

新規ミトコンドリア品質管理機構とヒトがんにおけるその異常に関する研究

分担研究者 荒川 博文 国立がん研究センター研究所腫瘍生物学分野長

研究要旨

我々は p53 及びその標的遺伝子 *Mieap* によって制御される全く新しいミトコンドリア品質管理機構を見いだした。ヒトがん細胞においては、p53 の変異や *Mieap* のメチル化で、この機能が異常となっており、結果的に不良なミトコンドリアの蓄積を招いている。正常細胞とがん細胞の違いを、がん細胞における異常ミトコンドリアの蓄積ととらえ、その発がんやがん進展における役割の解明と、異常ミトコンドリアを標的とした新しいがん診断法や治療法の開発の基盤を作ることをこの研究の目的とする。ヒトがんにおけるがん細胞における *Mieap* やミトコンドリアの状況を調べ、異常ミトコンドリアから産生される活性酸素による酸化ストレスの役割を、がん細胞及びがん間質細胞の両者において明らかとする。動物モデルを用いた解析から、*in vivo* におけるその意義を解明する。この研究の成果から、がんに特徴的な代謝異常のメカニズム解明と、がん細胞特異的な異常ミトコンドリアを標的とした新しいがん診断法や治療法の開発が期待される。

A. 研究目的

我々は p53 及びその標的遺伝子 *Mieap* によって制御される全く新しいミトコンドリア品質管理(MQC)機構を見いだした。ある種のヒトがん細胞においては、*Mieap* はメチル化で不活性化されていることを見いだした。従って、多くのがん細胞において、p53 の変異や *Mieap* のメチル化で、ミトコンドリアの MQC 機構が異常となり、結果的に不良なミトコンドリアの蓄積を招いている可能性がある。正常細胞とがん細胞の違いを、がん細胞における異常ミトコンドリアの蓄積ととらえ、その発がんやがん進展における役割の解明と、異常ミトコンドリアを標的とした新しいがん診断法や治療法開発の基盤を作ることをこの研究の目的とする。

B. 研究方法

国立がん研究センター研究所の尾野らとの共同研究から開発した免疫沈降物に対する網羅的プロテオーム解析法である IP-2DICAL 法を用いて、*Mieap* 結合タンパク質の同定と機能解析を進める。候補タンパク質に対して、内在性 *Mieap* タンパク質との結合確認や、機能喪失及び機能亢進実験を行うことで、機能を明らかとして、*Mieap* による MQC 機構のメカニズムの詳細を明

らかとする。

Mieap 及び関連タンパク質である BNIP3 と NIX のメチル化異常と p53 の変異について、50 例程度の胃がん組織検体を用いて解析を行う。

Mieap ノックアウトマウスと大腸がんモデルマウスを交配し、大腸がんの発がん及び進展過程における *Mieap* の役割を明らかとする。

C. 研究結果

Mieap 結合タンパク質として UVRAG を同定した。*Mieap* との結合により、エンドサイトーシスを介した MIV の生成を制御する事実を明らかとした。

胃がん組織において、*Mieap*, BNIP3, NIX についてメチル化異常、p53 変異の有無を調べたところ、胃がん症例の約 70%において *Mieap* 制御性 MQC 機構に異常が生じていることが明らかとなった。

Apc^{MIN/+}/*Mieap*^{+/-}マウスが、*Apc*^{MIN/+}マウスに比べて、顕著な寿命の短縮を示すことを明らかとした (*Apc*^{MIN/+}/*Mieap*^{+/-} vs *Apc*^{MIN/+}マウス = 19.1 weeks vs 24.4 weeks)。

D. 考察

UVRAG は、オートファジー研究領域に於いて、

エンドサイトーシス経路を介したエンドソームの成熟及びリソソームとオートファゴソームの融合などに極めて重要なオートファジー関連分子として知られており、大腸がん症例などに於いて、点変異による haplo-insufficiency な不活性化が知られている、がん抑制遺伝子の一つである。その UVRAG と *Mieap* が、物理的・機能的相互作用によって、MIV の生成を制御する事実は、オートファジーのがん抑制機能への新しい視点を与えるもので、その意義は極めて大きいと考える。

本年度解析を行った 50 例の胃がん症例においては、約 70% の症例において、p53 の変異または、*Mieap* あるいは BNIP3 のプロモーター領域のメチル化が生じており、臨床がん組織においては、大腸がんや膵がんのみならず、かなり高頻度に、様々ながん種で、*Mieap* による MQC 機構が不活性化されている可能性が示された。また、胃がんにおいては、正常粘膜における BNIP3 の高頻度のプロモーターメチル化が観察された。このことは、胃がんの発生母地であるピロリ菌による慢性胃炎が、BNIP3 のプロモーターメチル化とそれにとまなう *Mieap* 制御性 MQC 機能の不活性化を引き起こしている可能性があり、*Mieap* 制御性 MQC 機能が関与する、全く新しい胃がん発生防御機構が存在する可能性がある。別の言い方をすれば、胃がんの発生母地であるピロリ菌慢性胃炎では、BNIP3 の不活性化により、不良なミトコンドリアが蓄積し、そこから発生するミトコンドリア由来活性酸素種(ROS)が、胃がん発生の原因となっている可能性があると言える。

消化管腫瘍モデルマウスである *Apc*^{MIN/+} マウスを用いた実験から、*Mieap* のヘテロ欠失は、*Apc*^{MIN/+} マウスの消化管腫瘍の進展を加速する可能性がある。観察された寿命の短縮は消化管腫瘍からの出血の増悪に伴う現象であると推測された。事実、現在までの解析から、通常の *Apc*^{MIN/+} マウスでは、ほとんど観察されない大腸腫瘍が、*Apc*^{MIN/+} /*Mieap*^{+/-} マウスにおいて増加する傾向にあることを確認している。このことから、一昨年度に報告したヒト大腸がん組織における *Mieap* 制御性 MQC 機能の高頻度の不活性化は、大腸腫瘍組織における不良なミトコンドリアの蓄積と、そこから高いレベルの ROS の産生を生体内で招いている可能性が高く、この不良

なミトコンドリアから産生された ROS が、大腸腫瘍の発生・進展に大きく寄与している可能性が高いと推測された。

E. 結論

Mieap によって制御される MQC 機構は、上流で p53 が、下流で BNIP3 が極めて重要な活性化分子やメディエーターとして機能しており、p53/*Mieap*/BNIP3 経路はヒト大腸がん組織や膵がん組織のみならず、胃がん組織に於いても、高頻度に不活性化されている。また、この MQC 機構のヒトがんにおけるその破綻は、がんの微小環境におけるがん細胞への不良なミトコンドリアの蓄積とそこから発生する高いレベルの ROS を介して、がんの増殖・浸潤・転移に極めて重要な役割を果たす可能性がある。

F. 健康危険情報

総括研究報告書を参照のこと。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Zhu Y, Li Y, Haraguchi S, Yu M, Ohira M, Ozaki T, Nakagawa A, Ushijima T, Isogai E, Koseki H, Nakamura Y, Kong C, Mehlen P, Arakawa H, Nakagawara A. Dependence Receptor UNC5D mediates nerve growth factor depletion-induced neuroblastoma regression. *Journal of Clinical Investigation* 123: 2935-2947, 2013.

