

[令和6年度] 金沢大学がん進展制御研究所

共同利用・ 共同研究拠点 研究成果報告会



令和
7年

2.17 月

(開催時間 13:00-17:00)

会場

金沢大学ナノ生命科学研究所
4階 Main Conference Room
(住所: 石川県金沢市角間町)

[プログラム・発表抄録集]



金沢大学がん進展制御研究所
Cancer Research Institute Kanazawa University



金沢大学
KANAZAWA
UNIVERSITY

目次

13：00～13：10 開会のあいさつ

中村 慎一

理事（研究・社会共創・大学院支援担当）・副学長

13：10～14：50 共同研究成果報告 1

伊藤 貴浩

京都大学 医生物学研究所・教授

………… 4

三浦 浩美

東海大学医学部 基礎医学系・助教

………… 6

東 恭平

東京理科大学 薬学部・准教授

………… 8

石原 誠一郎

北海道大学 大学院先端生命科学研究院・助教

…………10

15：10～16：50 共同研究成果報告 2

柳井 秀元

東京大学 先端科学技術研究センター・特任准教授

…………14

内田 雄太郎

東京科学大学 システム発生再生医学分野・博士研究員

…………16

片山 勇輝

京都府立医科大学 医学研究科・助教

…………18

土肥 寿文

立命館大学 薬学部・教授

…………20

16：50～17：00 閉会のあいさつ

鈴木 健之

金沢大学がん進展制御研究所・所長

共同研究成果報告 1

13 : 10 ~ 14 : 50



氏名

伊藤 貴浩

所属:

京都大学 医生物学研究所

連絡先:075-751-4805

E-mail: takahiro.ito@infront.kyoto-u.ac.jp

学歴:

東京大学理科 II 類・薬学部製薬化学科

東京大学大学院薬学系研究科微生物薬品化学教室

職歴:

- 2000・7 東京大学大学院薬学系研究科 助教
- 2007・10 Duke University Medical Center 博士研究員
- 2010・1 University of California San Diego CIRM フェロー
- 2013・4 University of Georgia Dept Biochemistry & Molecular Biology 助教授
- 2019・3 京都大学医生物学研究所 教授

専門分野:

1. がん細胞生物学
2. 幹細胞生物学
3. 代謝生化学

代表的な業績:

1. Wang R, Kato F, Yasui-Watson R, Beedle AM, Call JA, Tsunoda Y, Noda T, Tsuchiya T, Kashima M, Hattori A, Ito T. (2024) The RNA-binding protein Msi2 regulates autophagy during myogenic differentiation. Life Sci Alliance 7(5): e202302016.
2. Hattori A, Tsunoda M, Konuma T, Kobayashi M, Nagy T, Glushka J, Tayyari F, McSkimming D, Kannan N, Tojo A, Edison A, Ito T. (2017). Cancer progression by reprogrammed BCAA metabolism in myeloid leukemia. Nature 545:500-504.
3. Ito T, Kwon HY, Zimdahl B, Congdon KL, Blum J, Lento WE, Zhao C, Lagoo A, Gerrard G, Feroni L, Goldman J, Goh H, Kim SH, Kim DW, Chuah C, Oehler VG, Radich JP, Jordan CT, Reya T. (2010). Regulation of myeloid leukaemia by the cell fate determinant Musashi. Nature 466:765-8.

がんの悪性化における代謝酵素のムーンライティング機能

服部 鮎奈 (代理：伊藤 貴浩)

京都大学 医生物学研究所

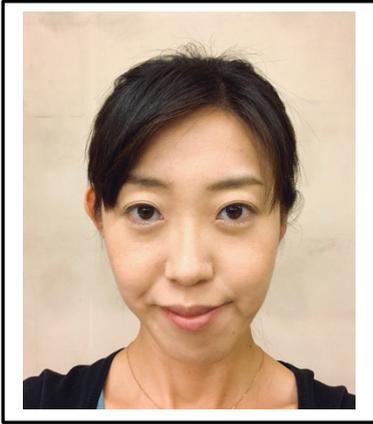
【発表概要】

ワールブルク効果をはじめ、がんにおける代謝変化はがん進行や治療に影響を与える重要な要因である^{1,2}。がん細胞は、各種代謝経路のリプログラミングによって自身の活発な増殖を支えることにより、個体内で生存増殖することが知られるようになった。例えば、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ (IDH) 遺伝子の変異は、オンコメタボライトである 2-ヒドロキシグルタル酸を産生し、腫瘍形成を促進する。IDH 変異を有するがんの中でも、軟骨肉腫は悪性骨腫瘍の中で 2 番目に多く、治療法として広範切除が行われるが、切除不能部位や再発例では化学療法や放射線治療に抵抗性が高く、難治性の希少がんである。IDH 変異は、高い悪性度と予後不良を特徴とする脱分化型軟骨肉腫の約 50–60% に認められる^{3,4}。しかし、これらの腫瘍における IDH 変異の機能とその治療標的としての可能性は未解明の部分が多い。

本研究では、分岐鎖アミノ酸 (BCAA) アミノトランスフェラーゼ 1 (BCAT1) が軟骨肉腫の病態形成において果たす役割を検討した。患者検体の発現解析から、BCAT は高悪性度の軟骨肉腫において発現が高いことを見出した。核磁気共鳴 (NMR) 分光法により、白血病同様に軟骨肉腫細胞でも、BCAT1 によって BCAA が産生される代謝リプログラミングが起こっていることを示した⁵。さらに、BCAT1 が軟骨肉腫の増殖と腫瘍形成に必須であることを、培養細胞および異種移植モデルで明らかにした。発現解析から、BCAT1 が主要な分化誘導因子の発現をエピジェネティックに抑制し、分化経路を制御することが示唆された。また、BCAT1 の欠失は有糸分裂の破綻を通じて細胞老化を誘導し、細胞周期の停止および活性酸素種 (ROS) の増加を引き起こした。これらの結果は、BCAT1 が軟骨肉腫の進行において中心的な役割を果たし、治療標的としての可能性を有することを示唆している。特に、IDH 変異による代謝変化との関連をさらに検討することで、軟骨肉腫における新たな治療戦略の開発が期待される。

