

201313009B

別紙1

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 —

『がん化パスウェイネットワークが規定する
がんの分子標的の解析並びに予後予測法の確立』
(H22-3次がん—一般-012)

平成22～25年度 総合研究報告書

研究代表者 後藤 典子
平成26（2014）年 5月

目 次

I.総合研究報告

がん化パスウェイネットワークが規定するがんの分子標的の解析
並びに予後予測法の確立

_____ 1

後藤 典子

I. 総合研究報告

がん化パスウェイネットワークが規定するがんの分子標的の解析並びに予後予測法の確立
(H22- 3 次がん - 一般- 012) に関する研究

主任研究者 後藤 典子

東京大学医科学研究所 分子療法分野 がん分子標的研究グループ 客員研究員

研究要旨

がんを早期に診断し、適切な治療法を選択できるテーラーメイド医療を実現し、がんの罹患率及び死亡率を激減するには、個々の症例により異なるがんの複雑な病態を統合的に解明、理解することが重要である。本研究では、HER/ErbB 経路、p53 経路、AKT 経路に注目し、バイオマーカーや革新的分子標的を同定することを目的とする。また、gefitinib など分子標的薬に対する耐性機構の解明も行う。手法としては、申請者らがこれまでに確立した独創的な手法を効果的に組み合わせる。同時に、肺がん臨床検体を用いたプロテオミクス解析を行い、バイオマーカーや革新的分子標的を同定する。さらに、乳がん幹細胞について、HER/ErbB 経路の解析も行う。最終的には、診断薬や創薬への実用化を目指す。シグナル伝達のシステムの解析に立脚した独創的なアプローチにより、いくつかの新規分子標的、予後予測シグネチャー、バイオマーカー候補などが得られた。この成果は、国内国際学会での発表、招待講演、論文発表として世界へ発信されている。さらに、知的財産の獲得、実用化へと着実な筋道がつけられている。本研究をさらに加速、推進させることにより、21世紀の医療として注目されているがんの個別化医療へ着実に進めるものと考えられる。MTHFD2 は、分子標的と考えられるので、実際に製薬会社による低分子化合物のスクリーニングを行っている。早期肺癌の術後再発リスクを診断する qRT-PCR 診断薬を目指して、絞り込んだ結果、CXCL1、CXCL1+ID1 もしくは CXCL1+SMOX の3通りの予後予測アルゴリズムを得た。他の予後因子である年齢、性別、ステージ分類とも独立して、精度高く予後予測できるアルゴリズムとして、7 遺伝子から構成されるシグネチャーが得られた。早期肺癌の予後予測シグネチャーは、パラフィン標本を用いて、実際に臨床で使えるよう、多くの検体を用いた解析が必要である。TSPAN2 はがん幹細胞マーカーとして知られる CD44 と結合し、そして CD44 と協調的に細胞内活性酸素種 (ROS) を抑制することを突き止めた。TSPAN2 と CD44 との相互作用を阻害する中和抗体や低分子化合物等が抗がん剤あるいは抗浸潤転移薬になるのではないかと期待できる。gefitinib 耐性の症例の中には、beta-catenin の活性化が、耐性獲得の分子機構になっていることが示唆された。他の抗がん剤に対する耐性獲得にも、普遍的な分子機序である可能性がある。今後は、がんの臨床での実用化をめざして、他のシーズについても、積極的に競争的資金を獲得しつつ、開発を進めていく予定である。

分担研究者氏名・所属機関および所属機関における職名

野村 将春 東京医科大学 第一外科学講座 講師 (平成22、23、24年度)

江成 政人 国立がん研究センター研究所 ユニット長

野口 昌幸 北海道大学遺伝子病制御研究所 教授

加藤 靖文 東京医科大学病院 呼吸器・甲状腺外科 講師 (平成25年度)

A. 研究目的

がんを早期に診断し、適切な治療法を選択できるテーラーメイド医療を実現し、がんの罹患率及び死亡率を激減するには、個々の症例により異なるがんの複雑な病態を統合的に解明、理解することが重要である。分子生物学の限界が指摘される中、申請者はがんのシステム生物学を3年前に提唱し、独創的な解析手法を試みたところ、従来法では発見されずにおかれたバイオマーカーや分子標的の発見に有用であった(PCT 出願 JP2009/70386, 特願 2009-023933, 特願 2008-3114-81, British J. Cancer, in press)。がん細胞の増殖、浸潤、転移という病態の進行は、主だったがん遺伝子やがん抑制遺伝子を中心とするいくつかのがん化パスウェイを構成する基本成分の相互作用(ネットワーク)の動態変化として、統合的に理解されうる。申請者は、この基本成分を高精度に抽出できる手法を開発してきた。本研究では、これを応用発展することにより、がんの複雑性の全貌を統合的に解明し、これを基盤として、バイオマーカーや革新的分子標的を同定することを目的とする。そして、診断薬や創薬への実用化を目指す。

まず、肺がんでは、すでに完了したHERパスウェイの解析に加え、K-Ras, p53, PI-3K-Akt パスウェイを解析する。また、乳がん幹細胞については、申請者が見いだしたNFkBパスウェイを解析する。そして、臨床検体の網羅的遺伝子、miRNAまたは蛋白質発現プロファイリングから、個々の症例のがん化パスウェイネットワークを導きだし、予後予測、(超)早期診断マーカー、症例の特性にあった分子標的候補を抽出する。さらに、がん細胞株の抗がん剤感受性情報付き網羅的遺伝子発現プロファイリングも用いて、抗がん剤の効果予測マーカー、新規分子標的候補を抽出する。次に候補分子の分子生物学的機能解析並びに、臨床検体を用いた評価を行い、診断薬開発並びに創薬へ進める。次年度からは、HER2陽性乳がん並びに腎細胞がんについても解析を開始する。

がんのシステム生物学は、ここ数年国際的に注目され、アメリカがん学会総会(AACR)

でも2009、2010年ともにシンポジウムが組まれている。しかし、まだ臨床応用へ至る主だった成果はない。一方国内では、本研究のようにトランスレーショナルリサーチを積極的に目指す研究は他には行われていない。申請者は、従来法で得られなかった高精度の早期肺がん予後予測遺伝子セットを得、実用化開発を進めるなど、世界のトップとなる独創的研究を展開している。本研究を推進することにより、更なるブレイクスルーが

期待できる。

B 研究方法 (年度ごとに記載)

