 日（北陸大学）
5. 松本邦夫. 細胞増殖因子（HGF）の医薬開発とネオバイオロジクス. 医工学フォーラム. 2022 年 6 月 7 日（オンライン）.
6. 松本邦夫. HGF-MET 系で新展開する革新バイオロジクス. 南九州先端医療開発センターセミナー. 2022 年 7 月 8 日（鹿児島大学）
7. 松本邦夫. バイオ医薬の挑戦と革新. 鹿児島大学共通教育「最先端医療を創出するバイオ研究」. 2022 年 7 月 9 日（鹿児島大学）
8. 松本邦夫. 細胞増殖因子を標的に新展開する環状ペプチド革新創薬. 第 7 回肺がんバイオカンファレンス. 2022 年 7 月 17 日（東京）
9. 松本邦夫. HGF-MET 系で新展開するネオバイオロジクス. 秋田大学「生化学セミナー」. 2022 年 10 月 7 日（秋田大学）
10. 酒井克也. ラッソグラフトを用いた人工成長因子による治療可能性の拡大. 第 18 回霊長類医科学フォーラム. 2022 年 11 月 22 日（つくば）

<外部資金>

1. 松本邦夫: AMED 次世代がん医療創生研究事業（P-PROMOTE）「環状ペプチド基盤プラットフォーム分子技術によるイメージング診断・治療用高機能分子創成と検証」（代表）（直接経費）17,000 千円
2. 松本邦夫: 科学研究費補助金 挑戦的研究（開拓）「超機能バイオロジクスリガンドの創成と検証の研究」（代表）（直接経費）7,000 千円

3. 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株の構築」 クリニングルファーマ株式会社 (代表) (直接経費) 400 千円
4. 松本邦夫: AMED CiCLE 「組換え HGF タンパク質を用いた難治性疾患治療薬の開発」 (代表) クリニングルファーマ株式会社からの再委託研究開発 (分担) (直接経費) 1,900 千円
5. 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」 ミラバイオロジクス株式会社 (代表) (直接経費) 3,300 千円
6. 酒井克也: AMED 肝炎等克服実用化研究事業 (肝炎等克服緊急対策研究事業) 「環状ペプチドファルマコフォア内挿型の組換えアゴニストによる肝機能・線維化改善に基づく汎用的肝炎治療の開発」 (代表) (直接経費) 61,469 千円
7. 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 分子計測・操作による増殖因子受容体の活性化機構の解明と制御」 (代表) (直接経費) 1,100 千円
8. 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) 900 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
Graduate Student	Peifu Yu 于 沛夫 (医薬保健学総合研究科 D1) Ryo Mizutani 水谷 涼 (自然科学研究科・卓越大学院 M2)
Research Students	Riki Kadokawa 角川 立樹 (医学類 3 年), Anis Zianne ジアン アニス (医学類 1 年)
Technical Assistant	Sayuri Yamagishi 山岸 小百合

【 Abstract 】

During the process of brain metastasis formation, emerging and progressive interactions between cancer cells and glial cells play pivotal roles; however, there are few methods to stably analyze these events for a long period in vitro. Recently, we developed a simple and stable culture method for prolonged observation of astrocytes and microglia, named mixed-glial culture on/in soft substrate (MGS), which favorably mimics the brain microenvironment for various types of cancers. MGS-based drug screening identified metabotropic glutamate receptor 1 (mGluR1) as a candidate therapeutic target of lung cancer brain metastasis. Mechanistically, interactions with reactive astrocytes induce mGluR1 in cancer cells through Wnt-5a / Prickle planar cell polarity protein 1 (PRICKLE1) / RE1-silencing transcription factor (REST) axis. Induced mGluR1 directly interplay with epidermal growth factor receptor (EGFR), which activates extracellular signal-regulated kinase (ERK) in a glutamate signaling-dependent manner. Our results suggest that MGS is a useful platform to investigate cancer-glia interactions, and that enhanced dependence on mGluR1 signaling could be one of the adaptation strategies but the vulnerability of brain metastatic lung cancer cells.

Another excellent application of MGS is long-term live imaging of cancer-glia interactions and we found that there are microglia subpopulation with strong cancer cytotoxicity in MGS. Cancer cell death induced by these microglia is cell cycle-dependent and mediated by caspase-1 via inflammasome activation. Now we are designing a novel cell therapy with the tumoricidal microglia to overcome primary and metastatic brain tumors.

＜2022 年の研究成果，進捗状況及び今後の計画＞

1. 新規グリア培養法を用いたがん細胞－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安定的培養法（mixed-glial culture on/in soft substrate：MGS 法）を確立し，この MGS 共培養法を用いた薬剤スクリーニングによって，肺がん脳転移の形成に重要な役割を担う分子として metabotropic glutamate receptor 1 (mGluR1) を同定した。mGluR1 はグループ I 代謝型グルタミン酸受容体に属する G タンパク質共役受容体であり，中枢神経系において L-グルタミン酸の受容体としてシナプス伝達に関与している。mGluR1 の発現はほぼ中枢神経系に限られており，各種肺がん細胞株においても mGluR1 の発現はほとんど認められていない。ところが，がん細胞単独培養下では全く効果のない mGluR1 阻害剤が，MGS 共培養下においてはがん細胞の増殖を強く抑制することが明らかとなった。この分子機構に関して詳細な検討を行ったところ，アストロサイト由来の Wnt-5a によってがん細胞の REST が核外に移行し mGluR1 の発現が誘導されることが，誘導された mGluR1 が EGFR タンパクを安定化させることでグルタミン酸シグナル依存性に ERK を活性化することを見出した。

また MGS 共培養法を用いた 3 次元タイムラプスイメージングにより，MGS 中には強いがん細胞傷害性を有するミクログリアが存在していることが明らかとなった。このミクログリアによって誘導される細胞死は細胞周期依存性であり，インフラマソームを介した caspase-1 の活性化によって誘導されることが明らかとなった。現在，この細胞傷害の分子機構の詳細を明らかにしつつ，腫瘍細胞傷害性ミクログリアを用いた新規細胞療法の開発に関する研究を進めている。

2. トリプルネガティブ乳がん脳転移に対する新規治療標的の同定

トリプルネガティブ乳がんに対する治療の選択肢は限られており，特に脳転移を来した場合の予後は極めて不良である。我々は MGS 法を用いた脳転移指向性細胞株の樹立とこれを用いた薬剤スクリーニングにより，脳転移トリプルネガティブ乳がんに対する新規治療標的の同定を目指した研究を進めている。また分子標的治療薬の効果を高めることを目的として，東京工業大学・田中克典博士との共同研究により，糖鎖修飾による薬剤の脳組織移行性増強に関する研究を進めている。

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，生体適合性の高い双性イオン液体（zwitterionic liquid：ZIL）の生命科学分野への応用に関する研究を進めている。これまでに細胞凍結保存剤としての最適化とこれによる腫瘍組織凍結保存法の開発に成功した（Ishizaki et al., Sci Rep 2022）。引き続き，オルガノイドや微小组織，各種幹細胞や受精卵の高効率凍結保存法の開発を進めつつ，これらを事業化するための金沢大学発ベンチャー企業の立ち上げを行っている。

【 研 究 業 績 】

<発表論文>

原著

(共同研究)

1. Ishizaki T, Takeuchi Y, Ishibashi K, Gotoh N, Hirata E*, Kuroda K*. Cryopreservation of tissues by slow-freezing using an emerging zwitterionic cryoprotectant. **Scientific Reports. in press.** (* co-corresponding author)
2. Komori T, Kato Y, Ishibashi K, Ninomiya K, Wada N, Hirose D, Takahashi K, Hirata E, Kuroda K. Characterization and Application of Carboxylate-type zwitterions synthesized by one-step. **Journal of Ionic Liquids.** 2(1):100027

総説

3. 黒田 浩介, 平田 英周 「生命科学のための新規溶媒：DMSO 依存からの脱却」
生化学 94 巻 2 号 298-301 頁 (2022)

<学会発表>

1. Eishu Hirata “Multifaceted interactions between cancer cells and glial cells in brain metastasis” The 8th Neuroscience Network in Kobe Symposium 2022 (Invited Lecture) (Kobe and hybrid online, 10 Feb 2022)
2. 平田 英周 「がん脳転移微小環境の細胞分子基盤」 Breast Cancer Seminar in Hanshin 2022 (招待講演) (オンライン開催 2022 年 2 月 16 日)
3. 平田 英周 「脳転移微小環境におけるグリアがん免疫」 第 32 回日本サイトメトリ学会 (招待講演) (オンライン開催 2022 年 5 月 28 日)
4. 平田 英周 「脳転移におけるがん細胞とグリア細胞の多面的相互作用」 第 31 回日本がん転移学会学術集会・総会 (シンポジウム) (京都 2022 年 7 月 7-8 日)
5. 石橋 公二郎, 平田 英周 「MGS 法を用いた脳転移がん-グリアネットワークの解析」 2022 年度 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 (名古屋市 2022 年 8 月 30 日-9 月 1 日)
6. Eishu Hirata “Multifaceted interactions between cancer cells and glial cells in brain metastasis” (Symposium) 第 81 回 日本癌学会学術総会 (横浜・オンライン併催 2022 年 9 月 29 日-10 月 1 日)
7. 平田 英周 「がん研究への新たなお金の流れ」 第 81 回 日本癌学会学術総会 (ランチョンセミナー) (横浜・オンライン併催 2022 年 9 月 29 日-10 月 1 日)
8. 石橋 公二郎, 平田 英周 「Investigation of novel therapeutic targets for brain metastasis using MGS method」 第 81 回 日本癌学会学術総会 (横浜市 2022 年 9 月 29 日-10 月 1 日)
9. Eishu Hirata “Multifaceted interactions between cancer cells and glial cells in brain metastasis” (Invited Lecture) 2nd Chinese Oncology Young Elite Summit (Shanghai and hybrid online, 3 Dec 2022)

<知的財産>

1. 特願 2022-020000 「脳転移がん抑制剤又は治療剤」 平田 英周, 石橋 公二郎
2. 特願 2022-098339 (非公開) 黒田 浩介, 平田 英周, 田中 大介

<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」 5,330 千円
2. AMED 革新的がん医療実用化研究事業 [研究代表者: 平田 英周]
「代謝型グルタミン酸受容体を標的としたがん脳転移治療法の開発」 24,700 千円
3. がん研究振興財団 第 54 回がん研究助成 [研究代表者: 平田 英周]
「グリアがん免疫チェックポイント制御機構の解明」 1,000 千円
4. 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」 1,430 千円
5. JST ACT-X [研究代表者: 石橋 公二郎]
「シグナル伝達物質として機能する DNA を介した細胞間コミュニケーション」
1,300 千円
(学内研究資金)
6. 先魁プロジェクト 2022 [研究代表者: 黒田 浩介 研究分担者: 平田 英周]
「双性イオン液体によるライフサイエンス基盤の革新と社会実装」 500 千円

<その他>

(受賞)

1. 石橋 公二郎 2022 年度 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 最優秀演者賞
(アウトリーチ活動)
2. 平田 英周 「がんの転移 ～ 恐るべき仕組みとがん克服への挑戦 ～」
金沢大学市民公開講座「がん研究の基礎」(金沢市 2022 年 5 月 28 日)
3. 平田 英周, 石橋 公二郎 未来のがん研究者を育むがん克服プロジェクト「がん研 EEP」(2022 年 8 月 3 日)
(セミナー開催)
4. 第 4 回腫瘍細胞生物学セミナー “Discovering the mechanisms of invasion and adaptive radioresistance in glioblastoma” アラバマ大学バーミンハム校 脳神経外科 大須賀 寛 先生 (2022 年 6 月 1 日)

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 Students	Purvee Erdenebaatar (D4), Ravdandorj Odongoo (D4),
Assistant Staff	Hisayo Inotani 猪谷 久世

【 Abstract 】

JNK/SAPK-associated proteins (JSAPs), JSAP1 (also known as JIP3) and JSAP2 (also known as JLP or SPAG9), were first identified as scaffold proteins for the MAP kinase (MAPK) signaling pathways. Subsequent studies showed that JSAP proteins can also function as motor-cargo adaptors. Increasing evidence suggests that JSAP2 is overexpressed in many types of cancer and involved in cell proliferation and invasion. However, the physiological roles of JSAP in non-transformed cells remain largely unknown. Recently we found that aneuploidy was induced in non-transformed hTERT RPE-1 cells by overexpressing wild-type JSAP2. To explore the mechanism of how overexpression of JSAP2 induces aneuploidy, we examined the effect of overexpression of JSAP2 mutants, such as JNK- and dynein/dynactin-binding domain-deleted mutants, on chromosomal stability. Our preliminary results suggest that spindle assembly checkpoint (SAC) is turned off without checkpoint adaptation through interaction of JSAP2 with dynein/dynactin complex in cells overexpressing JSAP2. We are studying whether and how JSAP proteins are involved in the regulation of cell cycle progression under physiological conditions.