2. Ohata H, Miyazaki M, Otomo R, Matsushima-Hibiya Y, Otsubo C, Nagase T, Arakawa H, Yokota J, Nakagama H, Taya Y, Enari M. NuMA is required for the selective induction of p53-target genes. *Molecular and Cellular Biology* 33: 2447-2457, 2013.

2. 学会発表

1. Hiroki Kamino, Yasuyuki Nakamura, Noriaki Kitamura, Manabu Futamura, Masaki Yoshida, Ryuya Murai, Yuri Saito, Hitoya Sano, Yae Kanai, Yoshihiro Moriya, Hirofumi Arakawa. Frequent inactivation of the *Mieap*-regulated mitochondrial quality control in colorectal cancer. AACR Annual Meeting 2013, April 8, 2013, Washington D.C., USA.

2. Yasuyuki Nakamura, Masaki Yoshida, Noriaki Kitamura, Hiroki Kamino, Ryuya Murai, Yuri Saito, Hitoya Sano, Hirofumi Arakawa. Hypoxia induces accumulation of lysosomal proteins within mitochondria. AACR Annual Meeting 2013, April 8, 2013, Washington D.C., USA.
3. Yasuyuki Nakamura, Hiroki Kamino, Hitoya Sano, Hirofumi Arakawa. Micap, a p53-inducible protein, controls mitochondrial quality by repairing or eliminating unhealthy mitochondria. AACR Annual Meeting 2013, April 8, 2013, Washington D.C., USA.
4. Hitoya Sano, Hiroki Kamino, Yasuyuki Nakamura, Masaki Yoshida, Ryuya Murai, Yuri Saito, Manabu Futamura, Kazuhiro Yoshida, Hirofumi Arakawa. Frequent inactivation of the p53/Micap/BNIP3 mitochondrial quality control pathway in gastric cancer. AACR Annual Meeting 2013, April 8, 2013, Washington D.C., USA.
5. Yasuyuki Nakamura, Hiroki Kamino, Yuji Miyamoto, Noriaki Kitamura, Hitoya Sano, Shizuko Ichinose, Hirofumi Arakawa. Cell Symposia 2013, May 5, 2013, Lisbon, Portugal.
6. Hiroki Kamino, Yasuyuki Nakamura, Noriaki Kitamura, Hitoya Sano, Shizuko Ichinose, Hirofumi Arakawa. Micap, a p53-inducible protein, controls mitochondrial quality by repairing or eliminating unhealthy mitochondria. Cell Symposia 2013, May 5, 2013, Lisbon, Portugal.
7. Yasuyuki Nakamura, Hiroki Kamino, Masaki Yoshida, Hitoya Sano, Hirofumi Arakawa. Hypoxia induces accumulation of lysosomal proteins within mitochondria. Cell Symposia 2013, May 5, 2013, Lisbon, Portugal.
8. 荒川博文、シンポジウム：ミトコンドリア新機能と破綻による疾患
演題「ミトコンドリア品質管理のメカニズムとがん～がん抑制遺伝子 p53 の新規機能について～」
平成 25 年 9 月 11 日、第 86 回日本生化学会大会
(横浜市)
9. 荒川博文、シンポジウム：オートファジー：がんに対する多面性
演題「Micap 制御性ミトコンドリア品質管理の生理的意義について」、
平成 25 年 10 月 3 日、第 72 回日本癌学会学術総会 (横浜市)
10. 加美野宏樹、中村康之、佐野仁哉、村井竜也、齋藤有理、二村学、吉田和弘、平岡伸介、金井弥栄、九嶋亮治、荒川博文、
ポスター発表、演題「膵臓がん及び乳がんで見られる Micap によるミトコンドリア品質管理機構の破綻とその意義について」、
平成 25 年 10 月 3 日、第 71 回日本癌学会学術総会 (札幌市)
11. 佐野仁哉、中村康之、加美野宏樹、村井竜也、齋藤有理、二村学、吉田和弘、荒川博文、
ポスター発表、演題「胃がんのがん抑制における Micap 制御性ミトコンドリア品質管理機構の役割について」、
平成 24 年 10 月 3 日、第 71 回日本癌学会学術総会 (札幌市)
12. 齋藤有理、中村康之、加美野宏樹、佐野仁哉、村井竜也、吉田将紀、荒川博文、
ポスター発表、演題「精子運動能におけるミトコンドリア品質管理機構を介した Micap の極めて重要な役割について」、
平成 24 年 10 月 3 日、第 71 回日本癌学会学術総会 (札幌市)
13. 中村康之、加美野宏樹、佐野仁哉、村井竜也、齋藤有理、荒川博文、
ポスター発表、演題「マウス消化管腫瘍の発生と進展における Micap 制御性ミトコンドリア品質管理機構の役割について」、
平成 24 年 10 月 3 日、第 71 回日本癌学会学術総会 (札幌市)
14. Yuri Saito, Yasuyuki Nakamura, Hiroki Kamino, Hitoya Sano, Masaki Yoshida, Ryuya Murai, Hirofumi Arakawa. Hypoxia induces accumulation of lysosomal proteins within mitochondria. Critical role of Micap in sperm motility through

mitochondrial quality control. International Symposium on Mitochondria 2013, November 6, 2013, Tokyo, Japan.

15. Yasuyuki Nakamura, Hiroki Kamino, Hitoya Sano, Ryuya Murai, Yuri Saito, Hirofumi Arakawa. Potential role of the Mieap-regulated mitochondrial quality control in mouse intestinal tumorigenesis. International Symposium on Mitochondria 2013, November 7, 2013, Tokyo, Japan.

16. Hiroki Kamino, Yasuyuki Nakamura, Hitoya Sano, Ryuya Murai, Yuri Saito, Manabu Futamura, Kazuhiro Yoshida, Nobuyuki Hiraoka, Yae Kanai, Ryoji Kushima, Hirofumi Arakawa. Frequent inactivation of the Mieap-regulated mitochondrial quality control in pancreatic and breast cancer. International Symposium on Mitochondria 2013, November 7, 2013, Tokyo, Japan.

17. Hitoya Sano, Yasuyuki Nakamura, Hiroki Kamino, Yuri Saito, Manabu Futamura, Kazuhiro Yoshida, Hirofumi Arakawa. Potential role of the Mieap-regulated mitochondrial quality control pathway in gastric tumor suppression. International Symposium on Mitochondria 2013, November 6, 2013, Tokyo, Japan.