平成22年度

1.肺がんのがん化パスウェイの解析

ヒト肺上皮細胞やこれを不死化した細胞に、活性型K-RasあるいはMyr-AKTを発現させる。p53-ERを発現させることにより、タモキシフェン依存性にp53の活性を制御できる系を構築する。時系列mRNA及びmiRNAのマイクロアレイ解析を行い、状態空間モデル、Gene set enrichment analysis (GSEA), MetaGP解析などのバイオインフォマティクス解析、シミュレーションに供する。LC-MS/MSを用いたプロテオミクス解析を組み合わせ、それぞれのがん化パスウェイ基本成分を抽出する。

2.肺がんの個々の病態を規定するがん化パスウェイネットワークの解析

網羅的遺伝子発現プロファイリング情報は、NCIプロジェクト(Nat.Med., vol. 14, p822, 2008)などを用いる。国立がんセンター約230例の肺腺がん遺伝子発現プロファイリング情報を作成するために、p53不活性化情報の検索、ゲノム変異の探索を行う。ホルマリン標本を用いたプロテオミクス解析を行う。数理モデルも使い、予後予測、早期診断マーカー、新規分子標的候補の抽出を行う。

3. 肺がんの抗がん剤感受性を規定するがん化パスウェイネットワークの解析

まずは、イレッサ抵抗性を決めるがん化パスウェイネットワークの解析を行う。イレッサ感受性EGFR変異をもつ肺腺がん由来PC9細胞と、これにイレッサを低濃度暴露により後藤が樹立したPC9亜株A2細胞を用い、網羅的mRNA解析並びにプロテオミクス解析を行う。

4. 乳がん幹細胞のがん化パスウェイネットワークの解析

NFkBパスウェイの解析を行う。申請者がすでに立ち上げた乳がん幹細胞スフェア培養の系に、活性型NFkBを発現させ、時系列マイクロアレイ解析を行う。バイオインフォマティクス解析、シミュレーションに供す。網羅的遺伝子発現プロファイリング情報を組み合わせ、がんの超早期診断、再発診断マーカー、革新的分子標的候補を得る。

5. 肺がんのホルマリン固定切片標本からのプロテオミクス解析

肺腺がんにおける縦隔リンパ節転移例と、転移していない症例の比較から転移関連バイオマーカー候補の抽出を行う。予後の悪いsubtypeの蛋白質の解析を行い、肺がんsubtypeの新規分類法の構築を目指す。

6. 新規バイオマーカー、分子標的候補の機能解析と臨床検体を用いた評価

候補分子について、分子生物学的に詳細な解析を行う。よい抗体がなければ、抗体を作製する。手術検体並びに血清は、国立癌センターと東京大学病院より入手する。

平成23年度

1. 肺がんのがん化パスウェイの解析

22年度に、ヒト不死化肺上皮細胞に、p53-ERを用いてマイクロアレイ解析、バイオインフォマティクス解析に供する。

PTENの野生型肺がん細胞に、野口が見いだしたAKT活性化補助因子TCL1を発現させ、肺がん細胞におけるTCL1-AKTの活性化により誘導される遺伝子群と、恒常活性型AKT (myr-AKT) の過剰発現による誘導される遺伝子群を、マイクロアレイ法により網羅的に同定し、PTEN-AKTがん化パスウェイを解析する。

2. 肺がんの個々の病態を規定するがん化パスウェイネットワークの解析

これまでに解析した230症例も含めて、次世代シーケンサーを用いた、exome sequencingを開始した。予後予測精度の更なる向上、早期診断マーカー、新規分子標的候補のさらなる抽出を行う。

3. 肺がんの抗がん剤感受性を規定するがん化パスウェイネットワークの解析

PC9細胞並びにイレッサ耐性PC9A2細胞の解析を継続する。エキソームシーケンス、全ゲノムシーケンスにて、イレッサ耐性ととも、変異の生じた遺伝子を網羅的に解析する。

4. 乳がん幹細胞のがん化パスウェイネットワークの解析

22年度に、乳がん細胞株を、Heregulin刺激によるNFkBを活性化させる系を用いて、mRNAの時系列マイクロアレイ解析を行った。miRNAの解析も取り入れて、バイオインフォマティクス解析に供する。がんの超早期診断、再発診断マーカー、革新的分子標的候補を得る。

5. 肺がんのホルマリン固定切片標本からのプロテオミクス解析

ホルマリン標本を用いたプロテ

オミクス解析から得られた蛋白質発現情報を元に組織切片を用いた評価を行い、予後因子などを含めた臨床情報との関連を調べる。

6. 新規バイオマーカー、分子標的候補の機能解析と臨床検体を用いた評価

新規分子標的候補分子について、分子生物学的に詳細な解析をさらに行う。

よい抗体がなければ、抗体を作製する。手術検体並びに血清は、国立癌センターと東京大学病院より入手する。

7. HER2陽性乳がんのがん化パスウェイネットワークの解析

HER2を乳腺特異的に発現するトランスジェニックマウス(MMTV-HER2)と、後藤が作製したFRS2betaノックアウトマウスを掛け合わせしたマウス(MMTV-HER2/FRS2beta^{-/-})に発症したがんは、MMTV-HER2マウスの乳がんと比較し、進行が遅く、マウスは延命する。FRS2betaが、がん幹細胞の維持に重要な役割を果たしているためであることを示唆する結果を得ている。独創的な手法にて、個体レベルでがん化パスウェイ解析を行う。

平成24年度

肺がん及び乳がんのがん化パスウェイの解析を行う。得られた新規バイオマーカーや分子標的候補の評価を行う。最終的にはがんの診断薬、分子標的創薬を目指す。

1. 肺がんのがん化パスウェイの解析

22年度に、ヒト不死化肺上皮細胞に、活性型K-Ras並びにp53-ERを発現する系ができた。時系列マイクロアレイ解析を行い、バイオインフォマティクス解析に供する。

2. 肺がん臨床検体、細胞株のオミクス解析

予後予測精度の更なる向上、早期診断マーカー、新規分子標的候補のさらなる抽出を行う。プロテオミクス解析は、ホルマリン標本から得られた蛋白質発現情報を元に組織切片を用いた評価を行い、予後因子などを含めた臨床情報との関連を調べる。様々な肺癌細胞株を用いた薬剤感受性や抵抗性に関する解析も行う。

3. 肺がんの抗がん剤耐性がん化パスウェイの解析

PC9細胞並びにイレッサ耐性PC9A2細胞の解析を継続する。詳細時系列トランスクリプトーム、プロテオーム、エキソームシーケンス、全ゲノムシーケンスデータがすべてそろったので、これを

