

201019048A

厚生労働科学研究費補助金

第3次対がん総合戦略研究事業

リプログラミング技術による消化器癌の新しい診断・治療

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 森 正樹

平成23(2011)年4月

目次

I. 総括研究報告

- リプログラミング技術による消化器癌の新しい診断・治療 ————— 1
森正樹 (大阪大学)

II. 分担研究報告

1. 肝臓・胆道・膵臓癌の臨床症例の蓄積と評価 ————— 7
中森正二 (国立病院機構大阪医療センター)
2. マウスモデルを用いた腫瘍細胞リプログラミングの試み ————— 9
山田泰広 (京都大学iPS細胞研究所)
3. リプログラミング技術による消化器癌の新しい診断・治療 ————— 11
石井秀始 (九州大学生体防御医学研究所)

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ————— 15

IV. 研究成果の刊行物・別刷 ————— 21

リプログラミング技術による消化器癌の新しい診断・治療

研究代表者 森 正樹 大阪大学大学院 消化器外科

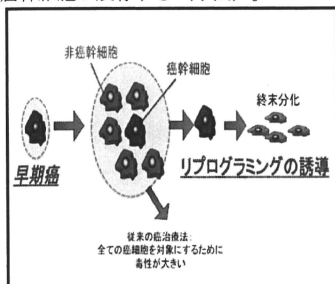
研究要旨

高度の先端医科学技術を癌制圧に向けて展開し、癌死の過半数を占める消化器癌の治療成績を格段に向上させることを目的とし、最近特に新しい技術として世界的な注目を集めている細胞のリプログラミングを癌の治療・診断に応用する調査研究を実施した。特に癌幹細胞を標的とすることにより腫瘍組織の生物学的悪性度を大きく改善できる可能性がある。研究計画全体のうち本年度は消化器癌の癌幹細胞の性質をリプログラミングの点から掘り下げて解明し、臨床材料での調査研究にむけて基盤を整備した。その結果、消化器癌の癌幹細胞では、造腫瘍性および胚性幹細胞を特徴付ける遺伝子発現ともに高く、非癌幹細胞とは異なった性質を有していた。また遺伝子誘導と培養に関してリプログラミング細胞を選択するための条件を調整した。

A. 研究背景、目的

癌幹細胞の標的化

私達を含む内外の研究成果により、癌組織は癌幹細胞を分化階層性の頂点とする組織構築をなしており、この癌幹細胞が治療抵抗性および再発転移の根源であることが明らかにされた。従来の化学療法では非癌幹細胞を処理するのみであり、癌幹細胞が残存する（下図）。



このような腫瘍の本丸としての癌幹細胞を標的化することで、従来には得られなかった治療効果に到達できる可能性がある。

肝臓癌では CD13, CD133, CD90, CD4 など、複数分子が癌幹細胞を標識するマーカーとして報告されている。私達が最近同定した肝臓癌の癌幹細胞マーカー CD13+細胞が、造腫瘍性および多分化能の点で優れた癌幹細胞標識分子であり、臨床的に用いられている CD13 を阻害する薬剤でも前臨床効果が得られることが明らかとなったが、そのような細胞群でのリプログラミングの視点からの検討がなされていないので本研究で検討した。

本申請では癌組織とその中核をなす癌幹細胞の生物学的な性状をリプログラミング技術大きく変化させることを目的として、森が中心となって、京都大学の iPS センター山田、九州大学石井が基礎研究、XXXX 中森、石井が臨床研究の部分を担当した。

B. 研究方法

以下の点を重点的に研究した。

(1) 癌細胞株のリプログラミング

(2) 消化器上皮の新鮮培養

(3) 培養条件の最適化

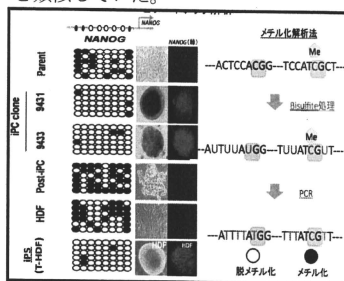
(4) 新しい誘導方法

C. 研究結果

(1) 癌細胞株のリプログラミング

京都大学山中教授が正常の分化した細胞からの胚性幹細胞類似の iPS 細胞誘導技術を発明された。この技術は、マウスの胚性繊維芽細胞に 4 つの因子 (Oct3/4, Sox2, c-Myc, Klf4) を導入することにより ES 細胞の如く分化多能性を持つ iPS 細胞を誘導する。世界で初めて ES 細胞を作成したウィスコンシン大学のジェームズ・トムソン教授も、ヒトの皮膚細胞に 4 種類の遺伝子 (OCT3/4, SOX2, NANOG, LIN28) により iPS 細胞を誘導した。これらの研究成果により、高度な変化 (リプログラミング) を比較的簡便な手法により実現できる道が拓かれた。しかしその一方で、基本的に iPS 技術は試験管内のエピジェネティック反応であるから、ジェネティック・エピジェネティックな変化の蓄積である癌においてこの操作がどのような効果をもたらすか未知であり、私達はこの点を検討した。研究を始めるにあたって、人工多能性幹細胞 (iPS 細胞: induced pluripotent stem cell) で使用された遺伝子に加えて、固形癌細胞を特徴付けるような癌遺伝子・癌抑制遺伝子も加えて検討した。その結果、癌細胞といえども iPS 細胞に類似するような胚葉を超えた遺伝子発現プロファイルの変化が可能であり、iPC 細胞 (induced pluripotent cancer cell) と名付けた。調べた消化器癌細胞 20 種類 (肝臓、胆管

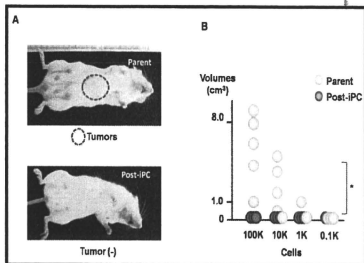
系、消化管) のうち、過半数で Nanog, Ssea4, Tra-1-60, and Tra-1-80 等の未分化遺伝子の発現が得られた。詳細は原著に譲るが要点を述べると、レトロ・レンチウイルスの発現系を使用したのが、導入遺伝子の発現とそのサイレンシング、内因性の遺伝子発現は iPS 細胞ときわめて類似したものであった。エピジェネティック (下図) として未分化遺伝子のプロモーター領域を調査したが、リプログラミングにตอบสนองして脱メチル化され、ヒストン修飾が誘導されることも iPS 細胞と類似していた。



誘導された iPC 細胞の遺伝子発現は内・中・外胚葉を越えたパターンを示した。重要なこととして、分化誘導剤としてビタミン A, D への感受性が獲得され、また抗癌剤への感受性も誘導された。さらに免疫不全マウスへの皮下移植における増殖能は観察期間内で抑制された (下図)。これらの癌悪性形質の矯正ともいえる現象は、iPC 細胞の癌抑制遺伝子プロモーター領域の脱メチル化、遺伝子再活性化と関連すると示唆された。