引用文献:

1. Heiden, M.G.V. (2011). Targeting cancer metabolism: a therapeutic window opens. *Nat. Rev. Drug Discov.* 10, 671–684. <https://doi.org/10.1038/nrd3504>.
2. DeBerardinis, R.J., and Thompson, C.B. (2012). Cellular Metabolism and Disease: What Do Metabolic Outliers Teach Us? *Cell* 148, 1132–1144. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.032>.
3. Streitbuerger, A., Ahrens, H., Gosheger, G., Henrichs, M., Balke, M., Dieckmann, R., and Harges, J. (2012). The treatment of locally recurrent chondrosarcoma: Is extensive further surgery justified? *J Bone Jt Surg Br Volume 94-B*, 122–127. <https://doi.org/10.1302/0301-620x.94b1.26876>.
4. Andreou, D., Ruppin, S., Fehlberg, S., Pink, D., Werner, M., and Tunn, P.-U. (2011). Survival and prognostic factors in chondrosarcoma. *Acta Orthop* 82, 749–755. <https://doi.org/10.3109/17453674.2011.636668>.
6. Hattori, A., Tsunoda, M., Konuma, T., Kobayashi, M., Nagy, T., Glushka, J., Tayyari, F., McSkimming, D., Kannan, N., Tojo, A., et al. (2017). Cancer progression by reprogrammed BCAA metabolism in myeloid leukemia. *Nature* 545, 500–504. <https://doi.org/10.1038/nature22314>.



氏名

三浦 浩美

所属:

東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学

連絡先:

E-mail:miura.hiromi.x@tokai.ac.jp

学歴:

2010 東海大学大学院医科学専攻修士課程 修了

2016 学位取得 博士 (医学)

職歴:

2010-2016 東海大学医学部、研究員 (PM)

2016-2019 東海大学医学部、博士研究員

2019-2019 ワシントン大学医学部、博士研究員

2019-2020 東海大学医学部、客員研究員

2021-2023 東海大学医学部、特任助教

2023- 東海大学医学部、助教

専門分野:

1. ゲノム編集
2. 遺伝子工学
3. 発生工学

代表的な業績:

1. **Miura H.**, Nakamura A, Kurosaki A, Kotani A, Motojima M, Tanaka K, Kakuta S, Ogiwara S, Ohmi Y, Komaba H, Schilit LPS., Morton CC., Gurumurthy CB., Ohtsuka M. Targeted insertion of conditional expression cassettes into the mouse genome using the modified i-PITT. BMC Genomics. 25, Article number: 568 (2024).
2. **Miura H.***, Imafuku J., Kurosaki A., Sato M., Ma Y., Zhang G., Mizutani A., Kamimura K., Gurumurthy CB., Liu D., Ohtsuka M.* Novel Reporter Mouse Models Useful for Evaluating In Vivo Somatic Cell Gene Editing and for Optimization of Methods of Delivering Genome Editing Tools. Molecular Therapy-Nucleic Acids. Volume 24, P325-336, (2021) *correspondence
3. **Miura H.†**, Quadros RM.†, Gurumurthy CB.* and Ohtsuka M.* Easi-CRISPR for creating knock-in and conditional knockout mouse models using long ssDNA donors. Nature Protocols 13, 195–215 (2018) †equal contribution, *correspondence

細胞老化研究のための遺伝子改変マウスの作製

三浦 浩美

東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学

遺伝子改変マウスは、遺伝子機能解析やヒト疾患モデルとして極めて重要なツールであり、より優れたモデルを作製するための手法論の開発、およびその方法の簡便化や高効率化は長年の課題となっている。近年、CRISPR ゲノム編集技術の進展により遺伝子改変のプロセスは大きく進歩したものの、依然として任意の遺伝子領域に大きな DNA 断片を正確かつ高効率に挿入することは容易ではない。

これまで私たちの研究グループでは、再現性の高い遺伝子発現を達成するための遺伝子改変マウス作製法として、2つの独自の手法を確立してきた[1, 2]。これらの手法は、目的 DNA 断片を特定の遺伝子座位に挿入することができるものであり、これにより、期待通りの安定した導入遺伝子発現が得られる可能性が高い。しかしながら、いずれの方法も利点と欠点を有しており、目的に応じた使い分けの必要がある。最近では、老化研究への応用が期待される複数の遺伝子改変マウス作製にこれらの手法を活用しているが、今回、実際に作製したマウスに関する情報に加え、各手法のメリット・デメリットや失敗・成功例を含めた遺伝子改変マウス作製法の現状について紹介する。さらに我々は、近年開発されたインテグラーゼ系を活用し、より高効率に DNA 断片を挿入できる手法の開発にも挑戦している[3]。培養細胞での実験では、インテグラーゼの種類によって組換え効率に差があるものの、新規インテグラーゼ系が期待通りに機能し、目的の DNA 断片を任意のゲノム上に挿入できることが確認された。さらに、この技術をマウス受精卵に応用したところ、標的ゲノム領域への DNA 断片の挿入が可能であることを示唆する結果が得られ、新たな遺伝子改変マウス作製技術の実現可能性が期待された。今後は、試薬および導入条件の最適化やそれによる効率向上を図り、本手法の実用化に向けた研究を進める予定である。

引用文献:

[1] Ohtsuka M., Ogiwara S., Miura H., Mizutani A., Warita T., Sato M., Imai K., Hozumi K., Sato T., Tanaka M., Kimura M. and Inoko H. Pronuclear injection-based mouse targeted transgenesis for reproducible and highly efficient transgene expression. *Nucleic Acids Res.* 2010 Dec;38(22):e198. doi: 10.1093/nar/gkq860. Epub 2010 Sep 29.