ERK1 and ERK2 intracellular signaling pathways play key roles in a variety of cellular processes, such as proliferation and differentiation. Dysregulation of ERK1/2 signaling has been implicated in many diseases, including cancer. Although ERK1/2 signaling pathways have been extensively studied, controversy remains as to whether ERK1 and ERK2 have specific or redundant functions. We examined the functional roles of ERK1 and ERK2 in cell proliferation and cell cycle progression using an auxin-inducible degron system combined with gene knockout technology. We found that ERK1/2 double depletion, but not ERK1 or ERK2 depletion, substantially inhibited the proliferation of HCT116 cells during G1-S transition. We further demonstrated that ERK1/2-double-depleted cells were much more tolerant to etoposide-induced G2/M arrest than ERK1 or ERK2 single-knockout cells. Together, these results strongly suggest the functional redundancy of ERK1 and ERK2 in both the G1-S transition under physiological conditions and the DNA damage-induced G2/M checkpoint.

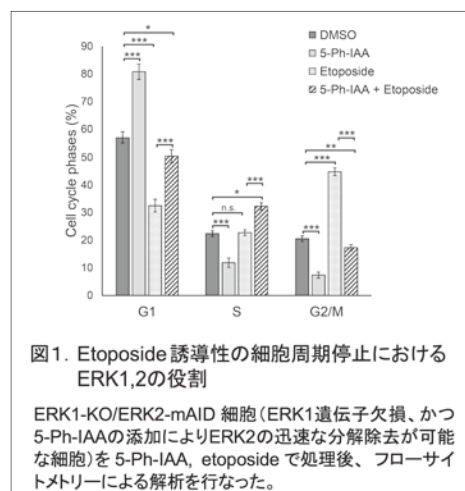
<2022 年の研究成果, 進捗状況及び今後の計画>

1. 染色体安定性における JSAP の役割とその分子基盤

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。我々は, これまでに, ヒト正常二倍体不死化 RPE-1 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ている。最近, JSAP2 の過剰発現は染色体分配異常を誘導することが分かり, さらに, その分配異常は JSAP2 と Dynein/Dynactin 複合体の相互作用が引き起こす, 紡錘体形成チェックポイントの制御異常に起因することを強く示唆する結果が得られた。現在, 染色体安定性における JSAP タンパク質の役割とその分子基盤の解明を目指して研究を進めている。

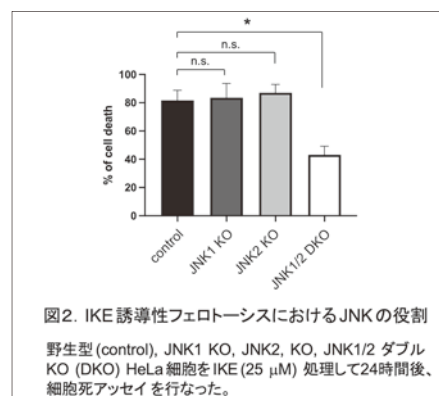
2. 細胞周期制御における ERK1, ERK2 MAPK の機能的冗長性の検討

ERK1/2 MAPK は細胞増殖の促進に必須の役割を担っており, がん細胞では高頻度に ERK1/2 経路の異常な活性化が認められる。これまでに, ERK1/2 に関する数多くの研究が行われているが, ERK1 と ERK2 の機能的冗長性については相反する結果が報告されており, 未解決である。そこで我々は, 目的タンパク質を素早く分解除去することが可能なオーキシニデグロン法を用いて検討した。その結果, ERK1, ERK2 両方の発現を欠失させた細胞においてのみ, G1/S 期での顕著な細胞周期停止が認められた。さらに, DNA 損傷に応答した G2/M チェックポイントにおける ERK1, ERK2 の役割についても調べ, ERK1, ERK2 の機能的冗長性を強く示唆する結果が得られた (図 1)。



3. フェロトーシスにおける JNK MAPK の役割

JNK MAPK は細胞内外からのさまざまな刺激やストレスに応答して活性化され, 細胞の増殖や移動・死などの制御に関わることが知られている。最近, 我々は, Imidazole ketone erastin (IKE) 誘導性のフェロトーシスにおいて, JNK1, JNK2 が冗長的かつ促進的に働くことを見出した (図 2)。今後, その詳細を検討する予定である。



【 研 究 業 績 】

< 発表論文 >

原著

(研究室主体)

1. Erdenebaatar P, Gunarta IK, Suzuki R, Odongoo R, Fujii T, Fukunaga R, Kanemaki MT, Yoshioka K. Redundant roles of extra-cellular signal-regulated kinase (ERK) 1 and 2 in the G1-S transition and etoposide-induced G2/M checkpoint in HCT116 cells. *Drug Discov Ther*. doi: 10.5582/ddt.2022.01120 (in press)

< 学会発表 >

1. 鈴木 隆介, I Ketut Gunarta, Ravdandorj Odongoo, Purvee Erdenebaatar, 善岡 克次: Role of JLP in cell cycle progression. 第 45 回日本分子生物学会年会, 2022 年 12 月 1 日, 千葉

< 外部資金 >

1. 科学研究費補助金 基盤研究 (C) (研究代表者: 善岡克次) 「新規因子 JSAP による染色体安定性の維持機構」1,200 千円
2. 科学研究費補助金 若手研究 (研究代表者: 鈴木隆介) 「染色体安定維持におけるモーターアダプター因子 JSAP のとその分子機構」1,800 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 Students	Ryosuke Ota 太田亮介 (D4: ~3 月, 太田病院) Satoshi Takenaka 竹中 哲 (D4: 肝胆膵・移植外科学)
Postdoctoral Fellows	Masahiro Uehara 上原将大, Dilireba Bolidong (~3 月)
Research Fellow	Masanori Kotake 小竹優範 (厚生連高岡病院: ~12 月)
Assistant Staff	Atsuko Asaka 浅香敦子

【 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 (GI), refractory and rare cancer types including glioblastoma, bone and soft tissue sarcomas and pancreatic neuroendocrine neoplasms. 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 GI and refractory cancer, 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. During an immediate couple of years, we have obtained the preliminary results indicating the putative roles of tumor GSK3 β as a molecular node that is intersected by the pathways responsible for tumor invasion and resistance to therapy, thus enforcing its potential as an emerging cancer therapeutic target. We are extending this project toward investigation of the putative roles for GSK3 β in promoting pancreatic neuroendocrine neoplasms as well as in interconnecting malignant phenotypes in pancreatic cancer with acquired chemoresistance. Following the project on GSK3 β , we have recently identified a number of molecules potentially responsible for acquired resistance to gemcitabine in pancreatic cancer by comparing the cDNA microarray-based gene expression between gemcitabine-sensitive BxPC-3 cells and BxPC-3-derived clones that acquired stepwise resistance to gemcitabine. In addition to these projects, we have participated in the collaborative studies showing the association of hTERT phosphorylation and longer telomere length in cancer cells with worth prognosis in various cancer types.

<2022 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, 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。ついで, 食道扁平上皮がんと抗がん剤耐性獲得膵がんに対する GSK3 β 阻害の治療効果とメカニズムを明らかにした。2022 年には GSK3 β 阻害によるがん治療の概念実証のため, 膵内分泌腫瘍(PNET)の共同研究に加えて, 米国で臨床試験中の GSK3 β 阻害剤 9-ING-41 を開発した Actuate 社と共同で治療耐性膵がんの前臨床試験を計画した。

2. 膵がんの抗がん剤耐性獲得に伴う悪性形質の解析研究

膵がんで汎用されているゲムシタビン(GEM)に対する耐性獲得は, 膵がん治療の未解明医療ニーズである。そこで, GEM 感受性膵がん BxPC-3 細胞から段階的に GEM 耐性を獲得させた 3 種のクローン細胞株(Anticancer Drug 2015;26:90, 北里大から供与)を対象に, GEM 耐性獲得の生物学的特性を検討した。その結果, 耐性獲得に伴い腫瘍浸潤とがん幹細胞形質が増強した。また, 最耐性細胞株をマウス膵内に移植すると, 高度の局所浸潤と肝や腹膜転移をきたし, GEM 耐性を獲得した膵がん患者の病態を模倣する所見を呈した。さらに, GSK3 β がこれらの悪性形質のハブとして作用することを見出した(論文作成中)。ついで, 耐性細胞株の遺伝子発現解析により, ある種の cyclin D 亜型をはじめ複数の新たな耐性獲得に関わる候補責任分子群を見出した。現在, 個々の分子について解析を進めている。

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。帝京大学:竹田 扇らが山梨大学で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, 山梨大学:吉村らと島津製作所基盤技術研究所との共同で, 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を進めている。組織バンク検体を共用して, 名古屋市立大学(十二指腸腺腫, 早期がん)や香川大学(がんテロメア解析)と共同研究を継続している。そして, 香川大学:松田(故人)が主導する多施設共同研究で, hTERT の第 249 スレオニンのリン酸化と, がん細胞とがん随伴線維芽細胞におけるテロメア長が主要がん種の悪性度と相関し, 患者生存期間と逆相関することを明らかにした。

【 研 究 業 績 】

<発表論文> ※下線は研究室関係者

原著

1. Matsuda Y, Ye J, Yamakawa K, Mukai Y, Azuma K, Wu L, Masutomi K, Yamashita T, Daigo Y, Miyagi Y, Yokose T, Oshima T, Saito H, Morinaga S, Kishida T, Minamoto T, Kojima M, Kaneko S, Haba R, Kontani K, Kanaji N, Okano K, Muto-Ishizuka M, Yokohira M, Sao K, Imaida K, Suizu F. Association of longer telomere length in cancer cells and cancer-associated fibroblasts with worse prognosis. *J Natl Cancer Inst*, accepted and in press.
2. Tran CP, Scurr M, O'Connor L, Buzzelli JN, Ng GZ, Chung Nien Chin S, Stamp LA, Minamoto T, Giraud AS, Judd LM, Sutton P, Menheniott TR. IL-33 promotes gastric tumour growth in concert with activation and recruitment of inflammatory myeloid cells. *Oncotarget* 13: 785-99, 2022. doi: 10.18632/oncotarget.28238
3. Matsuda Y, Yamashita T, Ye J, Yasukawa M, Yamakawa K, Mukai Y, Machitani M, Daigo Y, Miyagi Y, Yokose T, Oshima T, Ito H, Morinaga S, Kishida T, Minamoto T, Yamada S, Takei J, Kaneko MK, Kojima M, Kaneko S, Masaki T, Hirata M, Haba R, Kontani K, Kanaji N, Miyatake N, Okano K, Kato Y, Masutomi K. Phosphorylation of hTERT at threonine 249 is a novel tumor biomarker of aggressive cancer with poor prognosis in multiple organs. *J Pathol* 257 (2): 172-85, 2022. doi: 10.1002/path.5876
4. Kondo H, Mishihiro K, Iwashima Y, Qiu Y, Kobayashi A, Lim K, Domoto T, Minamoto T, Ogawa K, Kunishima M, Hazawa M, Wong, RW. Discovery of a novel aminocyclopropenone compound that inhibits BRD4-driven nucleoporin NUP210 expression and attenuates colorectal cancer growth. *Cells* 11 (3): 317, 2022. doi: 10.3390/cells11030317