(2) 消化器上皮の新鮮培養

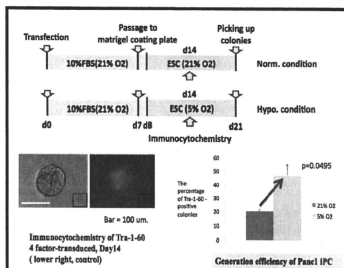
ヒトの新鮮材料をリプログラミングする



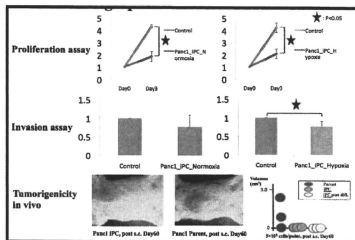
ためには新鮮材料の培養系が必要である。私達を含む内外の研究成果で、消化器臓器(腸管)の培養条件が整備されてきた。本申請では遺伝子導入に最適の条件を調整した。腸管をコラーゲンゲル(床敷と細胞の2層)による3次元培養で指示することにより、1〜数個の細胞から腸管上皮が誘導可能であることが示された。得られた細胞では腸管上皮を特徴付ける上皮分化マーカーが陽性であり、腸管幹細胞ないし前駆細胞から細胞系列が維持されてオルガノイドを形成していることが示唆された。

(3) 培養条件の最適化

効果的なリプログラミングするための培養条件を検討した。正常細胞からの iPS リプログラミングの場合には、低酸素、抗酸化剤、ビタミン C、癌抑制遺伝子 (p53, p16) の不活性化が重要であることが知られている。本研究では、癌細胞からの iPC 誘導に於いて重要な因子を探索した。その結果(下図)、癌抑制遺伝子の不活性化、癌遺伝子の活性化とともに低酸素条件での情報伝達経路が iPC 誘導に大きな影響を与えることが明らかとなった。検討では、正常酸素分圧から徐々に低酸素分圧まで範囲を広げて検討し、低酸素刺激が iPC 誘導を促進することが示された。低酸素条件化で誘導される細胞性科学的な変化は、癌の局所条件での細胞応答に類似し、細胞内情報



伝達経路を共有することが知られていることから、この低酸素刺激での誘導促進現象は、臨床に於いて癌幹細胞を効率的に標的化する上で有用であると考えられた。このようにして誘導された iPC の性質を調べると、癌細胞の組織浸潤能および造腫瘍性ともに低下しており、低酸素誘導での iPC 生成向上は臨床上有用なシーズを提供することが確認された(下図)。さらにこの誘導促進現象を創薬として標的化するために、関わる下流分子の探索を実施し、分子 X を同定した。この分子 X の変異体等を用いた実験により、創薬標的として重要であることを明らかにした(投稿準備中)。



伝達経路を共有することが知られていることから、この低酸素刺激での誘導促進現象は、臨床に於いて癌幹細胞を効率的に標的化する上で有用であると考えられた。このようにして誘導された iPC の性質を調べると、癌細胞の組織浸潤能および造腫瘍性ともに低下しており、低酸素誘導での iPC 生成向上は臨床上有用なシーズを提供することが確認された(下図)。さらにこの誘導促進現象を創薬として標的化するために、関わる下流分子の探索を実施し、分子 X を同定した。この分子 X の変異体等を用いた実験により、創薬標的として重要であることを明らかにした(投稿準備中)。

0;395 (2):258-263, 2010)。

(4) 新しい誘導方法

上記の研究開発の中で、安全で有効なリプログラミングを実施する上で新しい誘導方法の開発に発展的に成功した。

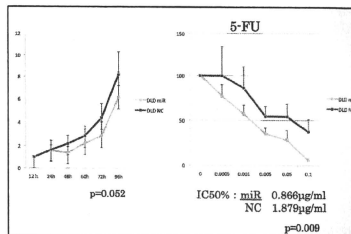
1) より効率的なiPS細胞樹立のシステム

腫瘍細胞からのiPS細胞樹立の効率機構を解明する目的で、より効率的なiPS細胞樹立のシステムを構築する目的で、ドキシサイクリン誘導可能な山中4因子を有するノックインマウスの作製を開始した。本年度の研究により、Res26 locusにCrtTAを、Coll1a1 locusにtetオペレーターの下流に2A polypeptideをつないだ山中4因子を持つES細胞を樹立した。ドキシサイクリン誘導可能な山中4因子を有するノックインマウスは、ゲノムのインテグレーションを伴うことなく、iPS細胞樹立が可能であり、腫瘍細胞からのiPS細胞を使った解析を行うための、非常に有用なツールとなりうる。今後、得られたES細胞からキメラマウスを作製し、実際に体細胞からのiPS細胞樹立を目指す。それらのマウスを用いて腫瘍を誘導し、得られた腫瘍細胞のリプログラミングを試みる。

2) 人工合成物Yによる安全で有効なリプログラミング

山中因子と異なる人工合成物Yにより安全で有効なリプログラミングに成功した。この人工合成物Yはゲノムへの挿入変異が無いため安全であり、効率の点からも従来の方法と同等である。この方法(下図)でもiPCが誘導可能であり、誘導された細胞で

は山名因子におけると同様に癌の生物学的悪性度を大きく変革できることが明らかとなった。



D. 考察

革新的な治療法の開発に関する研究を通じて、高度な技術を応用した革新的な治療法として、治療後に残存する従来治療抵抗性癌細胞の分子標的の同定によるテーラーメイド医療の確立等により、癌治療成績の飛躍的向上の実現に向けて、基盤の構築が期待できる。

従来の抗癌剤・放射線治療は増殖期にある細胞のみを標的とした創薬・医療技術を基盤としていた。最新のiPS技術を癌研究に応用することの高い有用性は先駆け研究として示された。本申請ではiPS技術と癌幹細胞を直結させることで、従来の治療方法を大きく転換させる創薬が期待できる。

E. 結論

細胞のリプログラミングは正常細胞のiPS技術と同様に癌細胞においても細胞の性質を大きく変換できる可能性が強く示唆され、未来型の開拓医療としてチャレンジする価値が高く、大きな成果が期待できる。無論、安全面で癌の問題は今後も引き続き注意深く観察する事が重要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nagai K, Ishii H, Miyoshi N, Hoshino H, Saito T, Sato T, Tomimaru Y, Kobayashi S, Nagano H, Sekimoto M, Doki Y, Mori M. Long-term culture following ES-like gene-induced reprogramming elicits an aggressive phenotype in mutated cholangiocellular carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 395:258-263, 2010
- 2) Ishii H, Doki Y, Mori M. Perspective beyond cancer genomics: bioenergetics of cancer stem cells. *YONSEI MED J*, 51(5):617-621, 2010
- 3) Haraguchi N, Ishii H, Mimori K, Tanaka F, Ohkuma M, Kim MH, Akita H, Takiuchi D, Hatano H, Nagano H, Barnard GF, Doki Y, Mori M. CD13 is a therapeutic target in human liver cancer stem cells. *J Clin Inv*, 120(9):3326-3329, 2010
- 4) Shimizu S, Takehara T, Hikita H, Kodama T, Miyagi T, Hosui A, Tsumi T, Ishida H, Noda T, Nagano H, Doki Y, Mori M, Hayashi N. The let-7 family of microRNAs inhibits Bcl-xL expression and potentiates sorafenib-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 52:698-704, 2010
- 5) Miyoshi N, Ishii H, Mimori K, Tanaka F, Hitora T, Tei M, Sekimoto M, Doki Y, Mori M. TGM2 is a novel marker for prognosis and therapeutic target in colorectal cancer. *Ann Surg Oncol*, 17:967-972, 2010
- 6) Iwatsuki M, Mimori K, Sato T, Toh H, Yokobori T, Tanaka F, Ishikawa K, Baba H, Mori M. Overexpression of SUGT1 in human colorectal cancer and its clinicopathological significance. *Int J Oncol*, 36:569-575, 2010
- 7) Uemura M, Yamamoto H, Takemasa I, Mimori K, Hemmi H, Mizushima T, Ikeda M, Sekimoto M, Matsuura N, Doki Y, Mori M. Jumoni domain containing 1A is a novel prognostic marker for colorectal cancer: in vivo identification from hypoxic tumor cells. *Clin Cancer Res*, 16(18),