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

がん間質の免疫微小環境に関する研究

分担研究者 平岡 伸介 国立がん研究センター研究所・分子病理分野・ユニット長

研究要旨： 本研究では、ヒト膵がん間質の免疫微小環境の理解を深めるために、それに関わる形態学的変化、腫瘍間質に浸潤する免疫担当細胞、腫瘍間質で発現される分子の免疫微小環境における意義を検討し、さらに抗腫瘍性の免疫微小環境の形成に関わる分子機序に迫ることで、効果的な免疫療法の開発や分子標的治療の開発、がんの予後予想に資する知見を得ることを目指している。平成25年度には、膵がん組織内外に形成される3次リンパ装置の存在に注目して検討し、腫瘍内部に3次リンパ装置が形成される腫瘍免疫微小環境は、抗腫瘍性環境であることを示唆する免疫細胞浸潤やサイトカイン遺伝子発現を呈した。またそれらのがんでは、がん細胞浸潤による既存の脈管・神経の破壊が特徴的に軽微であった。腫瘍内3次リンパ装置の形成は独立した予後因子であるとの知見を得た。本研究から、膵がん組織内の3次リンパ装置の存在が宿主の抗腫瘍免疫を量る指標になること、予後予測の指標になることに加えて、免疫反応と腫瘍の浸潤能や腫瘍間質の血管・神経の存在や性状との関連性が重要であることを見出した。

A. 研究目的

浸潤・転移等、がんの重要な臨床的特性は、がん細胞、がん間質、また両者の相互作用によって規定されている。免疫担当細胞はがん間質を構成する一員であり、がんの微小環境に与える影響は大きい。未だ有効な治療法として確立されていないがんに対する免疫療法にとって、その問題点を克服し、効果的な治療を確立することは急務である。それにはヒトがんで実際に起こっている、がんとヒト免疫系を含めたがん間質との相互作用を深く理解することは不可欠である。本研究では、厚生労働行政上、緊急の課題である難治性膵がんに注目して、ヒトがん間質の免疫微小環境の理解を深めることを目指し、それに関わる形態学的変化、腫瘍間質に浸潤する免疫担当細胞、腫瘍間質で発現される分子について臨床病理学的検討を元に、それら遺伝子発現や浸潤様式の内何が、抗腫瘍性(免疫反応性)と好腫瘍性(免疫寛容)といった免疫微小環境を特徴付けているのかを検討し、次いでそれらの分子発現や細胞浸潤がどのような分子機序で各微小環境の形成に寄与しているのかを、*in vitro* 解析や動物モデルを用いて解析する。

本年度は、膵がん組織に形成される3次リンパ装置について、その免疫微小環境における役

割と臨床病理学的な意義を検討するために、3次リンパ装置の形成部位と頻度に注目して症例を分類し、様々な臨床病理学的な因子や免疫微小環境の特性を反映する免疫細胞浸潤、がん組織の構築(血管・神経)との関係を検討した。更に患者生存との関係に関する結果を新たな膵がんコホートをを用いて検証した。

本研究により、がん間質において抗腫瘍免疫を惹起し、宿主免疫に対する抑制を解除する分子機構が見出され、効果的な免疫療法の開発や分子標的治療の開発、がんの予後予想に資する知見を得ることが期待される。膵がんの治療選択肢が広がるようになれば、国民の保険・医療に寄与するところが大変に大きい。

B. 研究方法

免疫微小環境は、抗腫瘍性(免疫反応性)と好腫瘍性(免疫寛容)に大別でき、がん間質ではそれらが種々の程度に混在した状況と考えられる。また好腫瘍性環境の中には、がんの浸潤・転移等に有意な関係を示す亜環境もあると推測される。そこで、まず抗腫瘍性と好腫瘍性の免疫微小環境がどのような形態学的変化、免疫担当細胞の浸潤様式や分子の発現により特徴付けられるの

かを検討し、次いでそれらの分子発現や細胞浸潤がどのような分子機序で各微小環境の形成に寄与しているのかを解析する。以下に本年度に実施した研究の方法を記す。

1. 膵がん組織に形成される 3 次リンパ装置と免疫微小環境

1990-2004年に国立がん研究センター中央病院肝胆膵外科で切除された膵がん約 320 症例について、膵がん間質に形成される 3 次リンパ装置形成の意義を臨床病理学的に検討した。膵がん組織の特性を考慮して、予備検討から 3 次リンパ装置の評価基準を定め、3 次リンパ装置の形成部位(腫瘍内部、腫瘍周囲辺縁部)と形成頻度に基づいて分類し、患者生命予後を含む臨床病理学的な特性との比較、腫瘍内に浸潤する免疫細胞浸潤(CD3⁺T細胞、CD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞、CD4⁺FOXP3⁺制御性T細胞、CD20⁺B細胞、CD11c⁺樹状細胞、CD163⁺M2マクロファージ、CD66b⁺好中球)と比較検討した。膵がん組織の免疫微小環境をさらに検討するために、膵がん新鮮凍結組織から全RNAを抽出後、定量的RT-PCR法を用いて、Th1、Th2等の免疫環境に深く関わる遺伝子発現を測定し、3次リンパ装置との関係を検討した。

また、3次リンパ装置と患者予後との関係結果については、2005-2009年に国立がん研究センター中央病院肝胆膵外科で切除された膵がん約230症例を用いて検証した。

2. 膵がん組織に形成される 3 次リンパ装置とがん組織構築との関係

がん組織構築(脈管・神経等)についてがん組織に対する特殊染色や免疫組織化学を用いて同定し、3次リンパ装置との関係を検討した。

倫理面への配慮

平成20年厚生労働省告示第415号「臨床研究に関する倫理指針」ならびに平成19年8月16日改正文部科学省・厚生労働省「疫学研究に関する倫理指針」に従い、倫理面に十分配慮して研究をすすめる。手術材料の残余の組織などの研究利用につき、患者に対して予め説明し文書で包括的同意を得る。患者の治療方針決定のための病理組織標本を迅速に作成して残余の組織を採取することにより、患者への不利益を生じさせない。患者の臨床情報のうち本研究

に必要なものは、別に診療録より調査しておき、解析の過程では連結可能匿名化して取り扱うなどの細心の注意を払い、患者のプライバシーを遵守する。本研究に関して、所属施設の倫理委員会承認を既に得ている(国立がん研究センター倫理審査委員会課題番号17-77)。動物実験は動物愛護の立場に立ち、動物愛護管理法(環境省)、厚生労働省における動物実験等の実施に関する基本指針(厚生労働省)、カルタヘナ法(文部科学省)等の法令、指針に基づく国立がん研究センターにおける動物実験に関する指針に則って実施した。