<学会発表>

1. Takahiro Domoto, Masahiro Uehara, 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: The Latest Advances in Pancreatic Cancer Research: From Basic Science to Therapeutics, June 8th (Wed)~10th (Fri), 2022, Kyoto, Japan.
2. Masahiro Uehara, Takahiro Domoto, Satoshi Takenaka, Dilireba Bolidong, Osamu Takeuchi, Tomoharu Miyashita, Toshinari Minamoto. Glycogen synthase kinase-3 β participates in acquired resistance to gemcitabine in pancreatic cancer. The 7th JCA-AACR Special Joint Conference: The Latest Advances in Pancreatic Cancer Research: From Basic Science to Therapeutics, June 8th (Wed)~10th (Fri), 2022, Kyoto, Japan.
3. 上原将大, 堂本貴寛, ディリラバ ボリドン, 宮下知治, 源 利成. GSK3 β は膵がんのゲムシタビン獲得耐性に寄与する. 第 31 回日本癌病態治療研究会, 2022 年 6 月 23 日 (木), 24 日 (金), 鳴門市.
4. Takahiro Domoto, Satoshi Takenaka, Masahiro Uehara, Tatsuhiko Furukawa, Tomoharu Miyashita, Toshinari Minamoto. GSK3 β participates in malignant properties of pancreatic cancer acquiring chemoresistance. 堂本貴寛, 竹中 哲, 上原将大, 古川龍彦, 宮下知治, 源 利成. GSK3 β は薬剤耐性獲得膵がんの悪性進展に寄与する. 第 81 回日本癌学会学術総会, 2022 年 9 月 29 日 (木) -10 月 01 日 (土), パシフィコ横浜, 横浜市.

5. Hiroki Sato, Katsuya Sakai, Ryu Imamura, Toshinari Minamoto, Kunio Matsumoto.
Metastatic platform formation triggered by distal HGF conversion. 佐藤拓輝, 酒井克也, 今村 龍, 源 利成, 松本邦夫. HGF 活性の遠隔制御によるがん転移ニッチ形成. 第 81 回日本癌学会学術総会, 2022 年 9 月 29 日 (木) -10 月 01 日 (土), パシフィコ横浜, 横浜市.
6. Yoko Matsuda, Taro Yamashita, Juanjuan Ye, Keiko Yamakawa, Yuri Mukai, Toshinari Minamoto, Yukinari Kato, Kenkichi Masutomi, Futoshi Suizu. Phosphorylation of hTERT at threonine 249 is a novel biomarker of aggressive cancer with poor prognosis. 松田陽子, 山下太郎, 葉 娟娟, 山川けいこ, 向井裕理, 源 利成, 加藤幸成, 増富健吉, 水津 太. ヒトテロメラーゼ逆転写酵素のスレオニン 249 のリン酸化は予後不良な高悪性度腫瘍の新規マーカーである. 第 81 回日本癌学会学術総会, 2022 年 9 月 29 日 (木) -10 月 01 日 (土), パシフィコ横浜, 横浜市.
7. 上原将大, 堂本貴寛, 堀家慎一, Francis Giles, Ludimila Cavalcante, 高橋智聡, 源利成. 膵がんの抗がん剤獲得耐性に対する臨床開発 GSK3 β 阻害剤と承認済 CDK4/6 阻害剤の効果. 第 33 回日本消化器癌発生学会総会, シンポジウム 2 『臨床応用を意識した消化器癌研究』, 2022 年 11 月 11 日 (金), 12 日 (土), 一橋大学一橋講堂, 東京.
8. 堂本貴寛, 上原将大, 宮下知治, 源 利成. GSK3 β は膵がんの獲得耐性と浸潤能, がん幹細胞性を統合する. 第 33 回日本消化器癌発生学会総会, シンポジウム 3 『多様性を持った癌細胞の制圧』, 2022 年 11 月 11 日 (金), 12 日 (土), 一橋大学一橋講堂, 東京.
9. 橋本明史, 宮下知治, 島崎猛夫, 源 利成, 高村博之. バレット食道から発癌過程での微小環境の変化と GSK3 β 阻害による抑制効果. 第 33 回日本消化器癌発生学会総会, ワークショップ 1 (食道), 2022 年 11 月 11 日 (金), 12 日 (土), 一橋大学一橋講堂, 東京.

<講演>

10. 源 利成. 膵がん難治性の細胞特性 — その仕組みと私たちの取りくみ —. 第 38 回日本臨床細胞学会北陸連合会学術集会, 2022 年 9 月 4 日 (日), 金沢 (ウェブ). 東京.

<外部資金> ※2022 年が含まれる課題

1. 2022 年－2024 年度 科学研究費補助金 基盤研究(B) 課題番号 22H03144
源 利成(代表), 宮下知治(分担)
課題: 治療耐性膵がんの悪性形質を繋ぐ分子経路の解明と耐性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)
2. 2022 年－2024 年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 課題番号 22K07227
堂本貴寛(代表)
課題: 抗がん剤耐性獲得膵がん細胞における悪性形質連関の解明と治療法開発
研究経費: 4,030,000 円(直接経費 3,100,000 円, 間接経費 930,000 円)

3. 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)

Division of Functional Genomics

機能ゲノミクス研究分野

Professor	Takeshi Suzuki 鈴木 健之
Assistant Professors	Akihiko Ishimura 石村 昭彦 Minoru Terashima 寺島 農
Graduate Students	Kusuma Suphakhong (D4) Hanbing Lyu (D4) Risa Takatsuka 高塚理沙 (D4) Gerelsuren Batbayar (D3) Hyuga Ajichi 按察日向 (M2)
Technical Assistant	Atsuko Odawara 小田原 敦子

【 Abstract 】

We have been studying the function of epigenetic and epi-transcriptomic regulators such as histone methyl-modifying enzymes, long noncoding RNAs and RNA methyltransferase complex in the various steps of cancer progression. This year we investigated the role of m6A (N6-Methyladenosine) RNA modification during TGF-beta-induced epithelial-mesenchymal transition (EMT) of lung cancer cells. Previously we have reported that m6A modification and its catalytic enzyme, METTL3, provide a critical input in the regulation of EMT, an important event for cancer metastasis. Knockdown of METTL3 impaired the EMT-inducing transcriptional program and the migration/invasion of cancer cells. Functional studies reveal that JUN and JUNB transcription factors (TFs), are among the targets of METTL3 and are involved in m6A-regulated EMT process. We found that JUN and JUNB TFs played an important and non-redundant role in EMT-inducing gene expression through the regulation of different mesenchymal genes. METTL3-mediated regulation of JUN expression was associated with the translation process of JUN protein but not with the stability of JUN protein or mRNA, which was in contrast with the result of m6A-mediated regulation of *JUNB* mRNA stability. We also discovered that m6A-modified JUN and JUNB mRNAs were recognized and regulated by the distinct m6A reader proteins such as YTHDF3 and IGFBP1 to transmit the modification signal. This study highlights a fundamental role of m6A RNA modification in the transcriptional regulation during EMT process.

＜2022 年の研究成果，進捗状況及び今後の計画＞

1. RNA の m6A メチル化修飾を認識する Reader 分子による EMT 関連 mRNA 制御

EMT におけるエピトランスクリプトーム制御を理解するために、METTL3 酵素により m6A 修飾を受けた標的 RNA の調節機構を解析している。今回、EMT 進行に関与する転写因子である JUN 及び JUNB の機能と m6A 修飾による制御を調べた。TGF-beta 誘導 EMT において発現誘導される JUN と JUNB は、上皮系マーカー遺伝子 CDH1 の発現抑制に関わる一方、間葉系マーカーについては、JUN が CDH2 の、JUNB が FN1 の発現上昇にそれぞれ関与する。すなわち、EMT において必須でかつ重複しない役割を担っている。また、JUN 及び JUNB mRNA の m6A 修飾は、EMT 進行に伴って顕著に増加し、METTL3 酵素の発現に依存する。METTL3 ノックダウン細胞を用いた解析から、m6A 修飾は JUN mRNA の翻訳過程と JUNB mRNA の安定性にそれぞれ寄与することがわかった。それぞれの mRNA の制御を司る m6A 修飾部位として、変異体解析から 3'-UTR に存在する 2 箇所を同定した。さらに、JUN 及び JUNB mRNA の m6A 修飾を認識する Reader タンパク質の候補として、それぞれ YTHDF3 と IGF2BP1 を同定した。すなわち、JUN 及び JUNB の m6A 修飾による制御様式の違いは、それぞれを認識する Reader タンパク質の異なる機能に起因していることが示唆された。

2. 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、TP53 欠損乳がん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 CRISPR/Cas9 スクリーニングを行った。その結果、ヒストン H3K4 メチル化酵素 COMPASS 複合体のコア因子 ASH2L を含む複数のエピジェネティック制御因子が同定された。ノックダウン実験から、ASH2L が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、TP53 欠損と相互作用を示すこと、さらにヒストンメチル化修飾を介してがん悪性化に関係する標的遺伝子群の発現を制御することが確認された。標的遺伝子の機能解析を進め、乳がん悪性進展過程における ASH2L の役割を明らかにする計画である。

3. ヒストンメチル化修飾分布に基づいた新規 EMT 転写因子の同定

ヒストンの H3K4me3 修飾分布は、細胞の特異性を決定する重要な遺伝子座の目印となりうる。EMT 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、SNAIL や SLUG など既知の EMT 転写因子に加えて、CEBPG を新しく同定した。CEBPG 発現による EMT の進行には自身のロイシンジッパードメインが必須であることから、CEBPG と相互作用するパートナータンパク質依存的な EMT 誘導が示唆された。パートナータンパク質探索の結果、CEBPB および DNA 修復因子が得られた。これは、CEBPG が EMT だけでなく、DNA 修復経路などのがん悪性化関連機構も制御する可能性を示している。今後、CEBPG 転写因子の機能と作用機序を解明し、EMT を含む悪性進展の誘導メカニズム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. Suphakhong K, Terashima M, Wanna-Udom S, Takatsuka R, Ishimura A, Takino T and *Suzuki T. m6A RNA methylation regulates the transcription factors JUN and JUNB in TGF-beta-induced epithelial-mesenchymal transition of lung cancer cells. J Biol. Chem., 298: 102554, 2022.

(共同研究)

2. Ahmed A, Syed J, Wang Y, Perez-Romero C, Chi L, Lee D, Kocaqi E, Escalante-Covarrubias Q, Ishimura A, Suzuki T, Aguilar-Arnel L, Gozales GB, Kim K-H and *Delgado-Olguin P. KDM8 epigenetically controls cardiac metabolism to prevent initiation of dilated cardiomyopathy. Nat. Cardiovasc. Res., in press.
3. Isoyama S, Tamaki N, Noguchi Y, Okamura M, Yoshimatsu Y, Kondo T, Suzuki T, Yaguchi S and Dan S. Subtype-selective induction of apoptosis in translocation-related sarcoma cells induced by PUMA and BIM upon treatment with pan-PI3K inhibitors. Cell Death Dis., in press.