4636-4646, 2010

- 8) Kobayashi S, Nagano H, Marubashi S, Wada H, Eguchi H, Takeda Y, Tanemura M, Kim T, Doki Y, Mori M. Multidetector computed tomography for preoperative prediction of postsurgical prognosis of patients with extrahepatic biliary cancer. *J Surg Oncol*, 101:376-383, 2010
- 9) Iwatsuki M, Mimori K, Yokobori T, Takatsuno Y, Sato T, Toh H, Onoyama I, Nakayama K, Baba H, Mori M. Loss of FBXW7, a cell cycle regulating gene, in colorectal cancer: clinical significance. *Int J Cancer*, 126:1828-1837, 2010
- 10) Yamamoto H, Hemmi H, Gu JY, Sekimoto M, Doki Y, Mori M. Minute liver metastases from a rectal carcinoid: A case report and review. *World J Gastroenterol*, 2(3):89-94, 2010
- 11) Marubashi S, Nagano H, Kobayashi S, Eguchi H, Takeda Y, Tanemura M, Umeshita K, Monden M, Doki Y, Mori M. Evaluation of a new immunoassay for therapeutic drug monitoring of tacrolimus in adult liver transplant recipients. *J Clin Pharmacol*, 50:705-709, 2010
- 12) Miyoshi N, Ishii H, Mimori K, Sekimoto M, Doki Y, Mori M. TDGF1 is a novel predictive marker for metachronous metastasis of colorectal cancer. *Int J Oncol*, 36:563-568, 2010

2. 学会発表

- 1) 畠野尚典、他：肝臓における癌幹細胞の分離・同定と標的治療の可能性、第31回 癌免疫外科研究会 2010年5月20日～5月21日 大阪
- 2) 岡野美穂、他：上皮間葉転換 (EMT) に高感受性の大腸癌幹細胞マーカーの同定と解析、第19回 日本がん転移学会学術集会・総会、2010年6月16日～6月17日 金沢
- 3) 石井秀始、他：消化器癌の癌幹細胞研究、第19回 日本がん転移学会学術集会・総会、2010年6月16日～6月17日 金沢
- 4) 廣瀬創、他：結腸直腸癌において転写因子である PITX2 遺伝子は予後予測因子となる、第19回 日本がん転移学会学術集会・総会、2010年6月16日～6月17日 金沢

- 5) 金浩敏, 他: 細胞周期静止期型の消化器癌幹細胞における上皮間葉転移 (EMT) 現象の活性化, 第 19 回 日本がん転移学会学術集会・総会, 2010 年 6 月 16 日~6 月 17 日、金沢
- 6) 金浩敏, 他: 消化器癌幹細胞における上皮間葉転換(EMT), 第 30 回 日本分子腫瘍マーカー研究会, 2010 年 9 月 21 日、大阪
- 7) 廣瀬創, 他: ヒト大腸癌の新たな予後予測因子の可能性, 第 30 回 日本分子腫瘍マーカー研究会, 2010 年 9 月 21 日、大阪
- 8) 永井健一, 他: ES 細胞様遺伝子による消化器癌細胞のリプログラミング: 遺伝子変異を有する胆管細胞癌の長期培養系における悪性度の検討, 第 69 回 日本癌学術総会, 2010 年 9 月 22 日~9 月 24 日、大阪
- 9) 高橋秀和, 他: 大腸癌における Lgr5 陽性細胞の意義について, 第 69 回 日本癌学術総会, 2010 年 9 月 22 日~9 月 24 日、大阪
- 10) 三森功士, 他: 臨床病理学的診断に? 駕する、マイクロアレイを用いた Dukes B 大腸癌における転移予測因子の同定, 第 69 回 日本癌学術総会, 2010 年 9 月 22 日~9 月 24 日、大阪
- 11) 山下晋也, 他: 大腸癌における microRNA-372 の発現, 第 69 回 日本癌学術総会, 2010 年 9 月 22 日~9 月 24 日、大阪
- 12) 瀧内大輔, 他: 肝癌の癌幹細胞マーカーの同定と膀胱癌での検討, 第 69 回 日本癌学術総会, 2010 年 9 月 22 日~9 月 24 日、大阪
- 13) 石井秀始, 他: 消化器の癌幹細胞, 第 69 回 日本癌学術総会, 2010 年 9 月 22 日~9 月 24 日大阪
- 14) 三吉範克, 他: REPROGRAMMING OF GASTROINTESTINAL CANCER CELLS WITH INDUCTION OF DEFINED FACTORS. The 1st JSGE International Topic Conference 2010 年 9 月 25 日~9 月 26 日、神奈川
- 15) 石井秀始, 他: 消化器癌幹細胞の研究と治療への発展 第 48 回 日本癌治療学会学術集会, 2010 年 10 月 28 日~10 月 30 日、京都
- 16) Hoshino H., et al : HYPOXIA PROMOTES THE GENERATION OF THE INDUCED PLURIPOTENT CANCER CELLS. THE 7TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON CANCER RESEARCH AND THERAPY, 2010 年 11 月 26 日~11 月 27 日、Tokyo
- 17) Takahashi H., et al: SIGNIFICANCE OF LGR5+ve CANCER STEM CELLS IN THE CORON AND RECTUM. THE 7TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON CANCER RESEARCH AND THERAPY, 2010 年 11 月 26 日~11 月 27 日、Tokyo
- 18) 山下晋也, 他: 大腸癌における miR-372 の発現意義, 第 23 回 日本バイオセラピー学会学術集会総会, 2010 年 12 月 9 日~12 月 10 日、大阪
- 19) 山田大作, 他: 教室における肝細胞癌に対する分子標的治療薬の使用経験, 第 23 回 日本バイオセラピー学会学術集会総会, 2010 年 12 月 9 日~12 月 10 日、大阪
- 20) 高橋秀和, 他: 大腸癌における Lgr5 陽性細胞の臨床病理学的意義の検討, 第 23 回 日本バイオセラピー学会学術集会総会, 2010 年 12 月 9 日~12 月 10 日、大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
特になし。
2. 実用新案登録
特になし。
3. その他
特になし。

肝臓・胆道・膵臓癌の臨床症例の蓄積と評価
研究分担者 中森正二 国立病院機構大阪医療センター

研究要旨

本研究では、肝臓・胆道・膵臓を対象とし、最近新しい技術として注目を集めている細胞のリプログラミングを癌の治療・診断に応用することを目的としており、基礎的検討で得られた癌幹細胞の特徴を利用して、それに特化させたリプログラミング誘導を新鮮臨床材料も対象として拡充することを計画した。本分担研究では、肝臓・胆道・膵臓癌の臨床材料を手術時に採取するとともに、基礎的検討で見いだした癌幹細胞マーカーを用い、抵抗性癌幹細胞の局所分布と治療感受性・予後の相関解析を行うことを計画した。