[2] Quadros RM., Miura H., Harms DW., Akatsuka H., Sato T., Aida T., Redder R., Richardson GP., Inagaki Y., Sakai D., Buckley SM., Seshacharyulu P., Batra SK., Behlke MA., Zeiner SA., Jacobi AM., Izu Y., Thoreson WB., Urness LD., Mansour SL., Ohtsuka M. and Gurumurthy CB. Easi-CRISPR: a robust method for one-step generation of mice carrying conditional and insertion alleles using long ssDNA donors and CRISPR ribonucleoproteins. *Genome Biol.* 18: 92 (2017).

[3] Durrant MG., Fanton A., Tycko J., Hinks M., Chandrasekaran SS., Perry NT., Schaepe J., Du PP., Lotfy P., Bassik MC., Bintu L., Bhatt AS. and Hsu PD. Systematic discovery of recombinases for efficient integration of large DNA sequences into the human genome. *Nat. Biotechnol.* 41, 488–499 (2023).



氏名

東 恭平

所属:

東京理科大学薬学部薬学科

連絡先:

E-mail: higase@rs.tus.ac.jp

学歴:

2003年 千葉大学大学院医学薬学府医療薬学専攻 修了

2006年 千葉大学大学院医学薬学府先進医療科学専攻 修了

職歴:

2003-2008 千葉大学大学院薬学研究院・技術補佐員

2008-2010 株式会社アミンファーマ研究所・博士研究員

2010-2018 千葉大学大学院薬学研究院 助教

2018-2022 東京理科大学薬学部薬学科 講師

2022- 東京理科大学薬学部薬学科 准教授

専門分野:

1. 糖鎖分析
2. グリコサミノグリカン
2. プロテオグリカン
3. ポリアミン
3. 酸化ストレス

代表的な業績:

1. Intracellular polyamine depletion induces N-linked galactosylation of the monoclonal antibody produced by CHO DP-12 cells. Miyajima R, ... **Higashi K.** * *J. Biotechnol.*, **378**, 1-10 (2023) (*corresponding author)
2. Fucosylated heparan sulfate from the midgut gland of *Patinopecten yessoensis*. Onishi S, ... **Higashi K.** * *Carbohydr Polym.*, **313**, 120847 (2023).
3. Comprehensive analysis of chondroitin sulfate and aggrecan in the head cartilage of bony fishes: Identification of proteoglycans in the head cartilage of sturgeon. Shionoya K, ... **Higashi K.** *Int. J. Biol. Macromol.*, **208**, 333-342, (2022).
4. Ko K, ... **Higashi K.** Ischemic stroke disrupts the endothelial glycocalyx through activation of proHPSE via acrolein exposure. *J. Biol. Chem.*, **295**, 18614-18624 (2020).

がん細胞の増殖に関与するポリアミン制御遺伝子の同定と その阻害剤の探索

東 恭平

東京理科大学薬学部薬学科

ポリアミン (プトレッシン、スペルミジン [SPD]、およびスペルミン)はウイルスからヒトに至るまで広く存在する低分子塩基性生理活性アミンであり、細胞増殖・分化に必須の因子である。ポリアミンは細胞内において主として RNA と結合して存在し、RNA 構造を変化させることでタンパク質合成を円滑にし、細胞増殖に寄与すると考えられる。SPD はまた、**eukaryotic translation initiation factor 5A1 (eIF5A1)**のハイプシン化という翻訳後修飾の基質であり、ハイプシン化は eIF5A1 の機能、すなわちポリプロリン配列を持つタンパク質の翻訳伸長に必須な役割を果たす。eIF5A1 とハイプシン合成酵素は正常組織で恒常的に発現しており、その遺伝子欠損は胎生致死を引き起こすことから、ハイプシン化 eIF5A1 の機能についてこれまで活発に研究されてきた。

近年、SPD の長期摂取によるオートファジーの誘導が酵母、線虫、ショウジョウバエ、マウスの健康寿命を延伸することが報告され、ジェロプロテクターとしての SPD の機能が注目されている(1, 2)。SPD によるオートファジーの活性化は、SPD 又は eIF5A1 によるオートファジー遺伝子の発現制御に基づくと考えられている。一方で、ポリアミンは癌と密接に関与することから、必ずしもポリアミンの摂取が安全であるとは言い切れず、癌細胞の増殖におけるポリアミンの役割についてより詳細に明らかにする必要がある。

私達は、ポリアミンによるがん細胞増殖促進機構の解明を目的にプロテオーム解析を行い、ポリアミンにより発現制御をうける遺伝子を探索した結果、eIF5A2 を同定した。eIF5A2 と eIF5A1 のアミノ酸相同性は 84%と高く、eIF5A2 は悪性度の高いがん組織で発現が高いことから、eIF5A2 の機能を eIF5A1 と比較しながら調べた結果、がん細胞株の増殖は eIF5A1 よりもむしろ eIF5A2 に依存することが明らかになった。eIF5A1 と eIF5A2 の遺伝子発現を抑制した後にプロテオーム解析を行った結果、eIF5A1 と eIF5A2 で発現調節をうける個々の遺伝子は異なることが示唆された。eIF5A2 の機能を調べる過程で、eIF5A によって発現制御をうけるポリプロリンリッチなタンパク質を同定したので、現在はその遺伝子を活用し、eIF5A2 の機能を阻害する薬剤の探索を行っている。今回はこれらの最新の知見を紹介する。