< 学会発表 >

1. Suzuki T, Terashima M and Ishimura A. Roles of RNA methylation in the transcriptional program regulating epithelial-mesenchymal transition. 第81回日本癌学会学術総会 (横浜2022年9月)
2. Batbayar G, Ishimura A, Lyu H, Wanna-Udom S, Terashima M, Ninomiya K and Suzuki T. Functional screening of epigenetic regulators for breast cancer malignancy. 第45回日本分子生物学会年会 (幕張2022年12月)
3. Ishimura A, Batbayar G, Lyu H, Wanna-Udom S, Suphakhong K, Terashima M, Yano S and Suzuki T. Screening of epigenetic regulators relating to drug resistance in lung cancer cells. 第45回日本分子生物学会年会 (幕張2022年12月)
4. Terashima M, Suphakhong K, Ishimura A, Nishiuchi T, Horike SI, Nishimura T, Tange S and Suzuki T. Roles of a candidate for epithelial-mesenchymal transition-activating transcription factor in cancer cells. 第45回日本分子生物学会年会 (幕張2022年12月)
5. Suzuki T, Suphakhong K, Terashima M, Wanna-Udom S, Takatsuka R, Ishimura A, Sakari M and Tsukahara T. RNA methylation regulates the gene expression program in epithelial-mesenchymal transition of cancer cells. 第45回日本分子生物学会年会 (幕張2022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, 1,300 千円 研究課題名「腫瘍細胞の上皮間葉転換におけるエピゲノム・エピトランスクリプトーム制御」
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「EGFR 変異肺がんの薬剤耐性に関わ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, 1,300 千円 研究課題名「動的エピジェネティックドメインに基づいた新規がん悪性化転写因子の同定」

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
Lecturers	Koshiro Ohtsubo 大坪 公士郎, Shinji Takeuchi 竹内 伸司
Assistant Professors	Kaname Yamashita 山下 要, Akihiro Nishiyama 西山 明宏 Shigeki Nanjo 南條 成輝, Hiroshi Kotani 小谷 浩 Xujun Han (Nano LSI) (2022 年 9 月まで) Azusa Tanimoto 谷本 梓, Koji Fukuda 福田 康二
Assistant	Sachiko Arai 新井 祥子
Residents	Chiaki Suzuki 鈴木 千晶 (2022 年 6 月まで) Hiroyuki Sakaguchi 坂口 裕之 Shigeki Sato 佐藤 成樹 (2022 年 4 月から)
Assistant Staff	Junko Dohbayashi 堂林 淳子, Tomoko Kohori 小堀 朋子 Yumemi Nakamura 中村 夢美, Mayumi Takeda 竹田 真由美

【 Abstract 】

In the clinical practice, we treated the various types of cancer patients with anticancer agents, including targeted drugs and immune checkpoint inhibitors. Furthermore, as a working unit of the Outpatients Chemotherapy Center and the Cancer Genomic Medicine Center in Kanazawa University Hospital, we managed outpatient chemotherapy and practiced cancer genome medicine, including comprehensive gene panel testing.

As basic researches, we conducted studies to elucidate the mechanisms of targeted drug resistance and establish therapeutic modality to overcome it. In EGFR mutated lung cancer, we found that RNA binding motif 10 (RBM10) mutations coexisted frequently in EGFR-L858R mutation cases and induced EGFR-TKI tolerance due to apoptosis resistance. RBM10 mutation-associated EGFR-TKI tolerance could be overcome by combined use of the BCL-xL inhibitor. We also reported that STAT3 activation induced ALK-TKI tolerance in lung cancer with the EML4-ALK fusion gene, and that ALK-TKI tolerance could be circumvented by concomitant use with the STAT3 inhibitor. Moreover, we established TRK-TKI entrectinib resistant tumor cells in a brain metastasis model of colon cancer cells with NTRK1-fusion gene. We found that the resistant tumor cells had NTRK1-G595R resistance mutation, as well as activation of EGFR and MEK signaling, and thus a triple combination of EGFR inhibitor, MEK inhibitor, and new generation TRK inhibitor which has activity to NTRK1-G595R mutation, was necessary to circumvent the resistance. We also reported that entrectinib resistance could be emerged by stroma-derived hepatocyte growth factor (HGF).

<2022 年の研究成果、進捗状況及び今後の計画>

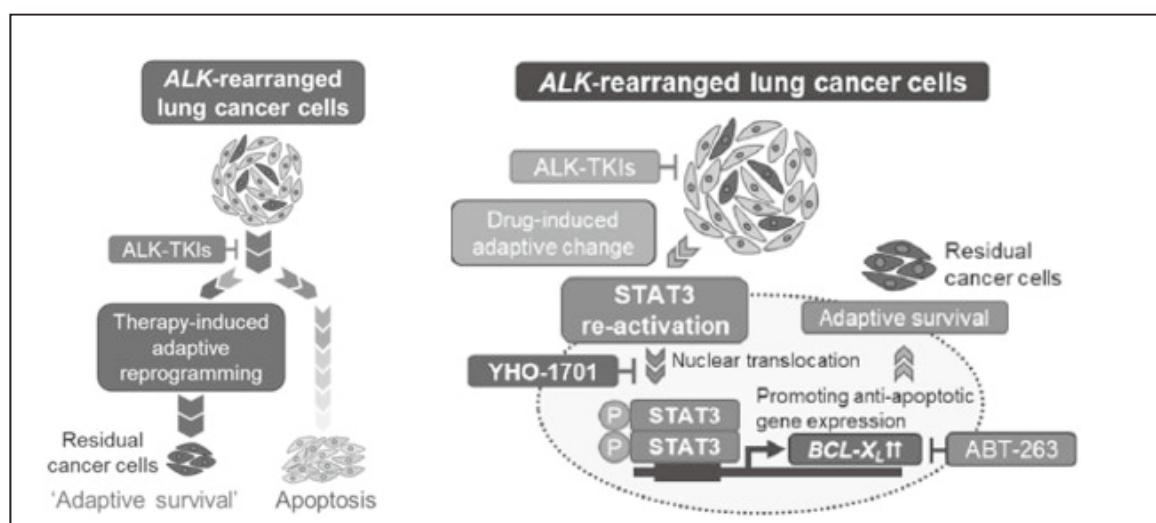
1. 臨床的活動

臨床的には、臓器横断的ながん患者の分子標的薬や免疫チェックポイント阻害薬を含む薬物治療を外来および入院で行った。さらに、外来化学療法センターおよびがんゲノム医療センターの実働部隊として、それぞれ外来化学療法の運営と、がん遺伝子パネル検査を含むがんゲノム医療を実践した。

2. 研究活動

基礎研究としては、分子標的薬抵抗性の機構解明とそれを克服する治療法確立に向けた研究を行った。

- 1) EGFR 変異肺癌において RBM10 変異が EGFR-L858R 変異症例に高頻度に共存すること、アポトーシス抵抗性により EGFR-TKI 抵抗性を惹起すること、BCL-xL 阻害薬併用により EGFR-TKI 抵抗性を克服しうることを明らかにした。
- 2) EML4-ALK 肺癌において、STAT3 の活性化が ALK-TKI 抵抗性を惹起すること、



STAT3 阻害薬併用で ALK-TKI 抵抗性を克服しうることを報告した。

- 3) NTRK1-fusion 陽性癌細胞の脳転移モデルで TRK-TKI であるエヌトレクチニブ耐性株を樹立し、耐性株では NTRK1-G595R 耐性変異のみならず EGFR および MEK の活性化が生じており、耐性克服には新世代 TRK-TKI である repotrectinib と EGFR-TKI, MEK inhibitor の triple combination が必要であることを示した。
- 4) エヌトレクチニブ耐性は線維芽細胞などの間質細胞が産生する HGF によっても惹起されうることを報告した。

【 研 究 業 績 】

< 発表論文 >

原著

(研究室主体)

1. Nanjo S, Wu W, Karachaliou N, Blakely CM, Suzuki J, Chou YT, Ali SM, Kerr DL, Olivas VR, Shue J, Rotow J, Mayekar MK, Haderk F, Chatterjee N, Urisman A, Yeo JC, Skanderup AJ, Tan AC, Tam WL, Arrieta O, Hosomichi K, Nishiyama A, Yano S, Kirichok Y, Tan DS, Rosell R, Okimoto RA, Bivona TG. Deficiency of the splicing factor RBM10 limits EGFR inhibitor response in EGFR-mutant lung cancer. **J Clin Invest**. 2022 Jul 1;132(13):e145099. doi: 10.1172/JCI145099.PMID: 35579943
2. Ohtsubo K, Miyake K, Arai S, Fukuda K, Suzuki C, Kotani H, Tanimoto A, Nishiyama A, Nanjo S, Yamashita K, Takeuchi S, Yano S. Methylation of tumor suppressive miRNAs in plasma from patients with pancreaticobiliary diseases. **Cancer Diagn Progn**. 2022 May 3;2(3):378-83. doi: 10.21873/cdp.10120.
3. Takumi Y, Arai S, Suzuki C, Fukuda K, Nishiyama A, Takeuchi S, Sato H, Matsumoto K, Sugio K, Yano S. MET kinase inhibitor reverses resistance to entrectinib induced by hepatocyte growth factor in tumors with NTRK1 or ROS1 rearrangements. **Cancer Med**. 2022 Nov 23. doi: 10.1002/cam4.5342. Online ahead of print
4. Nishiyama A, Hattori Y, Takeuchi S, Tanimoto A, Satouchi M, Murayama T, Yano S. Severe skin toxicity caused by sequential anti-PD-1 antibody and alectinib in non-small-cell lung cancer: a report of two cases and a literature review. **Intern Med**. 2022 Jun 1;61(11):1735-8. doi: 10.2169/internalmedicine.7472-21. PMID: 34803090
5. Yanagimura N, Takeuchi S, Fukuda K, Arai S, Tanimoto A, Nishiyama A, Ogo N, Takahashi H, Asai A, Watanabe S, Kikuchi T, Yano S. STAT3 inhibition suppresses adaptive survival of ALK-rearranged lung cancer cells through transcriptional modulation of apoptosis. **NPJ Precis Oncol**. 2022 Feb 28;6(1):11. doi: 10.1038/s41698-022-00254-y.PMID: 35228642
6. Suzuki C, Nishiyama A, Arai S, Tange S, Tajima A, Tanimoto A, Fukuda K, Takumi Y, Kotani H, Takeuchi S, Yanagimura N, Ohtsubo K, Yamamoto N, Omori K, Yano S. Inhibition of EGFR and MEK surmounts entrectinib resistance in a brain metastasis model of NTRK1-rearranged tumor cells. **Cancer Sci**. 2022 Jul;113(7):2323-35. doi: 10.1111/cas.15354. PMID: 3536393
7. Sakaguchi H, Tanimoto A, Sato S, Yanagimura N, Suzuki C, Takumi Y, Nishiyama A, Yamashita K, Takeuchi S, Ohtsubo K, Yano S. Mediastinal malignant melanoma markedly shrinking in response to nivolumab. **Intern Med**. 2022 Jan 1;61(1):75-9. doi: 10.2169/internalmedicine.7452-21. PMID: 34176837

(共同研究)