A. 研究背景、目的

本研究の最終の目標は、高度の先端医学技術を癌制圧に向けて展開し、癌死の過半数を占める消化器癌の治療成績を格段に向上させることであり、そのためには、最近新しい技術として注目を集めている細胞のリプログラミングを癌の治療・診断に応用することが必須である。これまでの基礎的検討によって、転移・再発の根源となる癌幹細胞の性質を改変することにより、現行の治療法のみでは到達できない高いレベルの根治を目指して基盤を構築できる可能性が明らかにされてきている。しかしながら、難治癌の代表と言える肝臓、胆道、膵臓癌においては、培養細胞を用いた基礎実験レベルでの癌幹細胞の存在は明らかになってきたもの、実際の臨床材料におけるその存在や分布、特徴は明らかになっていないことがほとんどである。本研究では、肝臓、胆道、膵臓癌外科手術の際に得られる臨床材料を将来の癌幹細胞リプログラミングを用いた癌治療への応用研究に使用可能とすべく蓄積するとともに、その臨床材料を用いて、これら領域癌における癌幹細胞存在や分布、特徴を明らかにすることを目的としている。

B. 研究方法

肝臓、胆道、膵臓癌外科手術の際に臨床材料をできる限り、本研究に利用可能とする。そのためには、患者に対する説明文書、同意文書を作成、倫理委員会に替わる

受託研究審査委員会に申請し、その承諾を得る。また、後向き研究が可能となるように、過去に包括的同意を得ている腫瘍組織の利用が可能とする申請も同委員会に行う。効率的な組織サンプル処理を図るために手術標本から得た組織標本の採取、保存システムを構築する。手術組織材料は、新鮮凍結材料および *in situ* hybridization にも利用可能な冷凍組織固定標本、通常免疫組織染色に利用可能な固定標本として保存する。さらに、保存した標本材料を用いて、基礎的研究成果から得られた肝臓、胆道、膵臓癌の癌幹細胞マーカーの抗体などによる免疫組織染色を行う。

なお、倫理面に関して、厚生労働省（臨床研究に関する倫理指針）および国立病院機構大阪医療センターの既定の指針および細則、規則に則って、円滑に臨床研究を行うために研究者等が遵守すべき事項に従う。

C. 研究結果

臨床サンプルの利用計画書および患者に対する説明文書、同意文書を作成、倫理委員会に替わる受託研究審査委員会に申請し、その承諾を得た。さらに過去に包括的同意を得ている腫瘍組織の利用が可能とする承諾も得た。その結果、過去に保存したホルマリン固定標本および凍結組織材料の利用が可能となった。さらに、これらの試料は、匿名化することにより、共同研究者による利用が可能であり、共同研究施設への提供を可能とした。本期間内に、肝臓癌切除 25 例、胆道癌切除 8 例、膵臓癌

切除 15 例を行い、癌部および正常非癌部サンプルを採取し、それぞれの新鮮凍結標本および in situ hybridization や通常免疫組織染色にも利用可能な組織固定標本を作成した。また、保存した標本材料を用いて、抗体などによる組織染色が自動染色機を用いて多数処理を行うための条件設定を行い、膵癌の癌肝細胞マーカーと報告されている CD133 の免疫染色を 70 例にて行った。

D. 考察

肝臓、胆道、膵臓癌切除材料の採取、保存システムを構築するとともに、CD133 免疫染色のシステムを構築できた。

E. 結論

肝臓、胆道、膵臓癌切除材料を本研究に利用可能とするシステムが構築できた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Masuda H, Masuda N, Kodama Y, Ogawa M, Karita M, Yamamura J, Tsukuda K, Doihara H, Miyoshi S, Mano M, Nakamori S, Tsujinaka T. Predictive factors for the effectiveness of neoadjuvant chemotherapy and prognosis in triple-negative breast cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2010 Jul 1. (Epub ahead of print)
- 2) Murakoshi Y, Honda K, Sasazuki S, Ono M, Negishi A, Matsubara J, Sakuma T, Kuwabara H, Nakamori S, Sata N, Nagai H, Ioka T, Okusaka T, Kosuge T, Shimahara M, Yasunami Y, Ino Y, Tsuchida A, Aoki T, Tsugane S, Yamada T. Plasma biomarker discovery and validation for colorectal cancer by quantitative shotgun mass spectrometry and protein microarray. *Cancer Sci.* 2010.Dec 3 (Epub ahead of print)
- 3) Okusaka T, Furuse J, Funakoshi A, Ioka T, Yamao K, Ohkawa S, Boku N, Komatsu Y, Nakamori S, Iguchi H, Ito T, Nakagawa K, Nakachi K. Phase II study of erlotinib plus gemcitabine in Japanese patients with unresectable pancreatic cancer. *Cancer Sci.* 102(2): 425-431, 2011.

- 4) Matsubara J, Honda K, Ono M, Tanaka Y, Kobayashi M, Jung G, Yanagisawa K, Sakuma T, Nakamori S, Sata N, Nagai H, Ioka T, Okusaka T, Kosuge T, Tsuchida A, Shimahara M, Yasunami Y, Chiba T, Hirohashi S, Yamada T. Reduced plasma level of CXCL chemokine ligand 7 in patients with pancreatic cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 20(1): 160-171, 2011.
- 5) Kamiyama S, Ichimiya T, Ikehara Y, Takase T, Fujimoto I, Suda T, Nakamori S, Nakamura M, Nakayama F, Irimura T, Nakanishi H, Watanabe M, Narimatsu H, Nishihara S. Expression and the role of 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate transporters in human colorectal carcinoma. *Glycobiology* 21(2): 235-246, 2011.
- 6) Ikura Y, Mita E, Nakamori S. Hepatocellular carcinomas can develop in simple fatty livers in the setting of oxidative stress. *Pathology* 43(2): 167-168, 2011.
- 7) Neoptolemos JP, Stocken DD, Bassi C, Ghaneh P, Cunningham D, Goldstein D, Padbury R, Moore MJ, Gallinger S, Mariette C, Wente MN, Izbicki JR, Friess H, Lerch MM, Dervenis C, Olah A, Butturini G, Doi R, Lind PA, Smith D, Valle JW, Palmer DH, Buckels JA, Thompson J, McKay CJ, Rawcliffe CL, Büchler MW. Adjuvant chemotherapy with fluorouracil plus folinic acid vs gemcitabine following pancreatic cancer resection: a randomized controlled trial. ; European Study Group for Pancreatic Cancer. (Nakamori S, et al.) *JAMA*, 304(10): 1073-1081, 2010.

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
特になし。
2. 実用新案登録
特になし。
3. その他
特になし。

研究要旨

細胞の分化異常が発がんの原因となりうることが示唆されている。Induced pluripotent stem cell (iPS 細胞)の作製成功により、我々は細胞の分化状態をリセットする技術を手に入れた。本研究では、腫瘍細胞のリプログラミングを通じて、腫瘍細胞の分化状態を変化させることで、細胞分化と発がんの接点を示し、その知見を新たながん治療法開発へ応用することを最終目標とする。しかしながら、近年、腫瘍細胞の完全なリプログラミングが困難であることが明らかになりつつある。従って腫瘍細胞のリプログラミングのためには、より効率的な細胞リプログラミング方法の開発が必要である。今年度は、ウイルス非依存的で、かつ高効率なリプログラミングシステムの開発に着手し、薬剤依存性に山中 4 因子の発現をコントロールできる ES 細胞を作製し、それらを用いてキメラマウス作製を行った。