用いて抗がん剤耐性の分子機構を見だし、耐性マーカー、新規分子標的を同定する。

4. 乳がん幹細胞のがん化パスウェイの解析

22、23年度に、乳がん細胞株を Heregulin 刺激して、PI3 kinase 並びに NFkB を活性化させ、詳細時系列 mRNA 並びに ncRNA のマイクロアレイデータ取得し、解析した。その結果、新規バイオマーカー、分子標的候補群を得た。このがん化パスウェイの解析を進め、がんの超早期診断、再発診断マーカー、革新的分子標的候補を得る。

5. 新規バイオマーカー、分子標的候補の機能解析と臨床検体を用いた評価

候補分子について、分子生物学的に詳細な解析を行い、臨床検体を用いた評価を行う。手術検体並びに血清は、国立癌センターと東京大学病院より入手する。

23年度に同定した、p53 不活化に伴い誘導される2つの4回膜貫通型蛋白質が、がん細胞の運動能、浸潤能や転移能を亢進しているのか分子機構を詳細に調べる。がん幹細胞のマーカーである CD44、膜結合型メタロプロテアーゼ MT1-MMP 等と結合することが分かっている。そこで、これら結合分子に対する siRNA やパスウェイ特異的な阻害剤等を用いて調べる。4回膜貫通型蛋白質に対する特異的抗体を作製し、肺がん等の組織を用いて、免疫組織染色を行い、p53 変異とこれら膜蛋白質発現との相関性について調べる。

TCL1 ファミリー分子のヒト各種悪性腫瘍における病態への関与は不明である。構造と機能の解析に基づいて、生化学的にさらに詳細な TCL1B による AKT 活性化の分子機構を明らかにする。TCL1B を全身に過剰発現させたマウスを作製し、in vivo 発がん性を検証する。TCL1 ファミリー/TCL1、TCL1B、MTC1P1 の3種類のアイソフォーム特異的な抗体を作成し、ヒト各種悪性腫瘍パネルを用い、蛋白質発現レベルと AKT の活性化の相関性、さらにはその発がんの背景因子としての可能性を検証する。

6. HER2 陽性乳がんのがん化パスウェイの解析

23年度、マウス乳がんより、スフェア培養を行う系を立ち上げ、FRS2beta ががん幹細胞の維持に重要な役割を果たすことが確認できたので、解析を進める。

平成25年度

1. 肺がん

HER がん化パスウェイ新規分子標的候補 MTHFD2、SMOX、VCP などを評価中。早期肺癌

の術後再発リスクを診断する qRT-PCR 診断薬を目指して、Hazard Ratio をもとに、どの遺伝子発現プロファイルでも予後に相関する23遺伝子に絞り込んだ。

p53 不活化に伴い、定常状態で発現変動のある遺伝子を解析。4回膜貫通型蛋白質 TSPAN2 が p53 不活化によって誘導され、肺がん細胞の運動能、浸潤能や転移能に関与していた。予後解析より、TSPAN2 が肺がんとの予後相関が得られた。その分子機構を調べたところ、CD44 から伝達される活性酸素除去経路に TSPAN2 が関与していることがわかった。がん幹細胞様の形質が TSPAN2 をノックダウンすると著しく減弱した。また、国立がん研究センター肺線がん症例のエクソームシーケンスより、幾つかの治療標的候補となる融合遺伝子を同定した。

AKT活性化補助因子の一つであるTCL1Bの過剰発現はin vivoで血管肉腫を引き起こすことを明らかにし、現在発がん制御の分子機構の詳細と治療法開発に向けた研究を遂行中である。AKTに結合する新規ライソゾーム結合因子によるオートファジー制御機構に関して新しい知見を得、その生化学的、生物学的な詳細に関して研究を進めている。

肺癌で EGFR-TKI の治療例の手術検体標本 98例から作製された Tissue Microarray 検体を用い、EGFR-TKI の効果を規定する EGFR 遺伝子変異などを免疫組織学的に検索する。

2. 乳がん

新鮮臨床検体をNOD-SCIDマウスに移植する系を立ち上げ、がん幹細胞性に着眼した、新規分子標的候補の評価系が構築できた。Amphiregulin, IGF-II, ARTN, GDF-15などの候補分子の評価を進めている。

C. 研究結果 (年度ごとに記載)

平成22年度

1. 肺がんのがん化パスウェイの解析

活性化型K-Ras(G12V)を、Doxycyclin (Dox)-onシステムレンチウイルスベクターに組み込み、これをレンチウイルスとして発現させ、トランス制御因子を発現するレンチウイルスとともに、SAEC-I細胞に感染させ、Dox制御下に活性化型K-Rasを発現させる系を構築した。

2. 肺がんの個々の病態を規定するがん化パスウェイネットワークの解析

国立がんセンター226例の肺腺がん遺伝子発現プロファイリング情報を作製、EGFR, K-RAS, AKT 変異情報、p53不活性化情報を含め完成した。

HERがん化パスウェイ139遺伝子群よりなる肺がん予後予測遺伝子セットは、早期がんIa, Ibに分けても精度高く再発予後を予測できることがわかった (PCT出願済み)。

また、EGFR変異情報を元に、ステージIの患者群の5年生存並びに再発のカプランマイヤー曲線についてログランク検定を行ったところ、EGFR変異ありの群において予後が良かった。しかし、EGFR変異による予後予測精度は、139遺伝子群と比較し劣っていた。Positive predictive value (PPV)も、同様の結果を得た。

さらに、139遺伝子は、ステージIのEGFR変異ありの症例、もしくはEGFR変異なしの症例のどちらにおいても、5年生存及び再発について、予後予測が可能であった。139遺伝子がコードする分子のシグナル伝達における役割について、Ingenuity pathway analysis (IPA)ソフトウェアを使って解析したところ、含まれる多くの分子は、様々なシグナル伝達系とクロストークを行う中継点にあることがわかった。そして、クロストークが示されたシグナル伝達系の多くが、癌において重要な役割をもっていることが知られているものであった。このことから、139遺伝子は、様々な癌化シグナルがクロストークする中継点に存在することが示唆された。以上より、EGFシグナルは、これまで考えられていた以上に様々な癌化シグナルとクロストークすることにより、癌に関わる様々なシグナル伝達系に影響を与えることが示された。「EGFシグナル鍵分子」＝「癌化パスウェイ鍵分子」である、生物学的意味が見いだされた。