1. Yaegashi H, Nohara T, Shigehara K, Izumi K, Kadono Y, Makino T, Yamashita K, Ohtsubo K, Ikeda H, Mizokami A. Survival outcomes of patients with primary mediastinal germ cell tumors: a retrospective single-institutional experience. **Cancer Diagn Progn**. 2022 May 3;2(3):352-9. doi: 10.21873/cdp.10116. PMID: 35530648
2. Nakamura Y, Okamoto W, Denda T, Nishina T, Komatsu Y, Yuki S, Yasui H, Esaki T, Sunakawa Y, Ueno M, Shinozaki E, Matsuhashi N, Ohta T, Kato K, Ohtsubo K, Bando H, Hara H, Satoh T, Yamazaki K, Yamamoto Y, Okano N, Terazawa T, Kato T, Oki E, Tsuji A, Horita Y, Hamamoto Y, Kawazoe A, Nakajima H, Nomura S, Mitani R, Yuasa M, Akagi K, Yoshino T. Clinical validity of plasma-based genotyping for microsatellite instability assessment in advanced GI cancers: SCRUM-Japan GOZILA Substudy. **JCO Precis Oncol**. 2022 Feb;6:e2100383. doi: 10.1200/PO.21.00383. PMID: 35188805
3. Ueda R, Yamamoto N, Hori Y, Yoshida K, Ohtsubo K, Terashima T, Shimada T, Sai Y. Risk factors for interstitial lung disease induced by gemcitabine plus albumin-bound paclitaxel therapy in pancreatic ductal adenocarcinoma patients. **J Pharm Health Care Sci**. 2022 Feb 2;8(1):5. doi: 10.1186/s40780-021-00236-5. PMID: 35105386
4. Hino K, Nishina T, Kajiwarra T, Bando H, Nakamura M, Kadowaki S, Minashi K, Yuki S, Ohta T, Hara H, Mizukami T, Moriwaki T, Ohtsubo K, Komoda M, Mitani S, Nagashima F, Kato K, Yamada T, Hasegawa H, Yamazaki K, Yoshino T, Hyodo I. Association of ERBB2 copy number and gene coalterations with trastuzumab efficacy and resistance in human epidermal growth factor receptor 2-positive esophagogastric and gastric cancer. **JCO Precis Oncol**. 2022 Aug;6:e2200135. doi: 10.1200/PO.22.00135.
5. Bando H, Nakamura Y, Taniguchi H, Shiozawa M, Yasui H, Esaki T, Kagawa Y, Denda T, Satoh T, Yamazaki K, Sunakawa Y, Kato T, Goto M, Yuki S, Nishina T, Oki E, Shinozaki E, Matsuhashi N, Takahashi N, Tsuji A, Ohtsubo K, Wakabayashi M, Ikeno T, Hata M, Odegaard JI, Yoshino T. Effects of metastatic sites on circulating tumor DNA in patients with metastatic colorectal cancer. **JCO Precis Oncol** 6: e2100535, 2022.
6. Tanaka H, Sakamoto H, Akita T, Ohyanagi F, Kawashima Y, Tambo Y, Tanimoto A, Horiike A, Miyauchi E, Tsuchiya-Kawano Y, Yanagitani N, Nishio M. Clinical efficacy of dacomitinib in rechallenge setting for patients with epidermal growth factor receptor mutant non-small cell lung cancer: A multicenter retrospective analysis (TOPGAN2020-02). **Thorac Cancer**. 2022 May;13(10):1471-8.
7. Zhang B, Liang H, Liu W, Zhou X, Qiao S, Li F, Tian P, Li C, Ma Y, Zhang H, Zhang Z, Nanjo S, Russo A, Puig-Butillé JA, Wu K, Wang C, Zhao X, Yue D. A novel approach for the non-invasive diagnosis of pulmonary nodules using low-depth whole-genome sequencing of cell-free DNA. **Transl Lung Cancer Res**. 2022 Oct;11(10):2094-110. doi: 10.21037/tlcr-22-647.

8. Yoshimura A, Yamada T, Serizawa M, Uehara H, Tanimura K, Okuma Y, Fukuda A, Watanabe S, Nishioka N, Takeda T, Chihara Y, Takemoto S, Harada T, Hiranuma O, Shirai Y, Shukuya T, Nishiyama A, Goto Y, Shiotsu S, Kunimasa K, Morimoto K, Katayama Y, Suda K, Mitsudomi T, Yano S, Kenmotsu H, Takahashi T, Takayama K. High levels of AXL expression in untreated EGFR-mutated non-small cell lung cancer negatively impacts the use of osimertinib. **Cancer Sci.** 2022 Sep 28. doi: 10.1111/cas.15608. Online ahead of print.
9. Taniguchi H, Akagi K, Dotsu Y, Yamada T, Ono S, Imamura E, Gytoku H, Takemoto S, Yamaguchi H, Sen T, Yano S, Mukae H. Pan-HER inhibitors overcome lorlatinib resistance caused by NRG1/HER3 activation in ALK-rearranged lung cancer. **Cancer Sci.** 2022 Sep 10. doi: 10.1111/cas.15579. Online ahead of print. PMID:36086904
10. Kasai S, Kuwayama N, Motoo Y, Kawashima A, Matsumoto K, Yano S, Matsushima K, Yasumoto K. Dual blockade of MET and VEGFR2 signaling pathways as a potential therapeutic maneuver for peritoneal carcinomatosis in scirrhous gastric cancer. **Biochemical Biophysical Res Commun**, 2022 Apr 16;600:80-86. doi: 10.1016/j.bbrc.2022.02.045. Epub 2022 Feb 14.
11. Okura E, Nishino Y, Sakashita K, Tanimoto A, Hayashi R, Yoshida Y, Nakada M, Koizumi T, Yano S, Nakazawa Y. Cancer among children, adolescents and young adults in the Hokushi region, Japan, between 2010 and 2015. **Jpn J Clin Oncol.** 2022 Jan 3;52(1):86-95. doi: 10.1093/jjco/hyab174.
12. Tanimura K, Yamada T, Okada K, Nakai K, Horinaka M, Katayama Y, Morimoto K, Ogura Y, Takeda T, Shiotsu S, Ichikawa K, Watanabe S, Morimoto Y, Iwasaku M, Kaneko Y, Uchino J, Taniguchi H, Yoneda K, Matoba S, Sakai T, Uehara H, Yano S, Kusaba T, Katayama R, Takayama K. HER3 activation contributes toward the emergence of ALK inhibitor-tolerant cells in ALK-rearranged lung cancer with mesenchymal features. **NPJ Precis Oncol.** 2022 Jan 18;6(1):5. doi: 10.1038/s41698-021-00250-8.
13. Nasrin M, Ahmed O, Han X, (equally contributed), Nojebuzzama M, Abo-Ahmed A, Yazawa S, Osawa M, Generation of Pmel-dependent conditional and inducible Cre-driver mouse line for melanocytic-targeted gene manipulation. *Pigment cell & Melanoma Research*. 01 Nov. 2022. doi: 10.1111/pcmr.13074.

著書・総説

1. 南條成輝, 矢野聖二. 薬剤耐性と個別化治療研究. 日本臨床増刊号 80(8): 85-90, 2022
2. 小谷 浩. がんに対する新しい治療法と未来型医療. 3) Bispecific 抗体
腫瘍内科 29(5):544-50, 2022

<学会発表>

1. 第 19 回日本臨床腫瘍学会学術講演会 矢野聖二. Message from specialist subcommittee. 2022 年 2 月 京都 Web
2. 第 19 回日本臨床腫瘍学会学術講演会 Nanjo S, Wu W, Karachaliou N, Blakely CM, Suzuki J, Chou YT, Ali SM, Kerr DL, Olivas VR, Shue J, Rotow J, Mayekar MK, Haderk F, Chatterjee N, Urisman A, Yeo JC, Skanderup AJ, Tan AC, Tam WL, Arrieta O, Hosomichi K, Nishiyama A, Yano S, Kirichok Y, Tan DS, Rosell R, Okimoto RA, Bivona TG. Deficiency of the splicing factor RBM10 limits EGFR inhibitor response in EGFR-mutant lung cancer. 2022 年 2 月 京都 Web
3. 第 19 回日本臨床腫瘍学会学術講演会 Sato S, Suzuki C, Koichi M, Nishioka R, Sakaguchi H, Kotani H, Nishiyama A, Nanjo S, Yamashita K, Ohtsubo K, Takeuchi S, Yano S. Improvement of Anti-TIF1- γ Antibody positive dermatomyositis after chemotherapy for peritoneal cancer; a case report. 2022 年 2 月 京都 Web
4. 第 108 回日本消化器病学会総会 大坪公士郎, 三宅邦夫, 来間佐和子, 仲程純, 菊山正隆, 山下 要, 矢野聖二. 内視鏡的経鼻膵管ドレナージによる膵液を用いた膵疾患における miRNA のメチル化異常の検討. 2022 年 4 月 東京
5. 第 62 回日本呼吸器学会学術講演会 南條成輝, Ross Okimoto, 矢野聖二, Trever Bivona. EGFR 変異肺癌において併存する RBM10 遺伝子変異による EGFR-TKI 耐性～なぜ EGFR L858R 変異に効きにくいのか～. 2022 年 4 月 京都
6. 第 26 回日本がん分子標的治療学会学術集会 大坪公士郎, 新井祥子, 福田康二, 坂口裕之, 鈴木千晶, 西山明宏, 南條成輝, 竹内伸司, 矢野聖二. 膵胆道疾患における胆汁中癌抑制型 miRNA のメチル化異常の検討と血漿への応用. 2022 年 6 月
7. 第 26 回日本がん分子標的治療学会学術集会 西山明宏, 柳村尚寛, 鈴木千晶, 谷本 梓, 竹内伸司, 大坪公士郎, 矢野聖二. 放射線治療後にパゾパニブが奏効した PDGFRB N666K 陽性左房原発内膜肉腫の一例. 2022 年 6 月 金沢

8. 第 5 回日本腫瘍循環器学会学術集会 坂口裕之, 南條成輝, 下島正也, 鈴木千晶, 佐藤成樹, 小谷 浩, 西山明宏, 山下 要, 竹内伸司, 大坪公士郎, 矢野聖二. 「抗がん薬関連心・血管系有害事象」免疫抑制剤の追加が有効であったステロイド不応性免疫関連有害事象 (irAE)心筋炎の二例. 2022 年 9 月 Web
9. 第 87 回日本内科学会北陸支部生涯教育講演会 矢野聖二. 進化する肺がんの薬物療法. 2022 年 9 月 Web
10. 第 81 回日本癌学会学術総会 南條成輝, Ross Okimoto, 矢野聖二, Trever Bivona. EGFR 変異肺癌における RBM10 遺伝子変異共存を通してみえてきた遺伝的な不均一性の克服 ～共存遺伝子による層別化と個別化治療～. 2022 年 9 月 横浜
11. 第 81 回日本癌学会学術総会 矢野聖二. モーニングセミナー・がんの薬物耐性と克服に向けた新たなアプローチ. 2022 年 9 月 横浜
12. 第 81 回日本癌学会学術総会 矢野聖二. モーベルネアワード・Circumvention of molecular-targeted drug-resistance in lung cancer. 2022 年 9 月 横浜
13. 第 81 回日本癌学会学術総会 Han X, Kodera N, Matsumoto K, Yano S. HS-AFM imaging the dynamic structure of EML4-ALK fusion. 2022 年 9 月 横浜
14. 第 30 回日本消化器関連学会週間 (第 104 回日本消化器内視鏡学会総会) 大坪公士郎, 三宅邦夫, 来間佐和子, 仲程 純, 菊山正隆, 山下 要, 矢野聖二. 各種リキッドバイオプシーを用いた膵胆道疾患における miRNA のメチル化異常の検討. 2022 年 10 月 福岡
15. 第 63 回日本肺癌学会学術集会 南條成輝, 矢野聖二. EGFR 変異肺癌において併存する RBM10 遺伝子変異による EGFR 阻害薬耐性~なぜ EGFR L858R 変異には効きにくい? 2022 年 12 月 福岡