C. 研究結果

1. 膵がん 3 次リンパ装置と患者予後・臨床病理学的因子・免疫微小環境との関係

3次リンパ装置の形成部位と頻度から膵がん症例を分類して[grade 0: 無形性。grade 1: 膵がん組織辺縁から周囲に3次リンパ装置が少量形成される。がん組織内の形成無し。grade 2: 膵がん組織周囲に多く形成される。がん組織内の形成無し。grade 3: がん組織内に3次リンパ装置が少量形成される。grade 4: がん組織内に3次リンパ装置が多く形成される]、生存との関係をKaplan-Meier法、比例ハザードモデルを用いた単変量・多変量解析により検討した。grade 0症例はなく、がん組織内に3次リンパ装置形成のあるgrade 3が約14%、grade 4が約1%と少数であったが、がん組織内に形成のない症例(grade 1, 2)に比して、全生存(OS)、無病生存(DFS)がいずれも有意に長く、grade 4症例は5例のみでTNMステージがIIBにもかかわらず全て無再発生存であった。がん組織内に3次リンパ装置が形成されていることは独立した予後因子と考えられた(OS, HR 1.673, $P = 0.012$; DFS, HR 1.611, $P = 0.016$)。また有意な関連性のあった臨床病理学的因子は組織学的分化度の高いこと($P = 0.002$)、静脈侵襲の少ないこと($P = 0.01$)であった。

別の膵がんコホートを用いて同様に3次リンパ装置の存在様式と予後との関係を検討した結果、ほぼ同様の結果が得られ、がん組織内に3次リンパ装置が形成されていることは独立した予後因子と考えられた(OS, HR 2.474, $P = 0.002$; DFS, HR 1.772, $P = 0.018$)。

免疫微小環境との関係を見ると、膵がん組織

内に 3 次リンパ装置の存在する症例は存在しない症例に比して、免疫反応性を示唆する CD3⁺ T 細胞、CD4⁺ T 細胞、CD8⁺ T 細胞、CD20⁺ B 細胞の各浸潤が有意に多く、逆に免疫抑制性を示唆する CD4⁺FOXP3⁺ 制御性 T 細胞、CD163⁺ M2 マクロファージの各浸潤が有意に少なかった。サイトカイン等の免疫関連遺伝子発現を測ると、膵がん組織内に 3 次リンパ装置の存在する症例は存在しない症例に比して、Th1 関連遺伝子、Th17 関連遺伝子、炎症関連遺伝子に有意に発現が高いものがあつた。Th2 関連遺伝子や免疫抑制性遺伝子発現に有意な差は見られなかった。以上から、膵がん組織内に 3 次リンパ装置の存在する症例は、比較的細胞性免疫が活動性の状態であることが示唆された。

2. 膵がん組織の 3 次リンパ装置形成と膵がん組織構築との関係

膵がん組織や慢性膵炎組織内で形成される 3 次リンパ装置は膵小葉間結合織を中心に存在し、細動静脈・末梢神経と強く関連していることが観察された。膵がん組織内に 3 次リンパ装置の存在する症例と一般的な膵がん症例各 20 例を比較検討すると、腫瘍内 3 次リンパ装置を伴わない膵がん組織では、細動静脈・末梢神経はがん浸潤によって跡形もなく破壊されて減少していること、痕跡の残る静脈の多くは、がん細胞による静脈侵襲を受けて内腔が閉塞していること、逆に腫瘍内 3 次リンパ装置を有する膵がん組織では、細動静脈・末梢神経はがん浸潤を免れて残存するものが多いことが統計的な有意差を伴って認められ、3 次リンパ装置とそれら構造との関連性が示唆された。

D. 考察

1. 膵がんにおける 3 次リンパ装置の臨床病理学的意義

上記に示した結果から、膵がん組織内の 3 次リンパ装置の存在は宿主の抗腫瘍免疫を量る指標になること、予後予測の指標になることが示された。これまで膵がん組織に形成される 3 次リンパ装置についての検討はなく、また他臓器がんにおける 3 次リンパ装置研究では 3 次リンパ装置が腫瘍辺縁部に存在しているか、もしくは 3 次リンパ装置の部位に関する検討はされていない。また、3 次リンパ装置が細動静脈・末梢

神経と関連して存在していること、腫瘍内に 3 次リンパ装置を有するがん組織では細動静脈・神経が破壊されずに残存していること、腫瘍内に 3 次リンパ装置を持たないがんでは周囲組織に浸潤進展していく際に腫瘍辺縁部に形成されている 3 次リンパ装置を破壊しながら進展していくことから、腫瘍内に存在する 3 次リンパ装置は腫瘍組織内に新たに形成されたと考えるよりも、腫瘍周囲に形成されていた 3 次リンパ装置が腫瘍の周囲への拡張進展の過程で破壊されずに腫瘍内部に取り込まれるように残存したものである可能性が示唆されると共に、そのような進展様式を呈するがん細胞の破壊性浸潤能の弱さに起因していることが推測された。一方で、腫瘍組織内の血管が動静脈から細動静脈レベルの血管の残存と毛細血管レベルの細い血管における非腫瘍性血管(いわゆる異常血管としての腫瘍性血管の特徴を欠く)が多くを占めていることは、がん組織内に免疫細胞の輸送経路が維持され、そのことが活動性の免疫反応につながった可能性が推測された。また血管網が比較的健常に保たれているのであれば、薬剤輸送経路も維持されている可能性が示唆され、薬物療法に対する抵抗性の低い腫瘍群、ほかの条件がそろえば治療効果の期待できる治療対象例として選別されると考えられる。以上のように、腫瘍内に 3 次リンパ装置を有することは、免疫療法や薬物療法の効果対象患者の選別条件への応用可能性が示唆された。

E. 結論

本研究では、ヒト膵がん間質の免疫微小環境の理解を深めることを目的として、それに関する形態学的変化、腫瘍間質に浸潤する免疫担当細胞、腫瘍間質で発現される分子について、それらがいかに抗腫瘍性(免疫反応性)と好腫瘍性(免疫寛容)といった免疫微小環境を特徴付けているのかを検討している。本年の研究では、膵がん組織内部に存在する 3 次リンパ装置の存在が、抗腫瘍性免疫微小環境を反映して独立した予後因子になることを明らかにした。またそのがん微小環境は、がん浸潤による細動静脈破壊や神経浸潤に乏しく、がん組織内に比較的正常な血管網が維持されていることが示唆された。がん組織への薬物・免疫担当細胞の供給を可能

とする、腫瘍内血管正常化療法と免疫療法の開発の接点となる重要な知見と考えられる。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ino Y, Yamazaki-Itoh R, Shimada K, Iwasaki M, Kosuge T, Kanai Y, Hiraoka N. Immune cell infiltration as an indicator of the immune microenvironment of pancreatic cancer. *Br J Cancer*. **108**: 914-23, 2013.
- 2) Ino Y, Yamazaki-Itoh R, Oguro S, Shimada K, Kosuge T, Zavada J, Kanai Y, Hiraoka N. Arginase II expressed in cancer-associated fibroblasts indicates tissue hypoxia and predicts poor outcome in patients with pancreatic cancer. *PLoS One*. **8**: e55146, 2013.
- 3) Oguro S, Shimada K, Ino Y, Esaki M, Nara S, Kishi Y, Kosuge T, Kanai Y, Hiraoka N. Pancreatic intraglandular metastasis predicts poorer outcome in postoperative patients with pancreatic ductal carcinoma. *Am J Surg Pathol*. **37**: 1030-8, 2013.
- 4) Hori M, Takahashi M, Hiraoka N, Yamaji T, Mutoh M, Ishigamori R, Furuta K, Okusaka T, Shimada K, Kosuge T, Kanai Y, Nakagama H. Association of pancreatic fatty infiltration with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Transl Gastroenterology*. **5**: e532012, 2014.