3. 肺がんの抗がん剤感受性を規定するがん化パスウェイネットワークの解析

PC9細胞と、PC9亜株A2細胞を用いた、LTQ Orbitrap XLを用いた高精度LC-MS/MS解析により、両細胞を比較し発現量が数倍以上異なる蛋白質を数十同定した。さらに、両細胞をEGF並びにイレッサ存在下で行った網羅的時系列mRNA解析を、DNAマイクロアレイを用いて行った。様々な数理モデルを用いた解析より、イレッサ耐性の分子基盤となりうるいくつかのシグナル伝達系を同定した。

4. 乳がん幹細胞のがん化パスウェイネットワークの解析

FRS2betaが、ErbB2シグナルを抑制することを見いだした。

HeregulinでErbB3/ErbB2を刺激すると、NFkBが活性化し、この経路が乳がん幹細胞の自己複製に関与することがわかった。この系を用いて、

Heregulin刺激によるmRNAの時系列マイクロアレイ解析を行った。

5. 新規バイオマーカー、分子標的候補の機能解析と臨床検体を用いた評価

がん予後予測139遺伝子セットに加えて、国立がんセンター肺腺がん遺伝子発現プロファイリング情報をもとに、肺腺がんの血清バイオマーカー候補を複数同定し、患者血清を用いた評価を行っている。ELISAキットを用いた評価を行い、複数の候補分子を探し当てた。さらに、ELISAキットの存在しない分子については、モノクローナル抗体の作製を開始した。

肺がん予後予測139遺伝子中、一遺伝子でもカプランマイヤー曲線にて5年再発率並びに生存率に有意に差のある遺伝子から、分子標的候補をいくつか選んで、細胞内の発現レベル、EGFシグナルとの関わりについて解析を開始した。

平成23年度

1. 肺がんのがん化パスウェイネットワークの解析と新規バイオマーカー、分子標的候補の機能解析と臨床検体を用いた評価

HERがん化パスウェイに含まれる分子のうち、一分子の発現で、肺腺癌の5年生存あるいは再発率において、予後の悪いハイリスク群を予測できる分子として、72分子得られた。そのうち、ハイリスク群の患者に発現の高い分子40分子について、新規分子標的候補としての評価を行った。肺がんのみならず、他の癌においても、未知の候補分子が約半数含まれていた。主にこれらに注目し、創薬ターゲットとしての可能性を詳細に検討し、POC(proof of concept)獲得へ向けた解析を行っている。酵素活性や、膜分子かどうか、様々ながんの遺伝子発現プロファイリング情報を組み合わせ解析し、Druggableかどうか検討し、優先順位づけを行い評価を進めた。

本年度は特に、評価を進めるための様々な実験系の確立を行った。具体的には、各種肺がん細胞株を用いて、血清並びにEGF存在下での細胞増殖、軟寒天中コロニー形成能、細胞運動、ケモタキシスなどを計測する系の確立を行った。さらに、肺がんのがん幹細胞を調べるための系の確立も行った。各種肺がん細胞株を持ちいて、スフェア培養の系を立ち上げた。

HERがん化パスウェイに含まれる分子から、血清早期がんマーカー候補分子を選別した。早期肺がん患者40名の血漿と、健常人10名の血漿を用いて、候補分子の濃度をELISAによって測定した。その結果、FGL-1の濃度が、早期肺がん血漿中において有意に高かった。

2. 肺がんの抗がん剤感受性を規定するがん化パスウェイネットワークの解析

イレッサ感受性 PC9 細胞と、耐性亜株 A2 細胞の全ゲノムシーケンス、エクソームシーケンスを行い、オミクス解析結果全てが出揃った。イレッサ耐性がん化パスウェイ抽出を行った結果、いくつかのパスウェイが、特に A2 細胞で活性上昇している可能性が示された。この中で、Wnt パスウェイに注目して解析を行ったところ、その下流で beta-catenin が核へ移行していることが明らかになった。beta-catenin を siRNA を用いてノックダウンすると、イレッサ感受性が回復した。以上より、イレッサ耐性の分子機構のひとつは、Wnt-beta-catenin パスウェイの活性上昇によることが明らかになった。

さらに、エクソームシーケンスの結果、Kit 受容体チロシンキナーゼの細胞外ドメインに点変異が検出された。耐性 A2 細胞の細胞内では、AKT の活性が有意に上昇していることも示された。

3. 乳がん幹細胞のがん化パスウェイネットワークの解析と新規バイオマーカー、分子標的候補の機能解析と臨床検体を用いた評価

HER-PI3 kinase-NFkB ががん化パスウェイが、乳がん幹細胞の自己複製能維持に重要であることを新鮮臨床検体を用いて証明した。HER-PI3 kinase ががん化パスウェイ並びに HER-NFkB ががん化パスウェイの詳細時系列トランスクリプトーム解析を行った。

平成 24 年度

1-1. 肺がんの HER がん化パスウェイの解析

HER がん化パスウェイに含まれる 139 分子のうち、一分子の発現で、肺腺癌の 5 年生存あるいは再発率において、予後の悪いハイリスク群を予測できる分子は、72 分子得られている。そのうち、ハイリスク群の患者に発現の高い分子 36 分子について、低分子化合物による創薬候補という点から、より絞り込みをかけ、新規分子標的候補としての評価を行っている。現在、MTHFD2、SMOX、VCP などの評価を進めている。

MTHGF2 は、葉酸- グリシン代謝経路にある酵素のひとつである。葉酸- グリシン代謝経路の阻害剤としては、methotrexate (MTX) が、関節リウマチや一部の悪性腫瘍に用いられている他、臨床で使用できる抗がん剤としてあまり開発されていない。ごく最近がん細胞がグリシン依存性であると報告されたため、この代謝経路とがんの病態との関わりが急速に注目されている。MTHFD2 は、いくつかの肺がん細胞株において発現が認められ、

siRNA を用いてノックダウンを行うと、グリシンをのぞいた培地で培養した際に、細胞増殖が抑制された。また、軟寒天培地中の足場非依存性増殖や、がん幹細胞様細胞のスフェア形成能力も減弱した。MTHFD2 は、EGF によって発現誘導され、HER チロシンキナーゼ阻害剤 gefitinib によってその発現が減弱する。以上より、肺がん細胞やがん幹細胞様細胞において、HER チロシンキナーゼによって MTHFD2 が発現誘導され、細胞増殖や、がん幹細胞性が維持される可能性が示された。

早期肺癌の術後再発リスクを診断する qRT-PCR 診断薬を目指して、Hazard Ratio をもとに、どの遺伝子発現プロファイルでも予後に相関する 46 遺伝子に絞り込んだ。現在、ミシガン大学へ研究員を派遣して、更なる遺伝子絞り込みを行っている。