<学会発表・国際>

1. IAP&JPS 2022. Ohtsubo K, Miyake K, Arai S, Fukuda K, Suzuki C, Kotani H, Tanimoto A, Nishiyama A, Nanjo S, Yamashita K, Takeuchi S, Yano S. Application of Methylation of Tumor Suppressive miRNAs in Plasma from Patients with Pancreaticobiliary Diseases. 2022 年 7 月 京都
2. Leading Edge of Cancer Research Symposium. Tanimoto A. The impact of targeting TRAF2 and NCK-interacting protein kinase (TNIK) on anti-tumor effect in small cell lung cancer. 2022 年 11 月 米国ヒューストン
3. The 26th JFCR-ISCC symposium. Kotani H, Yano S. SUMOylation inhibition modulates tumor immunity and activates immune cells. 2022 年 12 月 東京
4. 12 th AACR-JCA Joint Conference. Yano S, Kotani H. SUMOylation inhibition activates immunity. 2022 年 12 月 米国マウイ

<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 研究分担者
代謝型グルタミン酸受容体を標的としたがん脳転移治療法の開発 3,000千円
2. 日本医療研究開発機構 革新的がん医療実用化研究事業
矢野聖二 研究分担者
難治性呼吸器腫瘍等の全ゲノム配列データおよび臨床情報等の収集と解析に関する研究 600千円
3. 基盤研究 (C) 日本学術振興会
大坪公士郎 研究代表者
膵癌高危険群における膵液中マイクロRNAとエピゲノム解析による早期診断法の確立 600千円
4. 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 1,200千円
5. 基盤研究 (C) 日本学術振興会
山下 要 研究分担者
膵癌高危険群における膵液中マイクロRNAとエピゲノム解析による早期診断法の確立 100千円
6. 若手研究 日本学術振興会
南條成輝 研究代表者
EGFR変異肺がんにおいて併存するRBM10遺伝子変異の機能解析 1,200千円
7. 若手研究 日本学術振興会
福田康二 研究代表者
EGFR肺癌の髄膜癌腫症におけるEGFR-TKI耐性克服治療の開発 900千円
8. 基盤研究 (C) 日本学術振興会
Xujun Han 研究代表者
Significance and Mechanisms of Phase Separation Mediated by Cancer-Driving Fusion Oncoprotein EML4-ALK as Revealed by High-Speed AFM. 22K07208. 2022~2025. 1,100千円
9. 若手研究 日本学術振興会
新井祥子 研究代表者
ALK肺がんの髄膜がん腫症におけるALK-TKI耐性克服治療の開発 1,800千円

10. 金沢大学附属病院 令和4年度戦略的研究推進プログラム B4 プロジェクト
矢野聖二 研究代表者
肺がんの分子標的薬耐性を克服する拠点の形成 5,000 千円
11. 金沢大学附属病院 令和4年度戦略的研究推進プログラム B4 プロジェクト
竹内伸司 研究分担者
肺がんの分子標的薬耐性を克服する拠点の形成 500千円
12. 金沢大学附属病院 令和4年度戦略的研究推進プログラム B4 プロジェクト
南條成輝 研究分担者
肺がんの分子標的薬耐性を克服する拠点の形成 500千円
13. 金沢大学附属病院 令和4年度戦略的研究推進プログラム B4 プロジェクト
小谷 浩 研究分担者
肺がんの分子標的薬耐性を克服する拠点の形成 500千円
14. 金沢大学附属病院 令和4年度戦略的研究推進プログラム B4 プロジェクト
福田康二 研究分担者
肺がんの分子標的薬耐性を克服する拠点の形成 500千円
15. 中外製薬研究活動助成金
矢野聖二
EGFR 肺がんを共存変異で層別化する個別化医療の開発 800 千円
16. 大鵬薬品工業株式会社研究助成金
矢野聖二
腭液中 miRNA とエピゲノム解析による腭癌早期診断法の確立 600 千円
17. 第一三共株式会社研究助成金
矢野聖二, 小谷 浩
MYC転座を有する再発・難治性高悪性度B細胞リンパ腫の治癒率を向上する治療法開発のための研究 500千円
18. 協和キリン株式会社研究助成金
矢野聖二
EGFR 肺がんを共存変異で層別化する個別化医療の開発 300 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（3 月 17 日，7 月 21 日，11 月 24 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（169 件）

3. 外来化学療法を提供

金沢大学附属病院で外来化学療法センターを運営

4. 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

5. 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

Professors

Atsushi Hirao 平尾 敦

Associate Professors

Yoshio Endo 遠藤 良夫, Kouji Kuno 久野 耕嗣

【 Abstract 】

Enhancing effect of a novel Schiff base derivative combined with tyrosine kinase inhibitor on photodynamic therapy using 5-ALA (Endo)

A precursor of protoporphyrin IX (PpIX), 5-aminolevulinic acid (ALA), is widely used for PpIX-dependent photodynamic diagnosis and photodynamic therapy (PDT) to treat various cancers. We demonstrated previously that the Schiff base derivative TX-816 markedly increased the effect of ALA-based photodynamic therapy (ALA-PDT) by facilitating intracellular PpIX accumulation. However, TX-816 is unstable in aqueous solutions and quickly hydrolyzes into 3,5-dichlorosalicylaldehyde (DCSA) and 2-chloro-4-nitroaniline (CNA). Recently, we found that a TX-816 derivative (YS3-35) in which CNA was substituted with dasatinib, a dual Src/Abl tyrosine kinase inhibitor, has a strong enhancing effect on ALA-PDT. Therefore, we newly synthesized a YS3-35 derivative (YS6-39) in which the carbon-nitrogen double bond of YS3-35 was reductively aminated. Consequently, YS6-39 exhibited stronger ALA-PDT-enhancing activity and higher intracellular PPIX accumulation in cancer cells with elevated levels of ABCG2 than dasatinib. However, these activities of YS6-39 were less pronounced than those of YS3-35. These findings suggest that DCSA combined with tyrosine kinase inhibitor as a Schiff base may play an important role as an ALA-PDT sensitizer.

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. Uterine strips prepared from ADAMTS-1 null mice of the prepartum period showed reduced contractile responses to uterotonins. When uterine expression of ADAMTS1 mRNA during mouse pregnancy was examined by real-time PCR, ADAMTS1 mRNA was gradually increased on gestation day 8 and maintained at high levels from day 12 to day 19 at the prepartum period. Since ADAMTS-1 null mice showed significantly reduced expression of uterine genes encoding for contraction-associated proteins (CAPs) on gestation day 19, these results suggest that ADAMTS-1 participates in the induction of CAP genes prior to onset of labor as a preexisting factor in mouse uteri. We are currently examining the uterine expression sites of ADAMTS1 protein and investigating the role of ADAMTS-1 in the organization and activation processes of both myometrial and decidual layers during the prepartum period as well as the cervical ripening process.

＜2022 年の研究成果，進捗状況及び今後の計画＞

チロシンキナーゼ阻害剤を結合させた新規シッフ塩基による5-アミノレブリン酸を用いるがん光線力学的療法の効果増強（遠藤）

5-アミノレブリン酸（ALA）は，がん細胞内で代謝活性化される新世代の光感受性物質としてがんの光線力学的診断（PDD）や治療（PDT）に用いられている。我々は，これまでの研究で，ALA との同時処理により細胞内 PpIX 量を増加させて PDT 効果を増強するシッフ塩基化合物 TX-816 を見出した。TX-816 は水溶液中で加水分解を受け，活性本体である 3,5-ジクロロサリチルアルデヒド（DCSA）と 2-クロロ-4-ニトロアニリン（CNA）に分解する。昨年度の研究では，TX-816 の CNA 部位を分子標的治療薬として使用されているチロシンキナーゼ阻害剤のひとつであるダサチニブに置換した誘導体 YS3-35 を合成し，その ALA-PDT 効果増強活性を検討した。その結果，YS3-35 は PpIX の排出ポンプとして働くトランスポーターである ABCG2 を阻害することで ALA-PDT 効果増強活性を発揮することが示された。本年度は，YS3-35 の炭素-窒素二重結合の還元的アミノ化により加水分解を受けない誘導体 YS6-39 を合成し，ALA の取り込みトランスポーターであるヒト PEPT1 を強制発現させたヒト線維肉腫 HT-1080 細胞に対する ALA-PDT 効果増強活性を検討した。その結果，YS6-39，YS3-35 およびダサチニブの効果増強活性は，YS3-35 > YS6-39 > ダサチニブであり，細胞内 PpIX 蓄積の促進作用も同様の傾向を示した。以上の結果より，チロシンキナーゼ阻害剤に DCSA を導入することで光線力学的治療薬の効果増強剤の分子設計が可能であることが示され，今後，更なる新規誘導体の開発研究を展開する予定である。

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，卵胞生育過程における異常や排卵障害を示す。一方 BALB/c 遺伝子背景の ADAMTS-1^{-/-}マウスは分娩異常を示す。分娩前の ADAMTS-1^{-/-}マウスの子宮条片を用いた収縮実験では，Oxytocin，プロスタグランジンへの収縮応答性の低下と自発収縮力の低下をこれまでに見いだしている。マウス子宮での妊娠期間における ADAMTS1 mRNA の発現量の経時変化を qPCR 法で調べた結果，ADAMTS1 mRNA は妊娠 8 日目から増加し，その後 12 日目から分娩前の 19 日目にかけて高いレベルの発現が観察された。一方で ADAMTS-1^{-/-}マウスでは，分娩前の 19 日目において Oxytocin receptor, Connexin43 などの収縮調節タンパク(CAP)遺伝子群の発現の低下が認められる。これらの結果から ADAMTS-1 は子宮で先天的に発現する因子として，分娩前の CAP 遺伝子群の発現誘導に必要であることが示唆された。現在，子宮組織における ADAMTS-1 タンパクの発現部位の解析を含め、脱落膜層および子宮平滑筋層の分娩前の活性化や組織構築における ADAMTS-1 の役割や，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も解析を行う。

【 研 究 業 績 】

<発表論文>

著書・総説（共同研究）

1. Yonemura Y, Ishibashi H, Mizumoto A, Tukiya G, Liu Y, Wakama S, Sako S, Takao N, Kitai T, Katayama K, Kamada Y, Taniguchi K, Fujimoto D, Endou Y, Miura M: The Development of Peritoneal Metastasis from Gastric Cancer and Rationale of Treatment According to the Mechanism. (Commentary) J Clin Med. 2022 Jan 17;11(2):458. doi: 10.3390/jcm11020458

<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: チロシンキナーゼ阻害剤を結合させた新規 Schiff 塩基による 5-アミノレブリン酸を用いるがん光線力学的療法の効果増強 日本薬学会第142年会 2022年3月25日-28日（名古屋）（オンライン開催）
2. Yoshio Endo, Yoshihiro Uto, Yusei Shinohara, Chiaki Abe, Tohru Obata, Shun-ichiro Ogura, Yutaka Yonemura: Enhancing effect of novel Schiff base derivative combined with tyrosine kinase inhibitor on photodynamic therapy using 5-ALA. チロシンキナーゼ阻害剤を結合させた新規 Schiff 塩基による 5-アミノレブリン酸を用いるがん光線力学的療法の効果増強 第81回日本癌学会学術総会 2022年9月29日（木）～10月1日（土）（横浜, パシフィコ横浜, 会議センター・展示ホール） The 81th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. Pacific Convention Plaza Yokohama (PACIFICO Yokohama)

<外部資金>

1. 科学研究費補助金 基盤研究（C） 代表：遠藤 良夫（直接経費：1,100千円）
多機能性チロシンキナーゼ阻害薬の創出とがん光線力学療法への応用研究
2. 科学研究費補助金 基盤研究（C） 分担：遠藤 良夫（直接経費：200千円）
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 students Sarah Montazkari (D1) (Co-supervisor: Chiaki Takahashi)

Anahita Dev Choudhury (D1)

【 Abstract 】

Classically, a proinflammatory tumor microenvironment is thought to promote carcinogenesis and tumor growth. 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 poorly understood. Moreover, with the advent of cancer immunotherapy, it is now well appreciated that recruitment of certain subtypes of immune cells hold the key to turning a “cold” tumor “hot”. In this context, we are interested in the role of epithelial-derived IL23A (eIL23A) in modulating immunity during gastrointestinal infection and carcinogenesis, and its potential impact on tumor immunity.