2. 学会発表

- 1) 平岡伸介 膵がんの免疫微小環境. 第 102 回日本病理学会総会, 札幌, 2013 年 6 月.
- 2) 平岡伸介 腫瘍局所の免疫環境. 第 10 回日本病理学会カンファレンス, 神戸, 2013 年 8 月.
- 3) 平岡伸介 病理検体の扱いと診断法 新鮮検体の扱いと術中迅速診断. 第 7 回診断病理サマーフェスト 肝胆膵疾患の病理と臨床, 京都, 2013 年 8 月.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 発明の名称: 免疫微小環境を反映する、膵がんの予後予測マーカー、発明者: 平岡伸介、石川義典、山崎理恵、出願人: 独立行政法人国立がん研究センター、出願番号: 特願 2013-102529 (日本)

がん間質相互作用における糖鎖認識分子とがん細胞グリコームの役割の
解明と臨床応用に関する研究

研究分担者 神奈木 玲児 愛知医科大学・先端医学研究センター・客員教授

研究要旨

我々は以前に、大腸の正常上皮細胞に存在する硫酸化糖鎖の発現が癌化とともに消退することを観察し、この硫酸化糖鎖が免疫抑制分子シグレック7の特異的リガンドであることから、その消失は大腸粘膜間質のシグレック7陽性免疫細胞を活性化し、COX2産生誘導などを通して癌のプログレッションを促進する意義を持つことを明らかにした。さらに、癌化に伴う硫酸化糖鎖の消失は、この糖鎖の合成に関わる糖鎖関連遺伝子のエピジェネティック・サイレンシングが主要なメカニズムとなっていることを示した。本年度我々は、前回のものとは構造の異なる別種の硫酸化糖鎖が正常B細胞に発現し、B細胞の悪性化とともに消退することを観察した。この硫酸化糖鎖は免疫抑制分子シグレック2の特異的リガンドであり、悪性B細胞と血管内皮細胞との相互作用を通じて、悪性細胞の血管外浸潤を調節する。硫酸化糖鎖の発現低下は悪性細胞の組織浸潤を促進すると考えられ、患者材料においても悪性B細胞におけるこの硫酸化糖鎖の発現は統計的に有意に低下していた。悪性B細胞におけるこの硫酸化糖鎖の発現の低下消失は、この糖鎖の合成に関わる糖鎖関連遺伝子のエピジェネティック・サイレンシングが主要なメカニズムとなっていることが示された。

A.研究目的

悪性化にともない細胞表面の糖鎖に大きな変化が起こることは古くから知られている。悪性細胞に選択的に出現する糖鎖は、糖鎖マーカーとして疾患の診断に役立つのみならず、一部の糖鎖は糖鎖認識分子と相互作用して細胞接着を引き起こし、癌細胞の運動性や浸潤能、転移能に深く関与するという病態的意義を有している。たとえば癌関連糖鎖であるシアリルルイスXやシアリルルイスA糖鎖は、血管内皮細胞のもつ細胞接着セレクチンの特異的リガンドであり、悪性細胞と血管細胞との接着を媒介し、脈管形成や血行性転移を促進する。一方、正常細胞の糖鎖にも生理的機能があり、悪性化にともなってこれらの正常糖鎖の機能は失われる。たとえば正常糖鎖の一部には、間質の免疫細胞の持つ抑制性糖鎖認識分子であるシグレックの特異的リガンドがあり、間質の免疫細胞の過度な活性化を抑制している。悪性化にともなってこれらの正常糖鎖が失われると、間質

の免疫細胞の活性化によりCOX2などの炎症性物質が産生され、悪性細胞のプログレッションが促進する。このように細胞悪性化にともなう糖鎖異常は、正常糖鎖の欠失という意味からも、異常糖鎖の出現というという意味でも、双方向性に癌の微小環境に大きな変化をもたらす。本研究はこの相互作用の分子機構を明らかにして臨床応用可能な新しい診断・治療法の開発につなげることを研究目的としている。

B.研究方法

我々は以前に、正常大腸の上皮細胞で強く発現する硫酸化糖鎖が大腸癌では発現が低下消失しており、これが癌化に伴う硫酸トランスポーター遺伝子のエピジェネティック・サイレンシングによることを明らかにした(*Cancer Res* 2010)。さらに、この時に発現が失われる正常糖鎖には、大腸粘膜間質の組織マクロファージのもつ抑制性糖鎖認識分子であるシグレック7の特異的リガンドが含まれることを明らかにし、シグレック7が

その細胞内ドメイン中の ITIM モチーフを介して、LPS 刺激によるマクロファージ様細胞の COX2 産生を抑制する機能を持つことを明らかにした。しかしながら、当時の研究は研究対象を大腸組織に限定しており、こうした現象が他の臓器・組織の悪性疾患でも広く起こっているかについては知見が得られていなかった。

今回我々は、正常 B 細胞に類似の硫酸化糖鎖 α 2,6 シアリル 6-スルホ LacNAc が発現していることを認め、さらにこの糖鎖がシグレック 2 (CD22) の特異的リガンドとなっていることに注目して、この糖鎖について検索を行った。この正常 B 細胞の糖鎖は、シアル酸の結合様式が α 2,6 結合であり、糖鎖中にフコースを欠くなどの点で以前に研究した大腸の硫酸化糖鎖とは異なる糖鎖であるが、N-アセチルグルコサミン基の C6 位に硫酸基を有するという点が共通点である。

研究方法は、以前に大腸の硫酸化糖鎖について施行した方法を用いた。すなわち、この糖鎖に特異的な自作の単クローン抗体 KN343 を用いて B 細胞悪性疾患患者から得た試料を検索した。加えて、この硫酸化糖鎖を発現する培養悪性 B 細胞株を用いて、硫酸化糖鎖の合成発現に関与する遺伝子の転写調節機構を検索した。また、この硫酸化糖鎖の生理的機能を明らかにするために、遺伝子導入によって得た硫酸化糖鎖発現細胞とシグレック 2 発現細胞およびリコンビナント・シグレック 2 分子を用いて、前回と同様な細胞接着実験などを行った。

(倫理面への配慮)

研究に使用する臨床材料は、材料を得る各施設での倫理委員会を経たものを用いた。

C. 研究結果

1) 培養悪性 B 細胞株を用いた硫酸化糖鎖の生理的意義の検索

今回研究対象とした硫酸化糖鎖は、シグレック 2 (CD22) の特異的リガンドであり、シグレック 2 は B 細胞に特異的に発現することから、B 細胞はこの糖鎖を発現する細胞を相手として細胞接着を起こすと考えられる。そこで本糖鎖を発現する細胞を検索したところ、血管内皮細胞にきわめて強く発現していることが明らかとなった。このことから、この硫酸化糖鎖とシグレック 2 との結合は、B リンパ球系細胞の血管内皮への接着を媒