A. 研究背景、目的 (背景)

がん細胞において、しばしば細胞分化の異常が観察される。大腸がんでは、がん細胞の性質と、大腸幹細胞の性質の類似性が注目されてきた。大腸がん細胞の由来は大腸幹細胞であり、大腸幹細胞に類似した未分化な細胞増生が大腸発がんの原因の一つとなっている可能性が示唆されている。分担者らは、過去に腸管上皮に山中 4 因子の一つである Oct3/4 を強制発現させることにより、腸管未分化細胞が増生し、大腸がん類似した病変を形成することを示した (Cell 2005)。興味深いことに、大腸がん類似病変を形成する異型細胞は、Oct3/4 の発現停止により、速やかにその異常増殖を停止し、正常腸管上皮の分化細胞である、enterocyte, goblet cell, enteroendocrine cell, Paneth cell に分化を示した。すなわち、多分化能を持った腸管未分化細胞の増生が、大腸がん類似病変を形成していたことを示し、未分化細胞の増生が発がんの原因となりうることを示唆する結果と考えられる。また、細胞分化の制御ががん治療に応用できる可能性を示している。

以上のように、細胞の分化異常と発がんには密接な関係があることが予想されている。京都大学山中伸弥教授により開発された iPS 細胞作製技術は、細胞の分化状態をリセットし、多能性幹細胞へと変化させる技術である。この技術ががん細胞に応用し、がん細胞の分化状態を変化させることができるのであれば、新たなアプローチによるがん治療法が開発で

きる可能性が考えられる。本研究では、実際に腫瘍細胞に山中因子を導入することで、腫瘍細胞のリプログラミングを試み、腫瘍細胞の分化状態、性質変化を検討することで、治療への応用の可能性を探る。

近年、腫瘍細胞の完全なリプログラミングが難しいことが明らかになってきた。実際、分担者らもマウス大腸発がんモデルを用いて、大腸腫瘍細胞のリプログラミングを試みってきたが、現在の所、完全なリプログラミングには至っていない。完全な腫瘍細胞のリプログラミングには、より効率的なリプログラミングのシステムの構築が必要である。また、レトロウイルスを用いたリプログラミングでは、ウイルスゲノムのランダムインテグレーションによる影響や、複数因子それぞれの発現量調節が困難であり、より詳細な解析には、これらの問題を解決しうるクリーンなシステム構築が望まれる。本年度は、ウイルス非依存的で、高効率なリプログラミングシステムの開発目的に、薬剤依存性に山中 4 因子の発現をコントロールできる ES 細胞を作製し、それらを用いてキメラマウス作製を行った。

B. 研究方法

ドキシサイクリンによる遺伝子発現系を利用して山中因子を発現コントロールできるマウスシステムの構築を試みた。Rosa26 プロモーター制御下に M2rtTA を発現し、Col1a1 locus に tet オペレーター—山中 4 因子を有するマウス ES 細胞の樹立を試みた。山中 4 因子 (Oct3/4, Sox2, Klf4, Myc) は 2A polypeptide

により単一遺伝子から発現させるコンストラクトを構築した。ターゲティングベクターをエレクトロポレーション後、薬剤選択により、上記 ES 細胞の樹立を試みた。

得られた ES 細胞は、マウス初期胚にマイクロインジェクションすることで、キメラマウスの作製を試みた。

(倫理面への配慮)

全ての動物実験は、京都大学 iPS 細胞研究所動物実験委員会での承認を得たのち、動物愛護に十分に配慮しながら、適切に行った。

C. 研究結果

ターゲティングベクターをマウス ES 細胞にエレクトロポレーション後、薬剤耐性 ES 細胞コロニーをピックアップし、ES 細胞株を樹立した。樹立した ES 細胞株を、ドキシサイクリン(2 µg/ml)にて処理することで、トランスジーンを発現を確認した。

樹立した ES 細胞をマウス初期胚にマイクロインジェクションすることで、キメラマウスを作製した。キメラマウスにドキシサイクリンを投与すると、腸管上皮、胃粘膜上皮、hair follicleなどに異常細胞増殖が誘導され、未分化様細胞の増生が認められた。Oct3/4 の免疫染色では、増生した未分化様細胞に一致して、Oct3/4 の発現が確認された。山中 4 因子の発現が、速やかな異型細胞の増生を引き起こすことが明らかとなった。

D. 考察

ドキシサイクリンによる山中 4 因子誘導可能 ES 細胞、およびキメラマウスでは、ドキシサイクリンによって、実際に遺伝子発現が誘導されたとともに、キメラマウスにおいて異常細胞増生が始まる事が確認された。今後、実際に iPS 細胞の樹立を行い、その樹立効率を検討する予定である。また腫瘍モデルとの交配により、腫瘍細胞の完全なリプログラミングを目指す。

E. 結論

薬剤誘導可能山中 4 因子によるマウスリプログラミングシステムは、腫瘍細胞の完全なリプログラミングに有用なツールとなることが期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamada Y, Aoki H, Kunisada T, Hara A. Rest promotes the early differentiation of mouse ESCs but is not required for their maintenance. *Cell Stem Cell*. 6 10-15, 2010.
- 2) Sakai H, Yamada Y, Shimizu M, Saito K, Moriwaki H, Hara A. Genetic ablation of Tnf alpha demonstrates no detectable suppressive effect on inflammation-related mouse colon tumorigenesis. *Chemico-Biological Interactions*. 184(3):423-30, 2010.
- 3) 山田泰広, 山中伸弥 エピゲノム研究最前線 iPS 細胞のエピゲノム. *医学のあゆみ* 235(10): 1045-1050, 2010
- 4) 渡辺亮, 山田泰広 エピジェネティクスと疾患 体細胞リプログラミングにおけるエピジェネティック制御 *実験医学(増刊)* 28(15) 232-237, 2010

2. 学会発表

- 1) Yamada Y, Aoki H, Kunisada T, Hara A. REST PROMOTES THE EARLY DIFFERENTIATION OF MOUSE EMBRYONIC STEM CELLS, ISSCR 8th Annual Meeting, San Francisco, CA USA
- 2) 山田泰広, Role of DNA methylation in the maintenance of undifferentiated states of colon tumor cells. 第 69 回日本癌学会学術総会 シンポジウム がん幹細胞
- 3) 山田泰広, がん抑制遺伝子 Rest による ES 細胞初期分化誘導, 第 99 回日本病理学会総会, シンポジウム 7 がん: 病理学の逆襲

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
特になし。
2. 実用新案登録
特になし。
3. その他
特になし。

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

リプログラミング技術による消化器癌の新しい診断・治療
研究分担者 石井秀始 九州大学生体防御医学研究所

研究要旨

高度の先端医科学技術を癌制御に向けて展開し、癌死の過半数を占める消化器癌の治療成績を格段に向上させることを目的とする。そのために、最近特に新しい技術として世界的な注目を集めている細胞のリプログラミングを癌の治療・診断に応用する。本申請の特徴は、消化器癌のリプログラミングに関する最近の我々の成果を土台として更に発展させ、消化器癌を対象として癌幹細胞の特徴を利用してそれに特化させたリプログラミング誘導すること、および新鮮臨床材料にも対象を拡充することである。研究成果として、治療後に残存する従来治療抵抗性癌細胞の分子標的の同定によるテーラーメイド医療の確立等により、癌治療成績の飛躍的向上を実現化するための基盤構築が期待される。

**A. 研究背景、目的
(背景)**

癌の制圧は、わが国を含む先進諸国の高齢化社会に於ける喫緊の課題である。国民の2～3人に一人は癌で死亡し、その約70%は消化器癌である。消化器癌の克服なくして、来るべき超高齢化社会の諸問題を乗り越えることはできない。そのために革新的技術応用が必要である。癌細胞は、細胞生物学的に元は自己の正常細胞が形質転換した結果であるが、最近の研究により癌細胞の悪性化の段階を特徴付ける分子生物学的な遺伝子発現プロファイルは、京都大学山中教授が発明したiPS細胞として知られる細胞リプログラミング過程の機構(Takahashi K and Yamanaka, S. Cell, 126, 663-676, 2006; Takahashi K, et al. Cell, 131, 861-72, 2007. 他)と分子基盤の多くを共通にすることが明らかにされた(Nature Genetics 40, 499, 2008)。4つの転写因子により高度な細胞リプログラミングがより簡便に実現できるようになった。