< 2022 research achievement and future plan >

Having established that epithelial IL23A (eIL23A) functionally augments canonical IL-23 in the production of proinflammatory cytokines to induce tumor immunity in *ex vivo* and *in vivo* models, we sought to understand the molecular mechanisms through which this is accomplished. Using an IL-23-responsive T-ALL cell model, we demonstrate that eIL23A strengthens the induction of JAK-STAT pathway by IL-23. Specifically, the phosphorylation of STAT3 and STAT1 were elevated by the co-treatment of eIL23A in a time- and dose-dependent manner. As the IL-23/IL23R signal axis is crucial for Th17 and ILC3 function, we are now establishing a Th17/ILC3 gene signature with which we will determine if eIL23A enhances the effector functions of IL-23. At the molecular level, we are undertaking a proximity biotinylation approach to empirically elucidate the molecular partners through which eIL23A increases IL-23 signaling output. Working with our collaborator (Nobuyuki Kurosawa, University of Toyama), we have isolated and validated a novel anti-IL23A monoclonal antibody, which binds specifically to eIL23A with high affinity. We have optimized this for ELISA and will be using this to demonstrate the secretion of eIL23A in primary human tissues or organoids. To understand the *in vivo* contribution of epithelial IL23A, we work closely with Jun Won Park (Kangwon National University; Korea) for the analysis of *Il23a* conditional knockout mouse tissues during *Helicobacter*-induced gastric inflammation. This will remain a focus of our research in the coming year. In the meantime, our active collaboration has resulted in a recent publication.

【 Achievements 】

<Publications (Primary)>

1. Kwon JW, Seok SH, An HW, Choudhury AD, Woo SH, Oh JS, Voon DC*, Kim DY* and Park JW* (2022) *A Synergistic Partnership Between IL-33/ST2 and Wnt pathway Through Bcl-xL Drives Gastric Cancer Stemness and Metastasis*. Oncogene 2022 Dec 16. doi: 10.1038/s41388-022-02575-5. *Joint Corresponding Authors

<Publications (Collaboration)>

1. Koh CP, Bahirvani AG, Wang CQ, Yokomizo T, Ng CEL, Du L, Tergaonkar V, Voon DC, Kitamura H, Hosoi H, Sonoki T, Michelle MMH, Tan LJ, Niibori-Nambu A, Zhang Y, Perkins AS, Hossain Z, Tenen DG, Ito Y, Venkatesh B, Osato M (2022) *Highly efficient Runx1 enhancer eR1-mediated genetic engineering for fetal, child and adult hematopoietic stem cells*. Gene; **851**:147049
2. Woo A, Leedman P, Kim M, Lee BK, Hibbs M, Richardson K, Ellies L, Singh M, Wintle L, Stuart L, Wang J, Voon DC, Blancafort P, Wang JL, and Kim JH. (2022) *A MYC-ZNF148-ID1/3 regulatory axis modulating cancer stem cell traits in aggressive breast cancer*. Oncogenesis, **11**(1):60. doi: 10.1038/s41389-022-00435-1.
3. Sakai K, Sugano-Nakamura N, Mihara E, Rojas-Chaverra NM, Watanabe S, Sato H, Imamura R, Voon DC, Sakai I, Yamasaki C, Tateno C, Shibata M, Suga H*, Takagi J*, and Matsumoto K* (2022) *Designing receptor agonists with enhanced pharmacokinetics by grafting macrocyclic peptides into fragment crystallizable regions*. Nat. Biomed. Eng. DOI:10.1038/s41551-022-00955-6
4. Kolinjivadi AM, Krishnan V, Sankar H, Tay LS, Ramveer Choudhary, Tuan Zea Tan, Murata-Kamiya M, Voon DC, Kappei D, Hatakeyama M, Ito Y. (2022) *The H. pylori CagA oncoprotein induces DNA double strand breaks through Fanconi Anemia pathway downregulation and replication fork collapse*. 2022, Int J Mol Sci. Jan 31;23(3):1661.

<2022 Research Funds>

1. 科学研究費補助金（基盤研究 C）：課題番号：22K07209. Dominic Voon（代表）
Title: *Investigating the role of epithelial cell-derived IL23A in immunity and inflammation-associated carcinogenesis*
2022-2024; Total direct fund: 4,160 千円

Cancer-Immune System Interactions

がん-免疫系相互作用ユニット

Associate Professor Kohsuke Tsuchiya 土屋 晃介

【 Abstract 】

Pyroptosis is a pro-inflammatory form of regulated necrosis caused after 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. The purpose of this study is to identify a novel GSDM-activating protease. It was found that caspase-12 from certain species activates GSDMD. Furthermore, caspase-12 was found to be activated by a bacterial-derived molecular pattern, suggesting that the caspase is a novel pathogen sensor. Detailed analysis of the activation mechanism of caspase-12 is ongoing. In addition, we are searching for bacterial/fungal proteases that activate GSDM and anticancer agents that tend to induce pyroptosis.

＜2022 年の研究成果，進捗状況及び今後の計画＞

パイロトーシスと呼ばれるネクローシス様のプログラム細胞死は，炎症生物質を放出することで炎症を惹起し，生体防御やがん免疫の活性化などに寄与する。ガスダーミンファミリー分子（GSDM）は，パイロトーシスの実行因子であり，特定のプロテアーゼによって切断されることで活性化する。本研究では GSDM を活性化する新規プロテアーゼの同定を進めている。

本研究において，特定の生物種由来のカスパーゼ-12 が GSDMD を活性化することがわかった。さらに，カスパーゼ-12 が細菌由来分子パターンによって活性化されることが明らかになり，同分子が新しい病原体センサーである可能性が示唆された。その活性化機序について詳細な解析を続けている。

その他，GSDM を活性化させる細菌/真菌由来のプロテアーゼの探索やパイロトーシスを引き起こしやすい抗がん剤の探索などを行っている。

【 研 究 業 績 】

< 発表論文 >

原著（共同研究）

Tanishita Y, Sekiya H, Inohara N, Tsuchiya K, Mitsuyama M, Núñez G, Hara H. Listeria toxin promotes phosphorylation of the inflammasome adaptor ASC through Lyn and Syk to exacerbate pathogen expansion. *Cell Reports*, 38:110414, 2022.

< 学会発表 >

土屋晃介, 細島祥子, 須田貴司. パイロトーシスを誘導する新規カスパーゼの同定と活性化機序の解明. 第33回日本生体防御学会学術総会. 2022年9月15~17日(鹿児島).

< 外部資金 >

1. 科学研究費補助金 挑戦的研究(萌芽)「ガスダーミン・ファミリー分子を成熟化させる細菌・真菌由来プロテアーゼの探索」(土屋晃介)(代表) 全体期間: 2022~2025 年度 配分額(2022 年度): 2,300 千円
2. 科学研究費補助金 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」(土屋晃介)(分担) 全体期間: 2020~2022 年度 配分額(2022 年度): 300 千円
3. AMED 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策実用化研究事業「過栄養による肝細胞死の様式変容とその生活習慣病発症・増悪のメカニズムの解明」(土屋晃介)(分担) 全体期間: 2021~2023 年度 配分額(2022 年度): 1,000 千円

Microenvironment Regulation in Cancer Stem Cells Unit

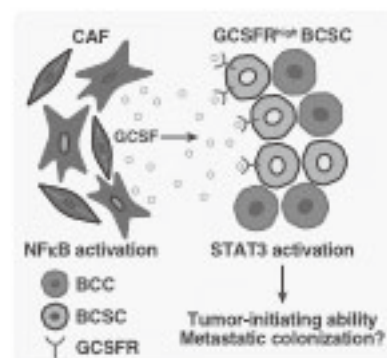
がん幹細胞環境制御ユニット

Assistant Professor Yasuto Takeuchi 竹内 康人

【 Abstract 】

Accumulating evidence has been reported the presence of cancer stem-like cells (CSCs) in many types of tumors. Cancer stem cells have a high tumor-initiating ability and are resistant to anticancer treatment, such as chemotherapy and radiation. In addition, it has been suggested that they are closely related to cancer metastasis and recurrence. [Batlle E .et al., Nature Medicine, 2017.] One of the biggest problems in current cancer therapy is that there is still no effective treatment for metastatic or recurrent cancer. Therefore, we aim to establish a novel therapeutic method for refractory cancer by targeting cancer stem cells.

Although CSCs interact with cancer-associated fibroblasts (CAFs), it remains obscure how it occurs and what are the functional roles of this interaction. When patient-derived breast cancer cells were cultured in the conditioned medium of CAFs, significantly more spheroids were formed compared to those cells cultured in the regular medium. This suggests that the conditioned medium from CAFs contains soluble factors that increase tumor-initiating ability of CSCs. To identify such factors, we performed transcriptome analysis by comparing CAFs cultured alone with those co-cultured with breast cancer cells. The results showed that the expression of granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) was highly upregulated. Tumor-initiating ability was increased in the presence of G-CSF. G-CSF neutralizing antibody treatment suppressed tumorigenesis in the patient-derived xenograft (PDX) model. Inhibition of G-CSF would be a potential therapeutic target against CSCs.



<2022 年の研究成果、進捗状況及び今後の計画>

今年度は乳がん幹細胞様細胞とがん関連線維芽細胞との相互作用に関する研究を進めた。CAFs の培養上澄でヒト乳がん細胞をスフェア培養したところ、スフェア培地と比較して、より大きなスフェアがより多く形成された。CAFs の培養上澄には腫瘍形成能を増加させる因子が含まれていることが示唆された。乳がん細胞の腫瘍形成能を増加させる CAFs 由来の分泌因子を同定するために、単独培養した CAFs と乳がん細胞と共培養した CAFs の比較によるトランスクリプトーム解析を行った。その結果、乳がん細胞と共培養した CAFs では、NFκB の活性化を認め、発現増加が見られた因子として、顆粒球/マクロファージコロニー刺激因子 (Granulocyte-macrophage colony stimulating factor: GM-CSF/CSF2) と顆粒球コロニー刺激因子 (Granulocyte colony stimulating factor: G-CSF/CSF3) を同定した。乳がん幹細胞の腫瘍形成能に対する GM-CSF/G-CSF の影響を、スフェア培養と limiting dilution assay で、調べたところ、

GM-CSF/G-CSF の濃度依存的に腫瘍形成能の増加が見られた。また、G-CSF の受容体である G-CSFR の発現を乳がん細胞で調べたところ、乳がん細胞の単独培養時と比べて、CAFs と共培養した乳がん細胞では、発現が増加していた。免疫不全マウスに患者由来乳がん細胞を皮下移植し、G-CSF 中和抗体を投与したところ、腫瘍増殖の抑制が見られ、STAT3 の活性化の低下が見られた。これらの結果から、CAFs から分泌された GM-CSF/G-CSF は、G-CSFR 高発現細胞に作用し、腫瘍形成能を制御していることが明らかになった。さらに、この経路を抑制することが乳がん幹細胞に対する新たな治療標的となることが示唆された。