1-2. 肺がんの p53 がん化パスウェイの解析：p53 不活化に伴って誘導される経路の探索

前年度、ヒト肺上皮由来細胞 (SAEC) を用いて、p53 不活化に伴って誘導される 4 回細胞膜貫通型蛋白質をコードする遺伝子 *TSPAN2* を同定した。*TSPAN2* 遺伝子の発現を抑制すると、細胞増殖や足場非依存的増殖に影響を与えなかったが、肺がん細胞の運動能や浸潤能そして転移能を著しく低下させた。その詳細なメカニズムについて様々なシグナル伝達経路の解析をしたところ、*TSPAN2* の発現抑制に伴い、p38MAP キナーゼの活性化や細胞内活性酸素 (ROS) の増加が惹起されることがわかった。その ROS 産生にはがん幹細胞のマーカーである CD44 が関与しており、*TSPAN2* は CD44 との相互作用を介して抗酸化経路を活性化していることが示唆された。更に、細胞内酸化還元状態が、浸潤能に影響を与えるか調べたところ、抗酸化剤が、浸潤能を亢進させること、酸化誘導剤が浸潤能を著しく低下させることがわかった。

1-3. 肺癌のプロテオーム解析

特に予後不良な神経内分泌癌の中で化学療法感受性の高い小細胞癌と感受性の低い大細胞神経内分泌癌の比較解析を行い、特異的な蛋白質を同定した。

肺がん臨床検体を用いたプロテオミクス解析より得られた、補助療 (uracil-tegafur) の耐性に関与する vimentin 分子を発現するがん細胞は、gefitinib 耐性パスウェイが活性化していた。つまり、vimentin パスウェイは、gefitinib 耐性パスウェイを活性化する可能性が示された。

1-4. 肺がんの抗がん剤感受性を規定するがん化

パスウェイネットワークの解析

Gefitinib 耐性 M2 細胞内では、その親株で gefitinib 感受性の PC9 細胞に比較して、GSK3alpha のリン酸化が亢進、さらには beta-catenin の核内移行が見られた。このことより、実際に wnt パスウェイの活性化が M2 細胞内で起こっていることが示された。そこで、siRNA を用いて、beta-catenin をノックダウンすると、M2 細胞の gefitinib 感受性が回復した。M2 細胞内のほうが PC9 細胞内よりそのリン酸化が上昇していた。このことは、gefitinib 耐性細胞内で、Akt の活性化が起こることにより、wnt パスウェイの活性化が起こり、それとともに、gefitinib 耐性になることが示唆された。

2. AKT がん化パスウェイの解析：プロトオンコジーン T C L 1 b の発がん性とヒト悪性腫瘍における生物効果の検証

Proto-oncogene T C L 1 b は、Akt に直接結合し、その活性を増強する「Akt 活性化補助因子」である。In vivo での生物機能について検討するため、transgenic mice を作製したところ、2 ラインの T C L 1 b-transgenic mice で angiosarcoma を呈した。この免疫組織染色では、リン酸化 AKT 陽性像を呈した。8 例中 8 例のヒト angiosarcoma において T C L 1 b、リン酸化 AKT 陽性像を呈することを確認した。さらに、各種ヒト悪性腫瘍パネルを用いて T C L 1 b、リン酸化 AKT の解析を行ったところ 146 例中 69 例で T C L 1 b 陽性、うち 46 例 (67%) でリン酸化 AKT 陽性だった。また、Akt-T C L 1 b 複合体の構造解析に基づいて開発した AKT 活性化ペプチド阻害剤「T C L 1 b-Akt-in」を用いて Akt リン酸化に対する抑制効果を検証したところ、従来の「T C L 1 b-Akt-in」に勝る Akt 活性抑制効果が認められた。

3. 乳がん幹細胞におけるがん化パスウェイの解析

HER-PI3 kinase-NFkB がん化パスウェイが、乳がん幹細胞の自己複製能維持に重要であることを新鮮臨床検体を用いて証明した。HER-PI3 kinase がん化パスウェイ並びに HER-NFkB がん化パスウェイの詳細時系列トランスクリプトーム解析を行い、がん幹細胞シグネチャー、新規分子標的候補、がん早期、再発診断マーカー候補分子の抽出を行い、その評価を進めている。Amphiregulin, IGFII, SDF などが新規分子標的候補として得られた。

平成 25 年度

1-1. 肺がんの HER がん化パスウェイの解析

・新規分子標的

HER がん化パスウェイに含まれる 139 分子から、低分子化合物による創薬候補という点から、より絞り込みをかけ、druggable と予想された MTHFD2 について新規分子標的候補としての評価を行った。MTHFD2 は、葉酸代謝経路の中で、核酸合成に必要な炭素分子をセリンから取り出し、グリシンに変換する 1 炭素代謝経路を触媒する。MTHFD2 は、ミトコンドリア内にあり、正常の肺細胞ではほとんど発現していない。一方、調べた限りすべての肺がん細胞株において発現が認められた。同様の触媒活性をもつ MTHFD1 が細胞質内にあるため、正常細胞は細胞質の活性で十分間に合っていると考えられる。MTHFD2 の発現を、siRNA を用いてノックダウンを行うと、細胞増殖が抑制され、軟寒天培地中の足場非依存性増殖や、がん幹細胞様細胞のスフェア形成能力も減弱した。MTHFD2 のノックダウンによる細胞増殖抑制効果は、MTHFD2 の発現の高い細胞において、より強くみとめられた。加えて、下記に述べる gefitinib 耐性 M2 細胞も、MTHFD2 のノックダウンにより、細胞増殖が抑制した。さらに、shRNA を用いてノックダウンを行った癌細胞を免疫不全マウスに移植すると、in vivo の腫瘍の形成が抑制された。MTHFD2 は、EGF によって発現誘導され、HER チロシンキナーゼ阻害剤 gefitinib ならびに MEK 阻害剤によって発現が減弱した。以上より、がん化とともに HER などのチロシンキナーゼの活性が上昇すると、MEK-ERK パスウェイの活性化を介して MTHFD2 が発現誘導され、腫瘍の増殖や、がん幹細胞性が維持されることが示唆された。MTHFD2 は、分子標的と考えられる。