介すると考えられた。この接着により、正常 B 細胞では B 細胞のホーミングが媒介され、悪性 B 細胞では悪性細胞の血管外浸潤がもたらされると考えられた。

正常 B 細胞はシグレック 2 に加えて同時にこの硫酸化糖鎖をも発現している。このような場合には、同じ細胞上の硫酸化糖鎖がシグレック 2 の糖鎖結合能をマスクしてしまうため、血管内皮細胞の糖鎖リガンドと結合できないことが、細胞接着実験の結果から明らかになった。一方、シグレック 2 を発現する B リンパ球系細胞において、この内因性の硫酸化糖鎖リガンドが存在しない場合には、シグレック 2 は血管内皮細胞の糖鎖リガンドと結合して B リンパ球系細胞の血管内皮への接着を媒介することが、細胞接着実験の結果から明らかとなった。

以上の知見から、B リンパ球系細胞の正常糖鎖 α 2,6 シアリル 6-スルホ LacNAc は、B 細胞の血管内皮への接着を抑制するという生理機能を持っており、この正常糖鎖の発現が失われると、B リンパ球系細胞の血管外脱出が促進されると考えられた。このことから我々は、悪性 B 細胞性疾患においては、悪性細胞の α 2,6 シアリル 6-スルホ LacNAc 発現が低下し、これが悪性 B 細胞の血管外浸潤を促進するという仮説を立て、B 細胞性悪性疾患患者の検体の分析を行った。

2) B 細胞性悪性疾患患者検体における硫酸化糖鎖の発現

その結果、広範な B 細胞由来の悪性疾患において、悪性細胞の硫酸化糖鎖の発現が低下していることが判明した。ALL 症例においては発現の著明な低下が見られ、悪性リンパ腫細胞でも統計的に有意な低下が認められた。最も高頻度に低下を認めたのは濾胞性リンパ腫 (FL) であった。CLL 症例では、大多数の症例では硫酸化糖鎖の発現が保たれていたが、多発性のリンパ節浸潤を示す症例では発現が低下し、両群間には統計的な有意差があった ($p < 0.001$, $n = 26$)。PLL においても同様な傾向が観察された ($p < 0.001$, $n = 8$)。

2) 培養悪性 B 細胞株を用いた硫酸化糖鎖の発現低下のメカニズムの検索

培養悪性 B 細胞株においても、しばしば硫酸化糖鎖の発現低下が見られた。悪性リンパ腫由来の細胞では、とくに濾胞性リンパ腫での発現低下が

著明であり、その傾向は臨床例と並行していた。硫酸化糖鎖の発現低下のメカニズムとして、以前の大腸癌の場合(*J Immunol* 2012)とのアナロジーからまずエピジェネティック・サイレンシングを考え、硫酸化糖鎖の発現が低下した細胞株に対してDNAメチル化阻害剤、HDAC阻害剤、ヒストンメチルトランスフェラーゼ阻害剤などを加えて培養したところ、硫酸化糖鎖の発現の回復が観察された。

D. 考察

今回の研究成果は、細胞の悪性化にともなって糖鎖合成に関連する遺伝子のエピジェネティック・サイレンシングが起こり、それによって正常細胞の有していた機能性糖鎖が失われ、その機能欠損によって、細胞の悪性化がさらに進行するという事態が、大腸癌に加えて、B細胞においても成り立っている可能性があることを示した。類似の現象は、他の臓器・組織の細胞の悪性化においてもおそらく広く起こっているものと予想される。

今回観察されたB細胞における正常硫酸化糖鎖 α 2,6シアリル6-スルホLacNAcの発現低下は、悪性細胞の組織浸潤活性と関連しているとみられるので、患者由来の悪性細胞で本糖鎖の発現を測定することにより、リンパ節浸潤の進行や患者の予後などを推定できる可能性がある。症例数をさらに増加して検討する必要がある。

エピジェネティック・サイレンシングはリンパ腫においては治療のターゲットのひとつとも考えられており、そのような治療が実用化された際には、患者由来の悪性細胞で本糖鎖の発現を検査することが、治療の効果を反映するマーカーとなる可能性が考えられる。

E. 結論

正常細胞に選択的に発現され、悪性化とともにその発現が消失傾向を示す硫酸化糖鎖としては、前回の大腸癌糖鎖に引き続いて今回は二例目の研究対象であり、前回の大腸癌の場合ときわめて類似の状況が見られることが明らかとなった。すなわち、

(1)細胞表面糖鎖のうちには、正常細胞に選択的に発現され、細胞の悪性化にともなって発現が消退する糖鎖がある。逆に、正常細胞にはあまり発現されず、悪性細胞で発現が誘導される糖鎖もある。

従来は、後者のみが「癌関連性糖鎖」として注目されてきたが、正常細胞に選択的に発現され、悪性細胞では発現が消退する糖鎖にも、重要な病態的意義を持つものがあることが、前回の大腸癌糖鎖に引き続いて、Bリンパ球の糖鎖についても示されることとなった。

(2)正常細胞に選択的に発現される硫酸化糖鎖には、免疫抑制分子であるシグレックのリガンドが含まれる。前回の大腸癌糖鎖はシグレック7の特異的リガンドであったが、今回のBリンパ球の硫酸化糖鎖はシグレック2の特異的リガンドであった。これらの糖鎖は、シグレックのリガンドであるという役割を通じて、生理的機能を持つと考えられる。

(3)細胞の悪性化にともなって正常糖鎖の発現が低下するメカニズムは、前回の大腸癌糖鎖の例においても、今回のBリンパ球の硫酸化糖鎖においても、糖鎖合成に関与する遺伝子のエピジェネティック・サイレンシングであると考えられる。正常糖鎖の発現の消退にあたっては、エピジェネティック・サイレンシングの機序が広汎に働いていると考えられた。

F. 健康危険情報

現在のところ、特記すべきものはありません。

G. 研究発表

1. 神奈木玲児: T-および B-リンパ球のホーミング糖鎖の活性調節機構と病態的意義. 「糖鎖免疫 Glycoimmunology 2014」平成25年度東京医科歯科大学難治疾患共同研究拠点研究集会, 東京, 2月17-18日, 2014.
2. 佐久間圭一朗、神奈木玲児, 青木正博: Sialyl Lewis glycan expression is linked with epithelial-mesenchymal transition in colon cancer cells. 第65回日本細胞生物学会大会, 名古屋, 6月19日-21日, 2013.

H. 論文発表

(発表誌名・巻号・ページ・発行年)

1. Tanaka, K., Tamiya-Koizumi, K., Yamada, M., Murate, T., Kannagi, R., and Kyogashima, M.: Individual profiles of free ceramide species and the constituent ceramide species of sphingomyelin and neutral glycosphingolipid and their alteration according to the sequential changes of environmental

oxygen content in human colorectal cancer Caco-2 cells.