【 研 究 業 績 】

<学会発表>

1. **Yasuto Takeuchi**, Tatsunori Nishimura, Mengjiao Li, Yuming Wang, Noriko Gotoh: The membrane-linked adaptor FRS2b fashions a cytokine-rich microenvironment that promotes breast cancer carcinogenesis. 17th International Symposium of The Institute Network for Biomedical Sciences International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa 2022, 2022 CRI and DUKE-NUS Joint Symposium. Fundamental Biological Principles and Cancer, October 13-14, Kanazawa.
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: 乳がん幹細胞とがん関連線維芽細胞における相互作用の解明. 第 81 回日本癌学会, 2022.9.29-10.1. 横浜, 査読無
3. **竹内康人**, 木村奈津子, 村山貴彦, 町田雪乃, 家島大輔, 西村建徳, 王禹銘, 坂本理恵子, 山本瑞生, 板野直樹, 井上優介, 伊藤正孝, 吉田進昭, 井上純一郎, 赤司浩一, 佐谷秀行, 藤田浩司, 黒田雅彦, 北林一生, 東條有伸, 後藤典子: 細胞質アダプタータンパク FRS2b 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. 第 8 回がん代謝研究会, 2022.7.19-7.22. 佐渡, 査読無
4. **竹内康人**, 木村奈津子, 村山貴彦, 町田雪乃, 家島大輔, 西村建徳, 王禹銘, 坂本理恵子, 山本瑞生, 板野直樹, 井上優介, 伊藤正孝, 吉田進昭, 井上純一郎, 赤司浩一, 佐谷秀行, 藤田浩司, 黒田雅彦, 北林一生, 東條有伸, 後藤典子: 細胞質アダプタータンパク FRS2b 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. 第 26 回日本がん分子標的治療学会, 2022.6.29-7.1. 金沢, 査読無
5. **竹内康人**, 木村奈津子, 村山貴彦, 町田雪乃, 家島大輔, 西村建徳, 王禹銘, 坂本理恵子, 山本瑞生, 板野直樹, 井上優介, 伊藤正孝, 吉田進昭, 井上純一郎, 赤司浩一, 佐谷秀行, 藤田浩司, 黒田雅彦, 北林一生, 東條有伸, 後藤典子: 細胞質アダプタータンパク FRS2b 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. 第 32 回日本サイトメトリー学会, 2022.5.28-29. オンライン, 査読無
6. **竹内康人**: 乳がん幹細胞様細胞とがん関連線維芽細胞における相互作用の解明. 第 4 回若手ワークショップ細胞社会ダイバーシティの統合的解明と制御, 2022.1.26-28. オンライン, 査読無

<外部資金>

1. 「令和 4 年度 科学研究費助成事業 若手研究」,「がん幹細胞分裂様式の制御メカニズムの解明」, 竹内康人, 代表, 令和 3 年度-令和 7 年度, 4,550,000 円
2. 「令和 4 年度 新学術創成研究機構 異分野融合研究推進費」,「乳がん悪性転化機構の解明」竹内康人, 代表, 令和 4 年度, 1,400,000 円
3. 「令和 4 年度 戦略的研究推進プログラム 先魁プロジェクト」,「双性イオン液体によるライフサイエンス基盤の革新と社会実装」分担, 令和 4 年度, 500,000 円
4. 第 14 回北陸銀行若手研究者助成金,「がん関連線維芽細胞によるがん幹細胞の維持機構の解明」代表, 令和 4 年度, 600,000 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 fuse and divide for their pleiotropic functions as a power plant (ATP supply) and as regulators in metabolic pathways, calcium and redox homeostasis, and apoptosis. Mitochondrial quality, distribution, size, and motility are excellently tuned by their continuous fusion and fission. Mitochondrial fusion and fission are regulated by a family of GTP-dependent dynamin-related proteins, Mitofusin1 (MFN1), Mitofusin2 (MFN2), Optic Atrophy1 (OPA1), and Dynamin-1-like protein (DRP1), and their expression can be linked to malignant phenotypes, such as chemo-resistance.

Mitochondria create contact sites between other organelles, especially with the endoplasmic reticulum (ER) for calcium homeostasis, lipid metabolism, protein homeostasis, and the platform for mitochondrial fusion and fission, autophagy/mitophagy, and replication of mitochondrial DNA. ER-mitochondria contacts are less in glioma stem-like cells, while the contacts are more created in differentiated glioma cells. Likewise, undifferentiated embryonic stem cells displayed distant organelles with fewer contacts, whereas differentiated cardiomyocytes showed closer organelles and more contacts, with an up-regulation of MFN2, a known tether protein.

MFN2 is involved in the fusion of the mitochondrial outer membrane with MFN1, and MFN2 also locates at the ER membrane and tethers ER and mitochondria. The molecular mechanism of how MFN2 regulates these two different events is unknown; thus, I have identified a novel MFN2-interacting protein, RAB35, using shotgun mass spectrometry with a purified mitochondria-associated membrane. Knockout of RAB35 increased ER-mitochondria contact sites by detecting the split GFP system, and this increase is MFN2-dependent.

＜2022 年の研究成果，進捗状況及び今後の計画＞

ミトコンドリアは小胞体と接点を形成し，この接点は 1) 小胞体からミトコンドリアへの Ca^{2+} の移行，2) 脂質代謝，3) ミトコンドリアの品質管理である mitophagy や細胞全体の autophagy にも関わり，4) ミトコンドリアの融合・分裂，5) 細胞分裂時のミトコンドリア DNA の複製の場となり，6) タンパク質の恒常性にも関与する。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ている。心筋細胞分化にともなって，MFN2 の発現が上昇するが，ミトコンドリア外膜融合因子であり，ミトコンドリアと小胞体を繋ぐ因子である MFN2 は，どのようにこれら 2 つの重要な機能を制御しているのか，分子メカニズムはわかっていない。そこで，ミトコンドリアと小胞体の接点周辺を細胞分画し，MFN2 と相互作用する新規タンパク質 RAB35 をショットガン MS 解析によって同定した。RAB35 の欠損によって，ミトコンドリアと小胞体の接点は増加し，この増加は MFN2 欠損によって解消され，PDZD8 という別のミトコンドリアと小胞体を繋ぐ因子の欠損では増加したままであるため，RAB35 は MFN2 による係留を解離する因子であると推察される。今後は，small GTPase である RAB35 の活性型，非活性型どちらが接点解除に関わっているか，

MFN2 のどの部位に作用しているか、また、幹細胞性や細胞老化における MFN2-RAB35 によるミトコンドリアと小胞体接点制御の役割について明らかにしていきたい。

【研究業績】

<発表論文>

1. Loc Thi Pham, Hui Peng, Masaya Ueno, Susumu Kohno, Atuso Kasada, Kazuyoshi Hosomichi, Takehiro Sato, Kenta Kurayoshi, Masahiko Kobayashi, Yuko Tadokoro, Atsuko Kasahara, Mahmoud I Shoukamy, Bo Xiao, Paul F Worley, Chiaki Takahashi, Atsushi Tajima, Atsushi Hirao

RHEB is a potential therapeutic target in T cell acute lymphoblastic leukemia, *Biochem Biophys Res Commun*, 621: 74-79, 2022

2. Yongwei Jing, Masahiko Kobayashi, Ha Thi Vu, Atsuko Kasahara, Xi Chen, Loc Thi Pham, Kenta Kurayoshi, Yuko Tadokoro, Masaya Ueno, Tomoki Todo, Mitsutoshi Nakada, Atsushi Hirao

Therapeutic advantage of targeting lysosomal membrane integrity supported by lysophagy in malignant glioma, *Cancer Sci*, 113: 2716-2726, 2022

<学会発表>

なし。

<外部資金>

なし。

基 礎 統 計

決算額（運営費交付金）

（単位：千円）

区 分		平成 30 年度	令和元年度	令和 2 年度	令和 3 年度	令和 4 年度
運営費交付金		498,004	507,855	513,654	506,529	521,557
内 訳	人件費	369,283	404,442	385,923	373,320	401,064
	物件費等	128,721	103,413	127,730	133,209	120,493

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 30 年度		令和元年度		令和 2 年度		令和 3 年度		令和 4 年度	
	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額
学術変革領域研究（A）	-	-	-	-	0	0	0	0	1	5,460		
新学術領域研究	4	30,680	0	0	1	3,120	1	3,120	0	0		
基盤研究（A）	3	36,660	3	36,270	2	22,230	2	20,540	2	22,230		
基盤研究（B）	4	25,480	7	42,250	8	43,290	8	43,030	7	35,750		
基盤研究（C）	15	23,660	16	24,570	20	30,420	18	23,660	17	23,660		
挑戦的萌芽研究	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
挑戦的研究（開拓）							1	10,400	1	5,200		
挑戦的研究（萌芽）	5	15,600	4	13,390	3	9,100	1	3,250	3	9,490		
若手研究（B）	7	12,480	0	0	0	0	0	0	0	0		
若手研究	5	11,700	9	15,080	9	17,550	9	14,820	7	12,090		
研究活動スタート支援	1	1,300	2	2,860	2	2,860	1	1,430	1	1,430		
特別研究員奨励費	4	3,894	1	1,040	0	0	1	800	2	1,100		
国際共同研究加速基金	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
合 計	48	161,454	42	135,460	45	128,570	42	121,050	41	116,410		

外部資金（間接経費を含む）

（単位：千円）

研究種目	年度		平成 30 年度		令和元年度		令和 2 年度		令和 3 年度		令和 4 年度	
	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額
受託研究	9	208,623	9	186,055	9	136,214	9	169,937	14	355,398		
受託事業経費	2	2,510	0	0	0	0	0	0	1	52		
補助金	1	2,000	0	0	0	0	0	0	0	0		
民間等との共同研究	4	3,489	4	10,482	3	23,847	6	16,475	4	6,840		
寄附金	24	22,935	19	19,170	16	15,040	17	16,400	21	56,200		
合 計	40	239,557	32	215,707	28	175,101	32	202,812	40	418,490		

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5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	2		1		38
			II						
		博士課程	I	1	5				
			II	2	6			1	
			III	2	3			1	
			IV	4	3	1	5		
	先進予防医学研究科	博士課程	I						0
			II						
			III						
			IV						
	新学術創成研究科	前期課程	I	1					1
			II						
		後期課程	I						
			II						
			III						
	自然科学研究科	前期課程	I			1			3
			II	1					
		後期課程	I			1			
			II						
			III						
研究生（特別研究学生含む）									0

交流協定校

令和5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. 第17回生命医科学研究所ネットワーク国際シンポジウム及び金沢国際がん生物学シンポジウム2022（合同開催）

The 17th International Symposium of the Institute Network for Biomedical Sciences & International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa 2022

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：2022年10月13日(木)、14日(金)
場 所：ナノ生命科学研究所4階会議室及びオンライン

テ ー マ：Fundamental Biological Principles and Cancer

参加者数：370名





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5年2月15日(水) 13:00～17:10

場 所：ナノ生命科学研究所4階会議室及びオンライン

参加者数：133名

【共同研究成果報告1】

「microRNA生合成制御による非アルコール性脂肪肝および肝細胞癌の発症機序の解明」

樋口 琢磨（高知大学総合研究センター 分子生物学教室）

「ヒストン修飾酵素を標的とした脳腫瘍新規治療薬の開発」

新城 恵子（名古屋大学大学院医学系研究科 腫瘍生物学）

「がん代謝ターゲット治療への感受性規定因子・

獲得耐性メカニズム」

田沼 延公（宮城県立がんセンター研究所 がん薬物療法研究部）

【共同研究成果報告2】

「癌内線維芽細胞による癌悪性化機構」

折茂 彰（順天堂大学医学部 病理・腫瘍学講座）

「腸内細菌由来成分を活用した新規膵がん治療法の創出」

山村 凌大（北海道大学遺伝子病態制御研究所 がん制御学分野）

「がん幹細胞マーカーCD44の発現を抑制する薬剤の探索」

谷村 信行（京都大学大学院医学研究科 分子腫瘍学）

「世界最深部の蛍光生体イメージング技術」

寺井 健太（京都大学大学院医学研究科）





金沢大学がん進展制御研究所年報2022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 <https://ganken.cri.kanazawa-u.ac.jp/>