・予後予測シグネチャー

早期肺癌の術後再発リスクを診断する qRT-PCR 診断薬を目指して、Hazard Ratio をもとに、どの遺伝子発現プロファイルでも予後に関連する 46 遺伝子に絞り込んだ。ミシガン大学で収集した凍結標本から抽出した RNA を用いて、トレーニングセット 99 例、バリデーションセット 101 例を用いて、遺伝子の絞り込みを行った。まず、できる限り少ない遺伝子に絞り込んだ結果、CXCL1、CXCL1+ID1 もしくは CXCL1+SMOX の 3 通りの予後予測アルゴリズムを得た。これらは、それぞれ Kaplan-Meier 曲線において、バリデーションセットのハイリスク群を精度高く予測できることがわかった。次に、Kaplan-Meier 曲線のみならず多変量解析においても、他の予後因子である年齢、性別、ステージ分類とも独立して、精度高く予後予測できるアルゴリズムとして、7

遺伝子から構成されるシグネチャーが得られた。

1-2. 肺がんの p53 がん化パスウェイの解析： p53 不活化に伴って誘導される経路の探索

ヒト肺がん発生過程を模倣する *in vitro* 再構成系を樹立し、p53 不活化に伴って誘導される 4 回細胞膜貫通型蛋白質 TSPAN2 をコードする遺伝子を同定した。TSPAN2 遺伝子の発現抑制が、肺がん細胞の運動能や浸潤能そして転移能を著しく低下させること、TSPAN2 はがん幹細胞マーカーとして知られる CD44 と結合し、そして CD44 と協調的に細胞内活性酸素種 (ROS) を抑制することを突き止めた。TSPAN2 の欠失変異体を用いた解析より、CD44 との結合には TSPAN2 の細胞内 C 末端領域にある 9 アミノ酸残基が重要であり、その領域が肺がん細胞の運動能や浸潤能亢進、そして ROS 産生能の低下に関与していることもわかった (論文リバイス中)。また、FACS を用いた Side-Population (SP) 解析より、TSPAN2 は肺がん幹細胞の形質維持にも関与している可能性が示唆された。以上の結果から、肺がん進展の過程で p53 の不活化が起こり、TSPAN2 遺伝子の発現が誘導され、CD44 と協調的に ROS 産生を低減させることで、肺がんを亢進させると考えられた。

1-3. 肺がんの抗がん剤感受性を規定するがん化パスウェイネットワークの解析

Gefitinib 感受性 PC9 細胞より、我々が樹立した gefitinib 耐性亜株 PC9M2 細胞の特性を解析し、AKT-beta-catenin パスウェイの活性化により、耐性が引き起こされることがわかった。Beta-catenin に対する siRNA もしくは beta-catenin の阻害剤を用いると、gefitinib に対する感受性が回復した。親株の PC9 細胞と PC9M2 細胞を、免疫不全マウスの皮下に移植して形成された腫瘍を beta-catenin 抗体を用いて免疫染色を行った。Beta-catenin は、AKT の活性化により、細胞膜から細胞質、そして核へ移行することが知られている。PC9M2 細胞由来の腫瘍は、PC9 細胞由来の腫瘍に比較し、beta-catenin の細胞質ならびに核への局在が強かった。さらに、32 例の gefitinib 使用したヒト肺がん臨床検体の治療前検体を解析した。その結果、gefitinib 奏効例に比較し、gefitinib 耐性例のほうで、有意に beta-catenin の細胞膜の局在が弱く、細胞質へ移行する傾向がみられた。以上より、gefitinib 耐性の症例の中には、beta-catenin の活性化が、耐性獲得の分子機構になっていることが示唆された。

1-4. 肺がんの抗がん剤感受性を規定するがん化パスウェイネットワークの解析：肺がん組織検体を用いた解析

肺がんで EGFR-TKI の治療例の手術検体標本 98 例から作製された Tissue Microarray 検体を用い、EGFR-TKI の効果を規定する EGFR 遺伝子変異の hot spot である exon19 の欠損 (E746-A759del.) と exon 21 (L858R) の点変異を免疫組織学的染色：exon 19 (E746-A750del.) と exon 21 (L858R) を施行し、各々の腫瘍内の蛋白質の発現の分布を同定した。免疫組織学的染色で得られた過剰発現部位と欠如部位と治療抵抗予測因子としての可能性を秘めた IGF-1R を免疫組織学的染色にて検討した。

44 例の EGFR 変異 (Gefitinib が著効する Exon 19 が 28 例、exon 21 が 16 例) と 43 例の wild type であった。Gefitinib の治療効果は、抵抗例 (Progression disease; PD) 群が 19 例で治療奏功 (Disease control; DC = 5 Complete response + 16 Partial response + 47 Stable disease) 群が 68 例であり、これらの IGF-1R の蛋白質発現は PD 群と DC 群を比べると IGF1R 陽性群 (H score; 中央値 170) に対し IGF1R 陰性群は H score が 120 で統計学的に優位 ($p=0.001$) に PD 群で高値であった。ROC 曲線より、カットオフ値を H score の 165 に設定すると PD の感度 68%, 特異度 73% であった。全生存は、IGF-1R 陽性群の中央値が 13.2 か月で陰性群が 22.6 か月で優位に短かった ($p = 0.00190$)。無再発生存期間は、IGF-1R 陽性群の中間生存 3.5 か月で陰性群の 12.0 か月で優位に短かった ($p = 0.0020$)。55 人の EGFR 変異のある群を解析すると PFS は IGF-1R 陽性群 (9.5 か月) が陰性群 (17.9 か月) より優位に短かった ($p = 0.0435$)。また、cut off を 10% (H score の 40) に設定しても全生存は、38.6 か月と 15.7 か月で統計学的有意差 ($p=0.0295$) をもって、IGF1R 陰性群が長い結果であった。

2. AKT がん化パスウェイの解析 野口の項にも詳述

・プロトオンコジゲン TCL1b の発がん性とヒト悪性腫瘍における生物効果の検証

TCL1B を過剰発現する TCL1B-transgenic mice 作製したところ免疫組織染色で TCL1B、リン酸化 AKT 陽性である血管肉腫 (angiosarcoma) を呈した。比較的まれな予後の悪い疾病であるヒト angiosarcoma の 13 症例の検討により、11 例において TCL1B とリン酸化 AKT がともに陽性であった。ヒト悪性腫瘍パネルでの検討では 146 例中 69 例で TCL1B が陽性、うち 46 例 (67%) でリン酸化 AKT が陽性だった。さらに AKT-TCL1B 複合体の構造解

析に基づいて開発した新規AKT活性化ペプチド阻害剤「TCL1B-AKT-in」は、Akt活性抑制効果を示し、癌ならびに血管肉腫細胞の細胞増殖の効果的な抑制効果を確認した。