Glycoconj. J., **31**: 209-219, 2014.

2. Patnode, M. L., Yu, S. Y., Cheng, C. W., Ho, M. Y., Tegesjo, L., Sakuma, K., Uchimura, K., Khoo, K. H., Kannagi, R., and Rosen, S. D.: KSGal6ST generates galactose-6-O-sulfate in high endothelial venules but does not contribute to L-selectin-dependent lymphocyte homing. *Glycobiology*, **23**: 381-394, 2013.

3. Kannagi, R. Fucosyltransferase 5. GDP-Fucose Lactosamine α 3/4-Fucosyl- transferase (*FUT5*). In N. Taniguchi, *et al.*, (eds.), *Handbook of Glycosyltransferases and Related Genes*, pp. 549-558. Tokyo: Springer Japan, 2014.

4. Kannagi, R. Fucosyltransferase 6. GDP-Fucose Lactosamine α 3-Fucosyl- transferase (*FUT6*). In N. Taniguchi, *et al.*, (eds.), *Handbook of Glycosyltransferases and Related Genes*, pp. 559-571. Tokyo: Springer Japan, 2014.

5. Kannagi, R., Sakuma, K., and Ohmori, K. Cell-surface glycoconjugates control- ling human T-lymphocyte homing: Implications for bronchial asthma and atopic dermatitis. In M. Shibasaki, M. Iino, and H. Osada (eds.), *Chembiomolecular Science: At the Frontier of Chemistry and Biology*, pp. 167-176. Tokyo: Springer Japan, 2013.

1. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
特にありません。
2. 特許取得
特にありません。
3. 実用新案登録
特にありません。
4. その他
特にありません。

Ⅲ. 研究成果に関する一覧

研究成果の刊行に関する一覧表

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
<u>Mochizuki S. and Okada Y.</u>	ADAM28.	Rawlings N.D. and Salvesen G.S.	Handbook of Proteolytic Enzymes.	Elsevier Ltd	Oxford, UK.	2013	1136-1139
<u>Kannagi, R.</u>	Fucosyltransferase 5. GDP-Fucose Lactosamine α 3/4-Fucosyltransferase (FUT5)	Taniguchi, N.	Handbook of Glycosyltransferases and Related Genes	Springer	Tokyo	in press (2014)	549-558
<u>Kannagi, R.</u>	Fucosyltransferase 6. GDP-Fucose Lactosamine α 3-Fucosyltransferase (FUT6)	Taniguchi, N.	Handbook of Glycosyltransferases and Related Genes	Springer	Tokyo	in press (2014)	559-571

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
Kaseda, K, <u>Ishii G</u> , Aokage, K; Takahashi, A; Kuwata, T; Hishida, T; Yoshida, J; Kohno, M; Nagai, K; Ochiai, A.	Identification of intravascular tumor microenvironment features predicting the recurrence of p-stage I lung adenocarcinoma.	<i>Cancer Sci</i>	104(9)	1262-1269	2013
Kinoshita T, <u>Ishii G</u> , Hiraoka N, Hirayama S, Yamauchi C, Aokage K, Hishida T, Yoshida J, Nagai K. Ochiai A.	Foxp3+ regulatory T cells coexisting with cancer associated fibroblast are correlated with a poor outcome in lung adenocarcinoma.	<i>Cancer Sci</i>	104(4)	409-415	2013

研究成果の刊行に関する一覧表

Ono S, <u>Ishii G</u> , Nagai K, Takuwa T, Yoshida J, Nishimura M, Hishida T, Aokage K, Fujii S, Ikeda N, Ochiai A.	Podoplanin-positive cancer associated fibroblast could have prognostic value independent of cancer cell phenotype in stage I lung squamous cell carcinoma: Utility of combining analysis of both cancer cell phenotype and cancer associated fibroblast phenotype.	<i>Chest</i>	143(4)	963-970	2013
Ichinokawa H, <u>Ishii G</u> , Nagai K, Kawase A, Yoshida J, Nishimura M, Hishida T, Ogasawara N, Tsuchihara K, Ochiai A.	Distinct clinicopathologic characteristics of lung mucinous adenocarcinoma with KRAS mutation.	<i>Human Pathol</i>	44(12)	2636-2642	2013
An J, Enomoto A, Weng L, Kato T, Iwakoshi A, Ushida K, Maeda K, Ishida-Takagishi M, <u>Ishii G</u> , Ming S, Sun T, Takahashi M.	Significance of cancer-associated fibroblasts in the regulation of gene expression in the leading cells of invasive lung cancer.	<i>J Cancer Res Cl in Oncol</i>	139(3)	379-388	2013
Takahashi A, <u>Ishii G</u> , Kinoshita T, Yoshida T, Umemura S, Hishida T, Yoh K, Niho S, Goto K, Ohmatsu H, Ohe Y, Nagai K, Ochiai A.	Identification of prognostic immunophenotypic features in cancer stromal cells of high-grade neuroendocrine carcinomas of the lung.	<i>J Cancer Res Cl in Oncol</i>	139(11)	1869-1878	2013
Yoshida T, <u>Ishii G</u> , Goto K, Yoh K, Niho S, Umemura S, Matsumoto S, Ohmatsu H, Nagai K, Ohe Y, Ochiai A.	Solid Predominant Histology Predicts EGFR tyrosine-kinase inhibitor response in patients with EGFR Mutation-positive lung adenocarcinoma.	<i>J Cancer Res Cl in Oncol</i>	139(10)	1691-1700	2013
Kirita K, <u>Ishii G</u> , Matsuwaki R, Matsumura Y, Umemura S, Matsumoto S, Yoh K; Niho S, Goto K, Ohmatsu H, Ohe Y, Nagai K, Ochiai A.	Identification of biological properties of intralymphatic tumor related to the development of lymph node metastasis in lung adenocarcinoma.	<i>PLoS One</i>	8(12)	e83537	2013
Zenke T, <u>Ishii G</u> , Ohe Y, Kaseda K, Yoshida T, Matsumoto S, Umemura S, Yoh K, Niho S, Goto K, Ohmatsu H, Kuwata T, Nagai K, Ochiai A.	Aldehyde dehydrogenase 1 expression in cancer cells could have prognostic value for patients with non-small cell lung cancer who are treated with neoadjuvant therapy: identification of prognostic microenvironmental factors after chemoradiation.	<i>Pathol.Int</i>	63(12)	599-606	2013