B. 研究方法

本計画では、リプログラミング技術を応用することにより、従来法では達成できなかったレベルにまで細胞の可塑性を高めて、治療抵抗性に陥った悪性細胞の治療感受性を回復することを目的とする。この技術を用いて消化器癌治療後に残存する抵抗性癌幹細胞の悪性形質を治療感受性に変換する。特に本研究では、『癌幹細胞』の特徴を利用してそれに特化させたリプログラミング誘導の研究に焦

点を当てることと、『新鮮臨床材料』にも対象を拡充することが特徴である。

(倫理面への配慮)

●実験動物使用を含む研究計画:

動物の愛護及び管理に関する法律(昭和48年法律第105号)、実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準(平成18年環境省告示第88号)、研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針(平成18年文部科学省告示第71号)、大阪大学動物実験規則を遵守する。

●ヒトゲノム・遺伝子解析研究を含む研究計画:

平成16年度に改正された文部科学省、厚生労働省、経済産業省によるヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に基づき研究を遂行する。ヘルシンキ条約に則りインフォームドコンセントを行い、同意の得られた検体のみを使用し、個人情報保護の匿名化と守秘は厚生労働省および大阪大学の既定に則って行う。

●遺伝子組換え実験を含む研究計画:

「遺伝子組み換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律(「バイオセーフティに関するカルタヘナ議定書」)に基づくカルタヘナ法)」の定める細則と、文部科学省・厚生労働省・経済産業省の定める細則、ならびに施設内の組み換えDNA実験指針の基準に従って、定められた基準に適合することを確認し、指針に従ってDNA組み換え実験委員会等の倫理審査委員会の審査を経る手続きを適切に行う。

●臨床研究に関する倫理指針:

厚生労働省(臨床研究に関する倫理指針)および大阪大学の既定の指針および細則、規則に則っ

て、円滑に臨床研究を行うために研究者等が遵守すべき事項に従う。

●疫学研究に関する倫理指針:

厚生労働省(臨床研究に関する倫理指針)および大阪大学の既定の指針および細則、規則に則って、円滑に臨床研究を行うために研究者等が遵守すべき事項に従う。

●ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針:

厚生労働省(臨床研究に関する倫理指針)および大阪大学の既定の指針および細則、規則に則って、円滑に臨床研究を行うために研究者等が遵守すべき事項に従う。

C. 研究結果

(1)4つの転写因子を導入すると、抗癌剤抵抗性であった大腸癌細胞の治療感受性が再獲得された。また一般に不応性とされるビタミン等の分化誘導剤への感受性が獲得され、細胞増殖および浸潤能(癌転移の指標)が有為に抑制された。さらに免疫不全マウスに移植して造腫瘍性を調査したところ、リプログラミング誘導により造腫瘍性が有為に抑制された。

(2)更に、山中因子以外の方法を用いてリプログラミングが可能であることを発見し特許申請している。本方法は癌細胞のDDSを考慮した場合に有利であることがわかり、近未来の臨床応用に向けて基盤を構築した。

(3)さらに癌細胞をリプログラミングするにあたり特殊な条件が明らかとなってきた。

正常と癌のリプログラミングの相違:癌細胞では、p53 変異、K-ras 変異がリプログラミング結果に影響する。K-ras コドン 12 および p53 コドン 172 変異が有る場合にリプログラミング結果で内因性 c-myc が活性化することが明らかとなり、事前に治療予測可能であることが明らかとなった(Biochem. Biophys. Res. Commun. 30;395(2):258-263, 2010)。

新しいリプログラミング方法の開発:山中教授の原法ではウイルスベクターを用いる為にゲノムの挿入変異が発生しやすく、癌治療の臨床応用ではネックとなっている。私達の研究組織は、完全人工合成核酸によりリプログラミングが達成可能であることを明らかにした。

D. 考察

癌細胞株での検討とともに新鮮臨床材料をもちいて、効率とともに安全性を確立することが重要である。初年度事業として私達は既に高

タイター・センダイウイルスベクターを用いた解析とともにゲノム損傷のない誘導方法を用いて検討を開始した。

E. 結論

リプログラミングによる革新的な医療の創出に向けて基盤構築を実施した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Haraguchi, N., Ishii, H., Mimori, K., Tanaka, F., Ohkuma, M., Kim, H.M., Akita, H., Takiuchi, D., Hatano, H., Nagano, H., Barnard, G., Doki, Y., Mori, M. CD13 is a therapeutic target in human liver cancer stem cells. J. Clin. Invest. 120(9):3326-39,2010.
- 2) Miyoshi, N., Ishii, H., Nagai, K.-i., Hoshino, H., Mimori, K., Tanaka, F., Nagano, H., Sekimoto, M., Doki, Y., Mori, M. Defined factors induce reprogramming of gastrointestinal cancer cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 107(1),40-45,2010.
- 3) Tanaka, F., Yamamoto, K., Suzuki, S., Inoue, H., Tsurumaru, M., Kajiyama, Y., Kato, H., Igaki, H., Furuta, K., Fijita, H., Tanaka, T., Tanaka, Y., Kawashima, Y., Natsugoe, S., Setoyama, T., Tokudome, S., Mimori, K., Haraguchi, N., Ishii, H., Mori, M. Strong interaction between the effects of alcohol consumption and smoking on oesophageal squamous cell carcinoma among individuals with *ADH1B* and/or *ALDH2* risk alleles. Gut, 59, 1457-1464, 2010.
- 4) Miyoshi, N., Ishii, H., Mimori, K., Nishida, N., Tokuoka, M., Akita, H., Sekimoto, M., Doki, Y., Mori, M. Abnormal expression of *PFDN4* in colorectal cancer: a novel marker for prognosis. *Annal. Surg. Oncol.*, 17(11),3030-3036,2010.
- 5) Miyoshi, N., Ishii, H., Mimori, K., Sekimoto, M., Doki, Y., Mori, M. *SCRNI* is a novel marker for prognosis in colorectal cancer. *Journal of Surgical Oncology, J. Surg. Oncol.* 101(2),156-9, 2010.
- 6) Miyoshi, N., Ishii, H., Mimori, K., Sekimoto, M., Doki, Y., Mori, M. *TDGF1* is a novel predictive marker for metachronous metastasis of colorectal