・リソゾームにおけるAKT結合因子Phafin2によるオートファジー制御の分子機構

Yeast two hybrid 法を用いてライソゾーム(lysosome)に局在する AKT に結合する新しい細胞内分子(Phafin2)を同定した。我々はこの Phafin2 がPI3K-AKT-mTOR シグナルによりオートファジーへの方向性決定の鍵を握る分子として注目した。蛍光色素を用いた共焦点顕微鏡、sucrose-gradient 法によるライソゾームの精製、分子イメージング(FRET)により Phafin2-AKT 複合体のライソゾームへの局在がオートファジーの誘導により増強されることを示した。その結果、オートファジー誘導には Phafin2 とライソゾーム膜状にある膜リン脂質 PtdIns(3)P と結合が重要であること、オートファジー誘導ならびにその機能にはAKTならびに Phafin2 の存在が必須であることを明らかにした。また、Phafin2-AKT 複合体がこれまで広く用いられてきたオートファジー阻害剤である3-MA の分子標的であることを初めて示すことができた。

3. 乳がんのがん幹細胞におけるがん化パスウェイ

HER-PI3 kinase がん化パスウェイの詳細時系列トランスクリプトーム解析を行い、がん幹細胞シグネチャー、新規分子標的候補、がん早期、再発診断マーカー候補分子の抽出を行った。Amphiregulin、IGFII、ARTN、GDNF などのリガンドならびに細胞内アダプターMICAL3 が、臨床検体のスフェア形成に重要な役割を果たすことを見いだした。

D 考察 (年度ごとに記載)

平成22年度

1. 肺がんのがん化パスウェイの解析

肺腺がんの発生源であるヒト肺上皮細胞におけるp53並びにK-Rasの役割を理解する上で、構築した実験系の構築は、非常に意義深い。この実験系と国立がん研究センターで解析が進められている肺がん患者さんからの臨床検体の発現プロファイルを用いて解析することにより、がんで重要な新たなp53パスウェイ並びにK-Rasパスウェイを同定する予定である。具体的には、時系列mRNA及びmiRNAのマイクロアレイ解析、質量分析(LC-MS/MS)を行い、状態空間モデル、Gene set enrichment analysis (GSEA)、MetaGP解析などのパ

イオインフォマティクス解析、シミュレーションに供する。その結果を基に、がん化に重要なパスウェイを統合的に解析することで、早期診断マーカーや医薬品の標的分子を同定することが期待できる。

2. 肺がんの個々の病態を規定するがん化パスウェイネットワークの解析

国立がんセンター226例の肺腺がん遺伝子発現プロファイリング情報は、国内としては最大レベル、しかもK-Ras、EGFR変異、予後、再発までの期間、補助療法の内容もすべてそろっている。予後予測遺伝子セットの実用化に向けて、至適classifierを設定するために、解析プロトコルが一定し、手術検体の質も高い癌センター標本は、貴重であり、必須である。質、量ともに、ここまでのリソースは、国内外探しても他にはない。今後、残り約70例についても、遺伝子発現プロファイリングを行う予定である。139遺伝子数より減らすことも含め、実用化へ向けた解析を加速させる予定である。

また、これまでに解析した230症例も含めて、次世代シーケンサーを用いた、exome sequencingを開始する。

研究成果1-6と組み合わせた今後の解析により、本研究の最大の目的のひとつである、予後の悪い肺がん患者個人個人によって異なると予想される重要な分子標的を見いだすことが可能になると期待される。21世紀のがん治療の目標とされている個別化医療の実現に向けて大きな一歩を踏み出すことができると期待される。

EGFシグナルは、これまで考えられていた以上に様々な癌化シグナルとクロストークすることにより、癌に関わる様々なシグナル伝達系に影響を与えることが示された。「EGFシグナル鍵分子」=「癌化パスウェイ鍵分子」である、生物学的意味が見いだされた。

3. 肺がんの抗がん剤感受性を規定するがん化パスウェイネットワークの解析

PC9細胞並びにイレッサ耐性PC9A2細胞の解析を継続する。Exome sequencing並びに全ゲノムシーケンスにて、イレッサ耐性ととも、変異の生じた遺伝子を網羅的に解析する。分子標的薬に対する耐性の出現は、重要な問題であるが、その分子機構が不明であるため、回避できない状況にある。すでに取得済みの時系列遺伝子発現のマイクロアレイデータ、プロテオミクスデータとともに、全ゲノムシーケンスデータも集まれば、遺伝子発現、蛋白質発現、ゲノム変異情報の三大オミクス情報が手にはいる。これをシステム生物学的に統合的に解析することにより、分子標的薬耐性の分子

機構を統合的に理解することが可能になると考えられる。このような研究は、これまでほとんどなされてこなかったため、パイオニア的位置づけの研究成果が得られると期待される。

4. 乳がん幹細胞のがん化パスウェイネットワークの解析

今後得られたデータを、バイオインフォマティクス解析に供する。がんの超早期診断、再発診断マーカー、革新的分子標的候補を得ることが期待できる。

5. 新規バイオマーカー、分子標的候補の機能解析と臨床検体を用いた評価

臨床に実用化可能な肺がん血清バイオマーカーを得られることが期待される。新規分子標的候補をさらに抽出し、低分子化合物や抗体薬の開発を目指す。

平成23年度

1. 肺がんのがん化パスウェイネットワークの解析と新規バイオマーカー、分子標的候補の機能解析と臨床検体を用いた評価

HER がん化パスウェイに関与する分子について、予後予測のみならず、新規分子標的候補が多数得られている。血清バイオマーカー候補も得られた。また、定常状態での DNA マイクロアレイ解析から、p53 を標的とする分子標的候補も得られた。POC を獲得し、日本発の分子標的薬並びにバイオマーカーの開発へとつなげる予定である。

今後、これまでに確立してきた独創的システム生物学的手法を活用して、肺がんに関わるもうひとつの主要ながん遺伝子 KRas がん化パスウェイを解析することにより、肺がんの新規分子標的、がん幹細胞シグネチャー、新規分子標的候補、がん早期、再発診断マーカー候補分子の抽出を行った。HER-NFκB がん化パスウェイ鍵分子として初期解析の結果得た 71 分子の解析を進め、いくつかについてがん幹細胞維持に重要な役割を果たすことを明らかにした。