引用文献:

1. Eisenberg, T., Knauer, H., Schauer, A., Büttner, S., Ruckenstein, C., Carmona-Gutierrez, D. *et al.* (2009) Induction of autophagy by spermidine promotes longevity *Nat Cell Biol* **11**, 1305-1314
2. Hofer, S. J., Daskalaki, I., Bergmann, M., Frišćić, J., Zimmermann, A., Mueller, M. I. *et al.* (2024) Spermidine is essential for fasting-mediated autophagy and longevity *Nat Cell Biol* **26**, 1571-1584



氏名

石原 誠一郎

所属:

北海道大学 大学院先端生命科学研究院
細胞ダイナミクス科学研究室

連絡先:

E-mail:sishihara@sci.hokudai.ac.jp

学歴:

2010 北海道大学 大学院理学院 生命理学専攻 修士課程 修了

2013 北海道大学 大学院生命科学院 生命科学専攻 博士後期課程 修了 博士 (生命科学)

職歴:

2013-2015 北海道大学 大学院先端生命科学研究院 兼 大学院医学研究院 博士研究員

2015-2017 University of Wisconsin-Madison, Department of Cell and Regenerative Biology,
Postdoctoral fellow

2017- 北海道大学 大学院先端生命科学研究院 助教

専門分野:

1. がん
2. 細胞生物学
3. メカノバイオロジー

代表的な業績:

1. **S. Ishihara***(co-corresponding author), H. Kurosawa, H. Haga*: Stiffness-modulation of collagen gels by genipin-crosslinking for cell culture, *Gels*, 9, 148 (2023).
2. S. Ishida-Ishihara, R. Takada, K. Furusawa, **S. Ishihara***(co-corresponding author), H. Haga*: Improvement of the cell viability of hepatocytes cultured in three-dimensional collagen gels using pump-free perfusion driven by water level difference, *Scientific Reports*, 12, 20269 (2022).
3. **S. Ishihara***(corresponding author) and H. Haga: Matrix stiffness contributes to cancer progression by regulating transcription factors, *Cancers*, 14(4):1049 (2022).
4. **S. Ishihara***(corresponding author), D. R. Inman, W.J. Li, S. M. Ponik, P. J. Keely: Mechano-signal transduction in mesenchymal stem cells induces prosaposin secretion to drive the proliferation of breast cancer cells, *Cancer Research*, 77, 6179-6189 (2017).
5. **S. Ishihara**, M. Yasuda, I. Harada, T. Mizutani, K. Kawabata, H. Haga*: Substrate stiffness regulates temporary NF- κ B activation via actomyosin contractions, *Experimental Cell Research*, 319, 2916-2927 (2013).

メカニカルな刺激によるがん進展メカニズム

石原 誠一郎¹、榎本 篤²、平田 英周^{3,4}、芳賀 永¹

¹北海道大学 大学院先端生命科学研究院 細胞ダイナミクス科学研究室

²名古屋大学 大学院医学系研究科 腫瘍病理学

³金沢大学がん進展制御研究所 腫瘍細胞生物学研究分野、⁴金沢大学ナノ生命科学研究所

「癌」という漢字は病気を表す「疔」と岩を意味する「岳」でつくられている。その名の通り、がんは岩を連想させる「硬い」病気として知られてきた。近年、がん細胞は周囲環境（特に細胞外基質：ECM）の硬さなどのメカニカルな刺激に応答して悪性化することが明らかになってきたが、その仕組みの多くは未解明である。がん細胞の悪性化には、DNA に結合して遺伝子発現を調節する分子すなわち転写因子が重要な役割をもつ。そのため、これまで ECM の硬さに応答して活性化（特に核局在）する転写因子が同定されてきた[1,2]。しかし、これらは正常細胞でも発現・機能しており、がん治療標的として阻害した際に強い副作用が生じる恐れがあった。そこで我々は転写因子 Activating Transcription Factor 5 (ATF5) に着目した。ATF5 は膵がんなどのがん細胞で高発現することが知られている。また我々は過去の研究で ATF5 の高発現ががん細胞の悪性化（増殖、浸潤、放射線耐性）をもたらすことを見出している[3]。その一方で、ATF5 の活性化機構はこれまで不明であった。そこで ATF5 が ECM の硬さに応答して活性化するか調べるとともに、その機能や制御機構を検証した。独自の培養法により、硬さの異なる ECM 上でがん細胞株（ヒト膵がん細胞株 KP4 細胞、ヒト肺がん細胞株 A549 細胞等）を培養したところ、硬い ECM 上では ATF5 がより強く核局在することを発見した。また、上記がん細胞株は硬い ECM 上で ATF5 依存的に高い増殖能を示した。次に、ATF5 が発現制御する遺伝子の同定を試みた。トランスクリプトーム解析等の結果、ATF5 および硬い ECM によって発現抑制される遺伝子として *Early Growth Response 1 (EGR1)* を同定した。さらに *EGR1* の高発現により KP4 細胞の増殖が抑制されることを見出した。次に、硬い ECM が ATF5 の活性化をもたらす分子機構を検証した。薬剤スクリーニング等の結果、硬い ECM は Janus Kinase (JAK) -MYC 経路を介して ATF5 の活性化を誘導することを発見した。さらに免疫組織染色により、ATF5 はヒト膵がんで高発現・核局在することを見出した。以上より、硬い ECM は JAK-MYC 経路を介して ATF5 を活性化させ、その結果 *EGR1* の発現を抑制し、がん細胞の増殖能を高めることを明らかにした。現在は ATF5 と *EGR1* が脳転移に果たす役割にも着目し、平田英周教授と共同研究を進めている。