- cancer. *Intern. J. Oncol.* 36,563-568,2010.
- 7) Miyoshi, N., Ishii, H., Mimori, K., Tanaka, F., Hitora, T., Tei, M., Sekimoto, M., Doki, Y., Mori, M. *TGM2* is a novel marker for prognosis and therapeutic target in colorectal cancer. *Ann. Surg. Oncol.*, 17:967-972,2010.
 - 8) Miyoshi, N., Ishii, H., Mimori, K., Tanaka, F., Nagai, K., Uemura, M., Sekimoto, M., Doki, Y., Mori, M. *ATP11A* is a novel predictive marker for metachronous metastasis of colorectal cancer. *Oncology Reports*. 23,505-510,2010.
 - 9) Hoshino, H., Miyoshi, N., Nagai, K-i., Tomimaru, Y., Nagano, H., Sekimoto, M., Doki, Y., Mori, M.(*), Ishii, H.(*) Epithelial-mesenchymal transition with expression of *SNAIL*-induced chemoresistance in colorectal cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 390(3):1061-1065, 2009.
 - 10) Tokuoka, M., Miyoshi, N., Hitora, T., Mimori, K., Tanaka, F., Shibata, K., Ishii, H., Sekimoto, M., Doki, Y., Mori M. Clinical significance of ASB9 in human colorectal cancer. *Int. J. Oncol.* 37(5):1105-11, 2010
 - 11) Nishida, N., Mimori, K., Yokobori, T., Sudo, T., Tanaka, F., Shibata, K., Ishii, H., Doki, Y., Mori, M. *FOXC2* is a novel prognostic factor in human esophageal squamous cell carcinoma. *Ann. Surg. Oncol.* 2010 Aug 28. [Epub ahead of print]
 - 12) Kita, Y., Mimori, K., Iwatsuki, M., Yokobori, T., Ieta, K., Tanaka, F., Ishii, H., Okumura, H., Natsugoe, S., Mori, M. *STC2*: A Predictive Marker for Lymph Node Metastasis in Esophageal Squamous-Cell Carcinoma. *Ann. Surg. Oncol.* 2010 [Epub ahead of print]
 - 13) Nishida, N., Mimori, K., Fabbri, M., Yokobori, T., Sudo, T., Tanaka, F., Shibata, K., Ishii, H., Doki, Y., Mori, M. *MicroRNA-125a-5p* is an independent prognostic factor in gastric cancer, and inhibits the proliferation of human gastric cancer cells in combination with trastuzumab. *Clinical Cancer Research*, 2010
 - 14) Tahara, K., Mimori, K., Iinuma, H., Iwatsuki, M., Yokobori, T., Ishii, H., Anai, H., Kitano, S., Mori, M. Serum matrix-metalloproteinase-1 is a bona fide prognostic marker for colorectal cancer. *Ann Surg Oncol.* 2010.
 - 15) Mimori, K., Yokobori, T., Iwatsuki, M., Ishii, H., Mori, M. *FHIT* Suppresses Inflammatory Carcinogenic Activity by Inducing Apoptosis in Esophageal Epithelial Cells. *J. Nucl. Acid. Invest.* (in press)
 - 16) Mimori, K., Ota, D., Yokobori, T., Kataoka, A., Masuda, N., Tanaka, F., Ishii, H., Mori, M. Clinical significance of miR-21 overexpression in bone marrow from breast cancer cases. *J. Nucl. Acid. Invest.* (in press)
 - 17) Iwatsuki, M., Mimori, K., Fukagawa, T., Ishii, H., Yokobori, T., Sasako, M., Baba, H., Mori, M. The clinical significance of vimentin-expressing gastric cancer cells in bone marrow. *Ann Surg Oncol.* 17(9):2526-33,2010.
 - 18) Nagahara, M., Mimori, K., Kataoka, A., Ishii, H., Tanaka, F., Nakagawa, T., Sato, T., Ono, S., Sugihara, K., Mori, M. Correlated expression of CD47 and SIRP1 in bone marrow and in peripheral blood predicts recurrence in breast cancer patients. *Clin. Cancer Res.* 16(18):4625-35,2010.
 - 19) Yokobori, T., Mimori, K., Ishii, H., Iwatsuki, M., Tanaka, F., Kamohara, Y., Ieta, K., Kita, Y., Doki, Y., Kuwano, H., Mori, M. Clinical significance of Stanniocalcin 2 as a prognostic marker in gastric cancer. *Ann Surg Oncol.* 17(10):2601-2607,2010.
 - 20) Nagai, K., Ishii, H., Miyoshi, N., Hoshino, H., Saito, T., Sato, T., Tomimaru, Y., Kobayashi, S., Nagano, H., Sekimoto, M., Doki, Y., Mori, M. Long-term culture following ES-like gene-induced reprogramming elicits an aggressive phenotype in mutated cholangiocellular carcinoma cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 30;395(2):258-263, 2010.
 - 21) Iwatsuki, M., Mimori, K., Ishii, H., Yokobori, T., Takatsuno, Y., Sato, T., Toh, H., Onoyama, I., Nakayama, K.I., Baba, H., Mori, M. Loss of *FBXW7*, a cell cycle regulating gene, in colorectal cancer: Clinical significance. *Int. J. Cancer*, 126,1828-1837,2010.

- 22) Hirose, H., Ishii, H., Mimori, K., Ohta, D., Ohkuma, M., Tsujii, H., Saito, T., Sekimoto, M., Doki, Y., Mori, M. Notch pathway as candidate therapeutic target in Her2/Neu/ErbB2 receptor-negative breast tumors. *Oncology Reports*, 23:35-43,2010.

2. 学会発表

- 1) 島野尚典、他：肝癌における癌幹細胞の分離・同定と標的治療の可能性、第31回 癌免疫外科研究会 2010年5月20日～5月21日 大阪
- 2) 岡野美穂、他：上皮間葉転換(EMT)に高感受性の大腸癌幹細胞マーカーの同定と解析、第19回 日本がん転移学会学術集会・総会、2010年6月16日～6月17日 金沢
- 3) 石井秀始、他：消化器癌の癌幹細胞研究、第19回 日本がん転移学会学術集会・総会、2010年6月16日～6月17日 金沢
- 4) 金浩敏、他：細胞周期静止期型の消化器癌幹細胞における上皮間葉転移(EMT)現象の活性化、第19回 日本がん転移学会学術集会・総会、2010年6月16日～6月17日、金沢
- 5) 高橋秀和、他：大腸癌における Lgr5 陽性細胞の意義について、第69回 日本癌学術総会、2010年9月22日～9月24日、大阪
- 6) 瀧内大輔、他：肝癌の癌幹細胞マーカーの同定と肝癌での検討、第69回 日本癌学術総会、2010年9月22日～9月24日、大阪
- 7) 石井秀始、他：消化器の癌幹細胞、第69回 日本癌学術総会、2010年9月22日～9月24日大阪
- 8) 三吉範克、他 REPROGRAMMING OF GASTROINTESTINAL CANCER CELLS WITH INDUCTION OF DEFINED FACTORS、The 1st JSGE International Topic Conference 2010年9月25日～9月26日、神奈川
- 9) 石井秀始、他：消化器癌幹細胞の研究と治療への発展第48回 日本癌治療学会学術集会、2010年10月28日～10月30日、京都
- 10) Takahashi H., et al: SIGNIFICANCE OF

LGR5+ve CANCER STEM CELLS IN THE CORON AND RECTUM、THE 7TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON CANCER RESEARCH AND THERAPY、2010年11月26日～11月27日、Tokyo

- 11) 高橋秀和、他：大腸癌における Lgr5 陽性細胞の臨床病理学的意義の検討、第23回 日本バイオセラピー学会学術集会総会、2010年12月9日～12月10日、大阪

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

- 1.特許取得 特になし。
- 2.実用新案登録 特になし。
- 3.その他 特になし。

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
渡辺亮, 山田泰広	体細胞リプログラミングによるエピジェネティック制御	牛島俊和, 塩田邦郎, 田嶋正二, 吉田稔	実験医学	羊土社	東京	2010	232-237