研究成果の刊行に関する一覧表

Maeda R, <u>Ishii G</u> , Neri S, Aoyagi K, Haga H, Sasaki H, Nagai K, Ochiai A.	Circulating CD14+CD204+ cells as a possible therapeutic target to prevent postoperative recurrence in non-small cell lung cancer patients.	<i>J Thorac Oncol</i>	9(2)	179-188	2014
Kojima M, Higuchi Y, Yokota M, <u>Ishii G</u> , Saito N, Aoyagi K, Sasaki H, Ochiai A.	Human subperitoneal fibroblast and cancer cell interaction creates microenvironment that enhances tumor progression and metastasis.	<i>PLoS One</i>	9(2)	e88018	2014
Matsuwaki R, <u>Ishii G</u> , Zenke Y, Neri S, Aokage K, Hishida T, Yoshida J, Fujii S, Kondo H, Goya T, Nagai K, Ochiai A.	Immunophenotypic features of metastatic lymph node tumors to predict recurrence in N2 lung squamous cell carcinoma.	<i>Cancer Sci</i>	in press		
Abe H, Mochizuki S, Ohara K, Ueno M, Ochiai H, Kitagawa Y, Hino O, Sato H. and <u>Okada Y</u> .	Src plays a role in ADAM28 expression in v-src-transformed epithelial cells and human carcinoma cells.	<i>Am J Pathol</i>	183	1667-1678	2013
Mikami S, Oya M, Mizuno R., Kosaka T, Katsube K. I. and <u>Okada Y</u> .	Invasion and metastasis of renal cell carcinoma.	<i>Med Mol Morphol</i>	in press		2014
Effendi K, Yamazaki K, Mori T, Masugi Y, Makino S, <u>Sakamoto M</u> .	Involvement of hepatocellular carcinoma biomarker, cyclase-associated protein 2 in zebrafish body development and cancer progression.	<i>Exp Cell Res</i>	319(1)	35-44	2013
Fukuma M, Tanese K, Effendi K, Yamazaki K, Masugi Y, Suda M, <u>Sakamoto M</u> .	Leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 5 regulates epithelial cell phenotype and survival of hepatocellular carcinoma cells.	<i>Exp Cell Res</i>	319(3)	113-121	2013
Emoto K, Masugi Y, Yamazaki K, Effendi K, Tsujikawa H, Tanabe M, Kitagawa Y, <u>Sakamoto M</u> .	Presence of primary cilia in cancer cells correlates with prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma.	<i>Hum Pathol</i>	45(4)	817-825	2014

研究成果の刊行に関する一覧表

Yamazaki K, Masugi Y, Effendi K, Tsujikawa H, Hiraoka N, Kitago M, Shinoda M, Itano O, Tanabe M, Kitagawa Y, Sakamoto M.	Upregulated SMAD3 promotes epithelial–mesenchymal transition and predicts poor prognosis in pancreatic ductal adenocarcinoma.	<i>Lab Invest</i>	in press		2014
Yoon JH, Jung SM, Park S H, <u>Kato M</u> , Yamashita T, Lee IK, Sudo K, Nakae S, Han JS, Kim OH, Oh BC, Sumida T, Kuroda M, Ju JH, Jung KC, Park SH, Kim DK, Mamura M.	Activin receptor-like kinase5 inhibition suppresses mouse melanoma by ubiquitin degradation of Smad4, thereby derepressing Eomesodermin in cytotoxic T lymphocytes.	<i>EMBO Mol. Med.</i>	5	1720-1739	2013
Okita Y, Kamoshida A, Suzuki H, Itoh K, Motohashi H, Igarashi K, Yamamoto M, Ogami T, Koinuma D, <u>Kato M</u> .	Transforming Growth Factor- β induces transcription factors MafK and Bach1 to suppress expression of the heme oxygenase-1 gene.	<i>J. Biol. Chem.</i>	288	20658-20667	2013
Vo Nguyen TT, Watanabe Y, Shiba A, Noguchi M, Itoh S, <u>Kato M</u> .	TMEPAI/PMEPAI enhances tumorigenic activities in lung cancer cells.	<i>Cancer Sci.</i>	105	334-341	2014
Nakano N, Maeyama K, Sakata N, Itoh F, Akatsu R, Nakata M, Katsu Y, Ikeno S, Togawa Y, Vo Nguyen TT, Watanabe Y, <u>Kato M</u> , Itoh S.	C18 ORF1: A Novel Negative Regulator of TGF- β Signaling.	<i>J. Biol. Chem.</i>	in press		
Zhu Y, Li Y, Haraguchi S, Yu M, Ohira M, Ozaki T, Nakagawa A, Ushijima T, Isogai E, Koseki H, Nakamura Y, Kong C, Mehlen P, <u>Arakawa H</u> , Nakagawara A.	Dependence Receptor UNC5D mediates nerve growth factor depletion-induced neuroblastoma regression.	<i>J Clin Invest</i>	123	2935-2947	2013
Ohata H, Miyazaki M, Otomo R, Matsushima-Hibiya Y, Otsubo C, Nagase T, <u>Arakawa H</u> , Yokota J, Nakagama H, Taya Y, Enari M.	NuMA is required for the selective induction of p53-target genes.	<i>Mol Cell Biol</i>	33	2447-2457	2013

研究成果の刊行に関する一覧表

Ino Y. Yamazaki-Itoh R. Shimada K. Iwasaki M. Kosuge T. Kanai Y. <u>Hiraoka N.</u>	Immune cell infiltration as an indicator of the immune microenvironment of pancreatic cancer.	<i>Br J Cancer</i>	108	814-823	2013
Ino Y. Yamazaki-Itoh R. Oguro S. Shimada K. Kosuge T. Zavada J. Kanai Y. <u>Hiraoka N.</u>	Arginase II expressed in cancer-associated fibroblasts indicates tissue hypoxia and predicts poor outcome in patients with pancreatic cancer.	<i>PLoS One.</i>	8	e55146	2013
Oguro S. Shimada K. Ino Y. Esaki M. Nara S. Kishi Y. Kosuge T. Kanai. Y. <u>Hiraoka N.</u>	Pancreatic intraglandular metastasis predicts poorer outcome in postoperative patients with pancreatic ductal carcinoma.	<i>Am J Surg Pathol.</i>	37	1030-1038	2013
Hori M, Takahashi M, <u>Hiraoka N</u> , Yamaji T, Mutoh M, Ishigamori R, Furuta K, Okusaka T, Shimada K, Kosuge T, Kanai Y, Nakagama H.	Association of pancreatic fatty infiltration with pancreatic ductal adenocarcinoma.	<i>Clin Transl Gastroenterology.</i>	5	e532012	2014
Patnode, M.L., Yu, S.Y., Cheng, C.W., Ho, M.Y., Tegesjö, L., Sakuma, K., Uchimura, K., Khoo, K.H., <u>Kannagi, R.</u> , Rosen, S.D.	KSGal6ST generates galactose-6-O-sulfate in high endothelial venules but does not contribute to L-selectin-dependent lymphocyte homing.	<i>Glycobiology</i>	23(3)	381-394	2013
Tanaka, K., Tamiya-Koizumi, K., Yamada, M., Murate, T., <u>Kannagi, R.</u> , Kyogashima, M.	Individual profiles of free ceramide species and the constituent ceramide species of sphingomyelin and neutral glycosphingolipid and their alteration according to the sequential changes of environmental oxygen content in human colorectal cancer Caco-2 cells.	<i>Glycoconj J.</i>	31(3)	209-219	2014