引用文献:

- [1] **S. Ishihara***(corresponding author) *et al.*, Mechano-signal transduction in mesenchymal stem cells induces prosaposin secretion to drive the proliferation of breast cancer cells, *Cancer Research*, 77, 6179-6189 (2017).
- [2] **S. Ishihara***(corresponding author) and H. Haga, Matrix stiffness contributes to cancer progression by regulating transcription factors, *Cancers*, 14(4):1049 (2022).
- [3] **S. Ishihara** *et al.*, Activating transcription factor 5 enhances radioresistance and malignancy in cancer cells, *Oncotarget*, 6, 4602-4614 (2015).

共同研究成果報告 2

15 : 10 ~ 16 : 50



氏名

柳井 秀元

所属:

¹ 東京大学先端科学技術研究センター 炎症疾患制御分野

連絡先:

E-mail: yanai@inflammolgy.rcast.u-tokyo.ac.jp

学歴:

2005 東京大学大学院医学系研究科 博士課程 修了、博士 (医学)

職歴:

2006-2012 東京大学大学院医学系研究科、助教
2013-2014 東京大学生産技術研究所、特任助教
2014-2018 東京大学生産技術研究所、特任准教授
2019- 東京大学先端科学技術研究センター、特任准教授

専門分野:

1. 自然免疫
2. がん
3. 腫瘍免疫

代表的な業績:

1. Tumor cell-derived spermidine is an oncometabolite that suppresses TCR clustering for intratumoral CD8⁺ T cell activation. Hibino S. ... ***Yanai H.** Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2023, 120: e2305245120. (*corresponding authors)
2. Orchestration of myeloid-derived suppressor cells in the tumor microenvironment by ubiquitous cellular protein TCTP released by tumor cells. Hangai S, ... **Yanai H***, Taniguchi T*. Nat. Immunol. 2021, 22: 947-57. (*corresponding authors)
3. PGE2 induced in and released by dying cells functions as an inhibitory DAMP. Hangai S, ..., Yanai H. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2016, 113: 3844-9.

がん微小環境における抗腫瘍免疫抑制機構の解明

柳井 秀元¹

¹ 東京大学先端科学技術研究センター 炎症疾患制御分野

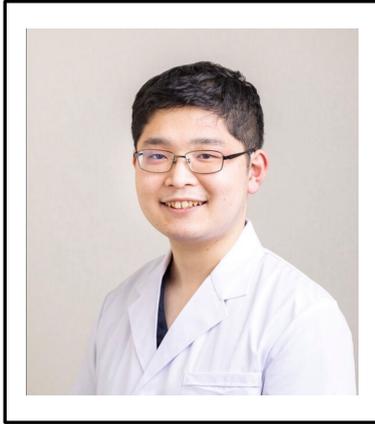
近年、免疫チェックポイント阻害療法（ICB）などのがん免疫療法に光が当たりつつある。免疫系は多様ながん抗原に対応できることから多種類のがんにおいて免疫療法が活用されているが、その効果は完全ではなく、免疫療法に不応性を示すケースも多く存在する。したがって、免疫療法の効果をより一層高める手法の開発や効果を予測する診断マーカーの開発が求められている。

私たちは、がん死細胞から放出される免疫調節分子群に着目した研究を進めている。がん死細胞に由来する分子群の中には微小環境の形成や抗腫瘍免疫応答の抑制に関与する分子群が存在するのではないか？という仮説から、そのような分子群の実体と免疫調節機構について検討を行ってきた。実際、プロスタグランジン E2（Prostaglandin E2; PGE2）は死細胞から放出され、免疫抑制性マクロファージの腫瘍内への集積や PD-L1 分子の発現を誘導することを示し、また、骨髄由来免疫抑制細胞（Myeloid-derived suppressor cells; MDSCs）の腫瘍中へのリクルートを促進し、腫瘍免疫抑制的な微小環境形成に関与する分子として Translationally-controlled tumor protein (TCTP) を大島先生との共同研究において同定してきた[1]。また最近、抗腫瘍 T 細胞応答を抑制する分子としてスペルミジンを新たなオンコメタボライトとして同定した。スペルミジンは T 細胞中のコレステロール代謝を低下させ、T 細胞受容体の細胞膜上でのクラスター形成を抑制することも見出してきた[2]。

このように、がん死細胞から放出された分子群が腫瘍微小環境形成や腫瘍免疫の抑制に関与するケースがあることを示してきた。このような背景のもと、私たちはさらに腫瘍免疫の制御に関与すると思われる死細胞由来分子について探索を進めている。現在まで見出してきた分子についての検討における進展や、新たな取り組みについての結果について報告したい。

引用文献:

- [1] Orchestration of myeloid-derived suppressor cells in the tumor microenvironment by ubiquitous cellular protein TCTP released by tumor cells. Hangai S et al., Nat. Immunol. 2021, 22: 947-57.
- [2] Tumor cell-derived spermidine is an oncometabolite that suppresses TCR clustering for intratumoral CD8⁺ T cell activation. Hibino S et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2023, 120: e2305245120.