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nagai K, et.al	Long-term culture following ES-like gene-induced reprogramming elicits an aggressive phenotype in mutated cholangiocellular carcinoma cells	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	395	258-263	2010
Ishii H, et.al	Perspective beyond cancer genomics: bioenergetics of cancer stem cells	<i>YONSEI MED J</i>	51(5)	617-621	2010
Haraguchi N, et.al	CD13 is a therapeutic target in human liver cancer stem cells	<i>J Clin Invest</i>	120(9)	3326-3329	2010
Shimizu S, et.al	The let-7 family of microRNAs inhibits Bel-xL expression and potentiates sorafenib-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma	<i>J Hepatol</i>	5	698-704	2010
Miyoshi N, et.al	TGM2 is a novel marker for prognosis and therapeutic target in colorectal cancer	<i>Ann Surg Oncol</i>	17	967-972	2010
Iwatsuki M, et.al	Overexpression of SUGT1 in human colorectal cancer and its clinicopathological significance	<i>Int J Oncol</i>	36	569-575	2010
Uemura M, et.al	Jumonji domain containing 1A is a novel prognostic marker for colorectal cancer: in vivo identification from hypoxic tumor cells	<i>Clin Cancer Res</i>	16(18)	4636-4646	2010

Kobayashi S,et.al	Multidetector computed tomography for preoperative prediction of postsurgical prognosis of patients with extrahepatic biliary cancer	<i>J Surg Oncol</i>	126	1828-1837	2010
Yamamoto H,et.al	Minute liver metastases from a rectal carcinoid: A case report and review	<i>World J Gastroenterol</i>	2(3)	89-94	2010
Marubashi S,et.al	Evaluation of a new immunoassay for therapeutic drug monitoring of tacrolimus in adult liver transplant recipients	<i>J Clin Pharmacol</i>	50	705-709	2010
Miyoshi N,et.al	TDGF1 is a novel predictive marker for metachronous metastasis of colorectal cancer	<i>Int J Oncol</i>	36	563-568	2010
Yamada Y,et.al	Rest promotes the early differentiation of mouse ES/SCs but is not required for their maintenance	<i>Cell Stem Cell</i>	6	10-15	2010
Sakai H, et.al	Genetic ablation of Tnf alpha demonstrates no detectable suppressive effect on inflammation-related mouse colon tumorigenesis	<i>Chemico-Biological Interactions</i>	184	423-30	2010
山田泰広、他	エピゲノム研究最前線 iPS細胞のエピゲノム.	<i>医学のあゆみ</i>	235	1045-1050	2010
Okusaka T,et.al	Phase II study of erlotinib plus gemcitabine in Japanese patients with unresectable pancreatic cancer	<i>Cancer Sci</i>	102 (2)	425 - 431	2010
Neoptolemos JP,et.al	Adjuvant chemotherapy with fluorouracil plus folinic acid vs gemcitabine following pancreatic cancer resection: a randomized controlled trial	<i>JAMA</i>	304 (10)	1073 - 1081	2010
Masuda H,et.al	Predictive factors for the effectiveness of neoadjuvant chemotherapy and prognosis in triple-negative breast cancer patients	<i>Cancer Chemotherapy and Pharmacology</i>	in press	in press	2011
Murakoshi Y,,et.al	Plasma biomarker discovery and validation for colorectal cancer by quantitative shotgun mass spectrometry and protein microarray	<i>Cancer Sci</i>	in press	in press	2011

Matsubara J,et.al	Reduced plasma level of CXC chemokine ligand 7 in patients with pancreatic cancer	<i>Cancer Epidemiol Biomarkers Prev</i>	20 (1)	160 – 171	2011
Ikura Y,et.al	Hepatocellular carcinomas can develop in simple fatty livers in the setting of oxidative stress	<i>Pathology</i>	43 (2)	167 – 168	2011
Kamiyama S,et.al	Expression and the role of 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate transporters in human colorectal carcinoma	<i>Glycobiology</i>	21 (2)	235 – 246	2011
森田香織、他	異所性肝と異所性肝細胞癌	<i>日本臨床</i>	別冊(14)	272–275	2010
宮本敦史、他	局所治療として減量再肝切除を施行した肝細胞癌症例	<i>癌と化学療法</i>	37(12)	2673–2675	2010
後藤裕信、他	サルベージ手術を施行した放射線化学療法後の再発肛門扁平上皮癌の1例	<i>癌と化学療法</i>	37(12)	2659–2661	2010
中森正二	膵・胆道癌に対する外科的治療の現状と問題点	<i>Approach to Oncology</i>	4-Jan	4–6	2011
三嶋秀行、他	大腸癌外科手術との対比からみた化学療法の問題点	<i>臨床外科</i>	66(1)	60–65	2011
Haraguchi N,et.al	CD13 is a therapeutic target in human liver cancer stem cells	<i>J Clin Inv</i>	120(9)	3326-3329	2010
Miyoshi N,et.al	Defined factors induce reprogramming of gastrointestinal cancer cells	<i>Proc Natl Acad Sci</i>	107(1)	40-45	2010
Tanaka F,et.al	Strong interaction between the effects of alcohol consumption and smoking on oesophageal squamous cell carcinoma among individuals with <i>ADH1B</i> and/or <i>ALDH2</i> risk alleles	<i>Gut</i>	59	1457-1464	2010
Miyoshi N,et.al	Abnormal expression of <i>PFDN4</i> in colorectal cancer: a novel marker for prognosis	<i>Ann Surg Oncol</i>	17(11)	3030-3036	2010
Miyoshi N,et.al	<i>SCRN1</i> is a novel marker for prognosis in colorectal cancer. Journal of Surgical Oncology	<i>J Surg Oncol</i>	101(2)	156-159	2010

Miyoshi N,et.al	TDGF1 is a novel predictive marker for metachronous metastasis of colorectal cancer. Intern	<i>Intern J Oncol</i>	36	563-568	2010
Miyoshi N,et.al	TGM2 is a novel marker for prognosis and therapeutic target in colorectal cancer	<i>Ann Surg Oncol</i>	17	967-972	2010
Miyoshi N,et.al	ATP11A is a novel predictive marker for metachronous metastasis of colorectal cancer	<i>Oncology Reports</i>	23	505-510	2010
Tokuoka M,et.al	Clinical significance of ASB9 in human colorectal cancer	<i>Int J Oncol</i>	37(5)	1105-1111	2010
Nishida N,et.al	FOXC2 is a novel prognostic factor in human esophageal squamous cell carcinoma	<i>Ann Surg Oncol</i>	Epub ahead of print	Epub ahead of print	2010
Kita Y,et.al	A Predictive Marker for Lymph Node Metastasis in Esophageal Squamous-Cell Carcinoma	<i>Ann Surg Oncol</i>	Epub ahead of print	Epub ahead of print	2010
Nishida N,et.al	MicroRNA-125a-5p is an independent prognostic factor in gastric cancer, and inhibits the proliferation of human gastric cancer cells in combination with trastuzumab	<i>Clinical Cancer Research</i>	in Press	in Press	2010
Tahara K,et.al	Serum matrix-metalloproteinase-1 is a bona fide prognostic marker for colorectal cancer	<i>Ann Surg Oncol</i>	in Press	in Press	2010
Mimori, K,et.al	FHIT Suppresses Inflammatory Carcinogenic Activity by Inducing Apoptosis in Esophageal Epithelial Cells	<i>J Nucl Acid Invest</i>	in Press	in Press	2010
Mimori K,et.al	Clinical significance of miR-21 overexpression in bone marrow from breast cancer cases	<i>J Nucl Acid Invest</i>	in Press	in Press	2010
Iwatsuki M,et.al	The clinical significance of vimentin-expressing gastric cancer cells in bone marrow	<i>Ann Surg Oncol</i>	17(9)	2526-2533	2010