氏名

内田 雄太郎

所属:

東京科学大学 大学院医歯学総合研究科 システム発生再生医学分野

連絡先: yutarouchida.syst@gmail.com

学歴:

2021年4月 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 博士課程 (MD-PhD コース) 修了

2023年3月 東京医科歯科大学 医学部医学科 学士課程卒業・医師免許取得

職歴:

2023年4月 東京科学大学 (旧東京医科歯科大学) 病院 臨床研修医

2023年4月 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 システム発生・再生医学分野 研究員

専門分野:

1. RNA 生物学
2. 腫瘍生物学
3. 遺伝統計学

代表的な業績:

1. **Uchida Y**, Kurimoto T, Chiba T, Matsushima T, Oda G, Onishi I, Takeuchi T, Gotoh N, Asahara H: RNA binding protein ZCCHC24 promotes tumorigenicity in triple-negative breast cancer, *EMBO Rep.*, 2024
2. Yamamoto H#, **Uchida Y#**, Kurimoto R#, Chiba T, Matsushima T, Ito Y, Inotsume M, Miyata K, Watanabe K, Inada M, Goshima N, Uchida T, Asahara H. (# Equally contributed): RNA-binding protein LIN28A upregulates transcription factor HIF1 α by posttranscriptional regulation via direct binding to UGAU motifs. *J. Biol. Chem.* 2023
3. **Uchida Y#**, Matsushima T#, Kurimoto R#, Chiba T, Inutani Y, Asahara H, (# Equally contributed) Identification of chemical compounds regulating PD-L1 by introducing HiBiT-tagged cells. *FEBS Letters.* 2021
4. Yamamoto H#, **Uchida Y#**, Chiba T#, Kurimoto R, Matsushima T, Ishikawa C, Li H, Shiga T, Muratani M, Uchida T, Asahara H. (# Equally contributed) Transcriptome analysis of sevoflurane exposure effects at the different brain regions. *PloS One.* 2020

RNA 結合タンパク質による癌幹細胞性の制御

内田 雄太郎

東京科学大学 大学院医歯学総合研究科 システム発生再生医学分野

多くの癌は転移・再発を引き起こすかどうかは予後を決定する。癌の転移・再発を決定づける集団として癌幹細胞 (Cancer stem like cells) と呼ばれる細胞集団がある。癌幹細胞は転移した際に腫瘍を形成する能力、血管を新生する能力、化学療法に対して抵抗する能力を有すると考えられている細胞集団である。癌幹細胞を標的にすることは癌の再発や転移を予防する上で重要な要素であり、これまで多くの研究がなされてきた。通常の幹細胞においては、幹細胞性を維持するための“ニッチ”と呼ばれる環境が必要であるとされているが、一方で癌幹細胞の維持においては必ずしもニッチの存在は必須ではなく、細胞の中の転写・転写後調節による遺伝子発現調節が重要であることが報告されている^[1]。

そこで、我々は癌幹細胞性を制御する遺伝子発現調節機構として“RNA 階層”、すなわち転写された後のがん関連遺伝子の mRNA の安定性・不安定性の調節機構に着目した^{[2],[3]}。

癌幹細胞の重要な性質の一つに血管新生能が挙げられる。血管新生能を司る代表的な転写因子として低酸素誘導因子 HIF1 α が知られている。我々は HIF1A の非翻訳領域を搭載したレポーターを用いておよそ 1100 個の RNA 結合タンパク質に対して遺伝子スクリーニングを行ったところ、HIF1 α の発現を転写後に上昇させる RNA 結合タンパク質として LIN28A を同定した。SLAM-Seq や CLIP-Seq を用いたアプローチにより、LIN28A が HIF1A mRNA の 3'UTR 上の“UGAU”というモチーフを認識して結合することで mRNA を安定化することが明らかとなり、皮下移植モデルを用いた血管新生試験により腫瘍内で LIN28A が血管新生能を亢進させることを示した^[2]。

さらに、乳癌の中でも特に難治性で知られるトリプルネガティブ乳癌において腫瘍形成能を制御する RNA 結合タンパク質を探索するため、トリプルネガティブ乳癌患者由来検体に対して single cell RNA sequence を施行したところ、腫瘍形成能が高い細胞が多く存在する Mesenchymal like population に多く発現する RNA 結合タンパク質として機能未知 RNA 結合タンパク質 ZCCHC24 を同定した。Transcriptome 解析や PAR-CLIP、BRIC-Seq を用いた解析により ZCCHC24 が“UGUWHWWA”という配列を特異的に認識して結合することで CD44、NRP1、ZEB1、NOTCH といった乳癌幹細胞性を制御する上で重要な遺伝子群の mRNA を安定化し、発現を上昇させることを明らかにした。また、Hi-C や ChIP-Seq の再解析により、ZCCHC24 の上流転写因子として ZCCHC24 の標的因子でもある ZEB1 が Enhancer 候補領域を介して転写調節することを示した。in vivo において ZCCHC24 をノックダウンすると腫瘍形成能は著しく減少し、薬物療法と ZCCHC24 を標的にした核酸治療を併用すると相加的な治療効果を認めた。

これらの結果は ZCCHC24 による転写後調節機構と ZEB1 による転写調節機構とのカップリングが、腫瘍形成能や治療抵抗性を獲得する上で重要であることを示唆するものである^[3]。

引用文献:

[1] Chaffer et al., *Cell* 2013

[2] Yamamoto, Uchida et al, *J. Biol. Chem.* 2023

[3] Uchida et al, *EMBO Reports* 2024



氏名 片山 勇輝

所属:京都府立医科大学大学院 医学研究科 呼吸器内科学

連絡先:075-251-5513

E-mail: ktym2487@koto.kpu-m.ac.jp

学歴:

- 2015年 京都府立医科大学医学部医学科 卒業
- 2019年 京都府立医科大学大学院 医学研究科 博士課程修了

職歴:

- 2015年 市立大津市民病院 初期研修医
- 2017年 京都府立医科大学附属病院 呼吸器内科 前期専攻医
- 2018年 JCHO 京都鞍馬口医療センター 内科レジデント
- 2019年 京都府立医科大学大学院 医学研究科 呼吸器内科学 大学院生
- 2023年 京都府立医科大学大学院 医学研究科 呼吸器内科学 助教

専門分野:

- 1. 腫瘍内科学
- 2. 呼吸器内科学
- 3. 分子標的治療

代表的な業績:

1. **Katayama Y**, et al. YAP regulates HER3 signaling-driven adaptive resistance to RET inhibitors in RET-aberrant cancer. Clin Cancer Res. 2024 Nov 4. Online ahead of print.
2. **Katayama Y**, et al. Prospective Observational Study of Ramucirumab Plus Docetaxel After Combined Chemoimmunotherapy in Patients with Non-Small-Cell Lung Cancer. Oncologist. 2024 May 3;29(5):e681-e689.
3. **Katayama Y**, et al. Adaptive resistance to lorlatinib via EGFR signaling in ALK-rearranged lung cancer. NPJ Precis Oncol. 2023 Jan 26;7(1):12.
4. **Katayama Y**, et al. Heterogeneity among tumors with acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors harboring EGFR-T790M mutation in non-small cell lung cancer cells. Cancer Med. 2022 Feb;11(4):944-955.

低酸素応答に起因した肺がん分子標的薬の治療抵抗性機構解明とその克服

片山 勇輝

京都府立医科大学大学院 医学研究科 呼吸器内科学

【発表概要】

本邦の肺腺がん患者の約半数に EGFR 遺伝子変異や ALK 遺伝子転座などのドライバー遺伝子異常が認められる。これらの患者のうち、およそ 70~80%においてドライバー遺伝子異常に対応した分子標的治療薬が奏効する(1, 2)。しかしながら、治療開始から 1 年以内に 20~30%の患者で病勢が増悪することが知られており、その克服が重要な臨床的課題である。

腫瘍微小環境の主な構成要素であるがん関連線維芽細胞 (CAF) は、細胞外マトリックス (ECM) の異常リモデリングや異常血管の増生を誘導し、腫瘍内の低酸素環境を形成する(3)。この低酸素環境は腫瘍細胞における HIF-1 シグナルの発現を誘導し、がんの浸潤・転移の促進や薬剤耐性の獲得を引き起こす。本研究では、ドライバー遺伝子変異異常肺がんの腫瘍微小環境における低酸素状態がもたらす治療抵抗性の機構を解明し、その克服に向けた新規治療法の開発を目的とした。

EGFR 遺伝子変異および ALK 融合遺伝子陽性の非小細胞肺がん細胞を低酸素インキュベーターで 1%O₂の低酸素状態に曝露したところ、EGFR-TKI および ALK-TKI に対する耐性が誘導された。RNA-seq 解析および phospho-RTK アレイを用いた網羅的解析により、低酸素応答によって AXL シグナルが活性化し、これを介して PI3K-Akt シグナルが活性化することで薬剤耐性が誘導されることを明らかにした。また、RNA-seq 解析を用いた ChEA3 転写因子解析により、低酸素応答によって HIF1 α および転写因子 YAP が活性化され、それらが AXL シグナルを制御することを示した。

さらに、EGFR-TKI および ALK-TKI に AXL 阻害薬である ONO-7475 を併用することにより、低酸素応答による AKT シグナルの活性化を抑制し、低酸素誘導性の薬剤耐性を克服することが可能であることを確認した。以上の結果から、EGFR 遺伝子変異および ALK 融合遺伝子陽性非小細胞肺がんにおける低酸素誘導性薬剤耐性には AXL シグナルが重要な役割を果たすことが示唆される。

引用文献:

1. Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J, Reungwetwattana T, Chewaskulyong B, Lee KH, et al. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2018;378(2):113-25.
2. Camidge DR, Kim HR, Ahn MJ, Yang JC, Han JY, Lee JS, et al. Brigatinib versus Crizotinib in ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2018;379(21):2027-39.
3. Abou Khouzam R, Brodaczewska K, Filipiak A, Zeinelabdin NA, Buart S, Szczylik C, et al. Tumor Hypoxia Regulates Immune Escape/Invasion: Influence on Angiogenesis and Potential Impact of Hypoxic Biomarkers on Cancer Therapies. *Front Immunol.* 2020;11:613114.



氏名

土肥 寿文

所属:

立命館大学薬学部創薬科学科 精密合成化学研究室

連絡先:

E-mail: td1203@ph.ritsume.ac.jp

学歴:

2002 大阪大学大学院工学研究科博士前期課程 修了

2005 大阪大学大学院薬学研究科博士後期課程 修了、博士（薬学）

職歴:

2005-2008 大阪大学大学院薬学研究科、助手

2008-2014 立命館大学薬学部、助教

2014-2019 立命館大学薬学部、准教授

2019- 立命館大学薬学部、教授

専門分野:

1. 有機合成化学
2. 脱芳香化、カップリング
3. 超原子価ヨウ素化合物

代表的な業績:

1. **Dohi T**, Maruyama A, Takenaga N, Senami K, Minamitsuji Y, Fujioka H, Cämmerer S, Kita Y. A chiral hypervalent iodine(III) reagent for enantioselective dearomatization of phenols. *Angewandte Chemie, International Edition* 2008, 47(20), 3787–3790.
2. **Dohi T**, Takenaga N, Nakae T, Toyoda Y, Yamasaki M, Shiro M, Fujioka H, Maruyama A, Kita Y. Asymmetric dearomatizing spirocyclization of naphthols catalyzed by spirobiindane-based chiral hypervalent iodine species. *Journal of the American Chemical Society* 2013, 135(11), 4558–4566.
3. Kikushima K, Yamada K, Umekawa N, Yoshio N, Kita Y, **Dohi T**. Decarboxylative arylation with diaryliodonium salts: alternative approach for catalyst-free difluoroenolate coupling to aryldifluoromethyl ketones. *Green Chemistry* 2023, 25(5), 1790–1796.
4. China H, Yoto Y, Sasa H, Kikushima K, **Dohi T**. Reconstructive synthesis of fluorinated [1,2-a]dihydropyridindolones by a cyclohexadione cut-to-fuse strategy. *Advanced Synthesis & Catalysis* 2024, 366, in press (<https://doi.org/10.1002/adsc.202401037>).
5. Kumar R, **Dohi T**, Zhdankin V V. Organohypervalent heterocycles. *Chemical Society Reviews* 2024, 53(9), 4786–4827.

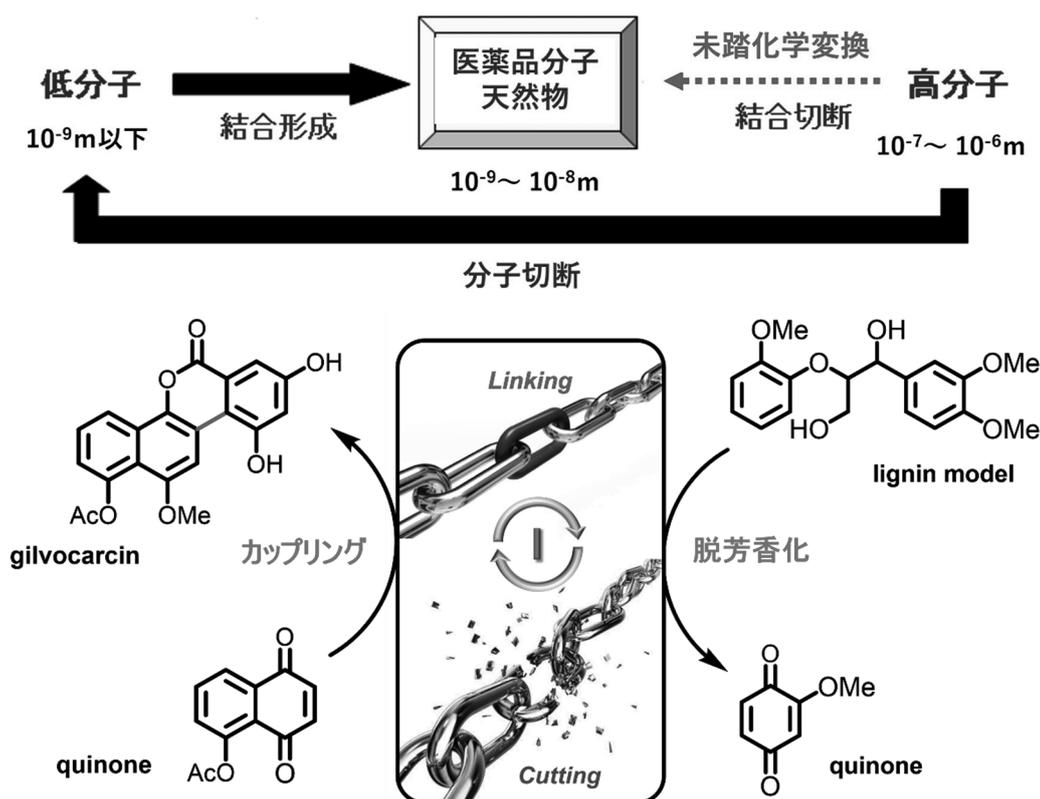
医薬分子の迅速合成を可能とするメタルフリー反応の開発

土肥 寿文

立命館大学薬学部創薬科学科 精密合成化学研究室

医薬品や天然物、生物活性物質等の複雑かつ多官能基化分子の合成には、従来、低分子を出発原料とした結合形成戦略が取られ、目的とする骨格構築や分子サイズの獲得だけで多段階を要することが常である。我々もこのような有機合成の常識に基づき、結合形成を迅速かつ効率的に行うことに焦点をあて、超原子価ヨウ素反応剤を用いたメタルフリーカップリング法などをこれまで開発してきた[1]。

一方、我々の研究グループでは最近、天然物およびその関連分子の結合切断反応を開発し、本法を応用した医薬分子の迅速合成を展開している。我々の分子切断法は、さまざまな有機分子が対象となり、多様な脱芳香化生成物を与えることが特徴となる[2]。本発表では、キノン類およびその関連分子の迅速合成法の開発経緯と、新規進行性前立腺がん治療薬の創出に向けたキノン化合物の構造展開を紹介する。



引用文献:

- [1] Dohi T, Kita Y. "Oxidative C-C Bond Formations (Couplings, Cyclizations, Cyclopropanation, etc.)" in Hypervalent Halogen Compounds (Eds: Berit Olofsson, Ilan Marek and Zvi Rappoport), Patai's Chemistry and Functional Groups, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK (2018).
- [2] Sasa H, Kita Y, Dohi T. "Recent Advances in Hypervalent Halogen Catalysis" in Hypervalent Halogens in Organic Synthesis (Ed: Jérôme Waser), Science of Synthesis, Thieme (2024).