2. HER2 陽性乳がんのがん化パスウェイネットワークの解析

MMTV-HER2 マウスに発症した乳がん細胞を用いて、スフェア培養を行った。

その結果、FRS2beta ノックアウトマウスの乳がん中のがん幹細胞の数が減っていることがわかった。さらに、授乳期の乳腺細胞を用いて、スフェア培養を行ったところ、FRS2beta ノックアウトマウスの乳腺中のスフェア形成幹細胞/前駆細胞の数が減っていることがわかった。乳腺細胞を用

いて、CD24/CD49f を用いて FACS 解析を行ったところ、FRS2beta ノックアウトマウスの luminal 前駆細胞の比率が、野生型に比較し、減っていることがわかった。

また、FRS2beta は、乳腺上皮の luminal 細胞の数%にのみ発現が認められ、妊娠、授乳とともにその発現が上昇する。

バイオマーカーを更に同定していく予定である。AKT パスウェイに関わる TCL ファミリーのがんにおける役割についてについて解析を進め、分子標的候補としての評価を進める。

3. 肺がんの抗がん剤感受性を規定するがん化パスウェイネットワークの解析

今回、Wnt パスウェイ並びに AKT の活性化を見いだした意義は大変大きい。活性化した Akt は、Wnt パスウェイを活性化する。Wnt パスウェイは、いくつかの固形がんにおいて、がん幹細胞との関連が知られているが、肺がんにおいてははまだほとんど報告はない。また、イレッサ耐性との関連は全く報告がない。がん幹細胞は、抗がん剤に対して抵抗性である。そのような細胞が、イレッサのような抗がん剤で長期間投与した患者の中で、生き残り、再発の温床になると考えられる。これまでイレッサ耐性のメカニズムとして報告されてきた、MET の増幅、HGF の過剰発現なども、すべて Wnt パスウェイの活性上昇とともに起こるがん幹細胞化を最終的には起こし、そのために抗がん剤に対する耐性を起こしていると考えられる。

今回のプロジェクトで行っている研究がすべて有機的につながってきて、がんという病気の本質を統合的に理解することができる道筋が、とうとう開けてきたのかもしれない。

4. 乳がん幹細胞のがん化パスウェイネットワークの解析と新規バイオマーカー、分子標的候補の機能解析と臨床検体を用いた評価

乳がん患者の新鮮臨床検体を用いたスフェア培養の系から、がん幹細胞維持

に重要なパスウェイとして、ErbB-NFκB パスウェイを同定した。さらに、これまでに確立してきた独創的システム生物学的手法を活用して、新規分子標的候補を多数得つつある。今後は、この解析を更に進めるとともに、乳がんの新規分子標的、バイオマーカーを更に同定し、評価を進め、日本発の分子標的薬並びにバイオマーカーの開発へとつなげる予定である。

5. HER2 陽性乳がんのがん化パスウェイネットワークの解析

FRS2beta は、HER ファミリー分子のフィードバック抑制因子であることを私どもは以前に報告した。また、乳腺の luminal 前駆細胞が、がん幹細胞化する可能性が最近報告されている。Luminal 前駆細胞を識別できるマーカーが現時点ではないので、FRS2beta が luminal 前駆細胞に発現しているかどうかを直接証明することはできないが、その可能性が高い。授乳期の乳腺細胞を取り出し、マトリゲルで培養させると、luminal 前駆細胞から各種細胞への分化段階をある程度みることができる。今後このアッセイ系で、野生型と FRS2beta ノックアウトマウスの luminal 前駆細胞の分化能を比較し、後者の分化能が低下しているとなれば、FRS2beta ががん幹細胞維持に重要な役割を果たしていることのさらなる証明になる。がん幹細胞は、他のがん細胞に比較し、dormancy という言葉で表される「増殖能力の低さ」を持っていることが大きな特徴である。その分子機構がここで明らかになる。FRS2beta は、がん幹細胞のマーカー並びに分子標的となる可能性がある。

現在ヒト乳がんの tissue array を用いて、FRS2beta の発現と予後情報との相関を解析している。

私どもは、つい最近 FRS2beta のがんマーカーとしての国際特許を取得したので、これを実用化へ大きく進める可能性が開けてきた。

平成 24 年度

1. 肺がんのがん化パスウェイの解析

HER がん化パスウェイ 139 分子のうち、qRT-PCR 診断薬の開発を目指して、絞り込んだ遺伝子群の中に、製薬企業的な視点からも分子標的薬を開発できそうな 3 分子が選び込まれている。その中でも、MTHFD2 は、候補分子として最上位にあがっており、これまでに他での報告もなく、今後いろいろな面からの研究を加速させるべき分子である。

開発のリスクは高いが、qRT-PCR 診断薬も実用化されれば、手術検体のホルマリン標本を用いて、MTHFD2 の発現値についても情報が得られる。MTHFD2 の発現値が高い症例にはこれを標的とする抗がん剤を使用するなど、補助療法に用いる抗がん剤の選択も、同時に行えることになる。個別化医療に貢献できると考えられる。

肺がん進展の過程で p53 の不活化が起こり、TSPAN2 遺伝子の発現が誘導され、それに伴い、細胞内を還元状態に維持することで、肺がんを亢進させるモデルが考えられた。TSPAN2 は、細胞膜分子であるので、抗体を始めとした、特異的な分子標的薬の開発が可能である。

Gefitinib 耐性の分子機構として、

beta-catenin パスウェイの活性化を見いだした。その主な原因は、Akt の活性上昇と考えられる。これまでに報告された gefitinib 耐性の分子機構としては、MET 遺伝子の増幅、HGF の過剰発現などが報告されているが、これらもひいては Akt の活性上昇を起こして耐性獲得につながっていると考えられる。さらに、Uracil-tegafur に対する耐性肺がん強く発現している vimentin を介したがん化パスウェイにも、gefitinib 耐性パスウェイが活性化しているという興味深い知見も得られている。今回見いだした beta-catenin パスウェイの活性化は、チロシンキナーゼシグナル伝達分子を標的とした抗がん剤耐性のみならず、他の抗がん剤に対する耐性獲得にも、普遍的な分子機構である可能性がある。

今後、beta-catenin の免疫染色像で、gefitinib のみならず、より一般的な抗がん剤に対する耐性を予測する可能性について、詳細に検討する予定である。

2. AKT がん化パスウェイの解析

新規 AKT 活性化ペプチド阻害剤である「TCL1b-AKT-in」を用いることにより、癌増殖を抑制、コントロールが可能か、さらにヒト悪性腫瘍において新規の治療分子標的となりえるか否か、ヒト各種悪性腫瘍において新たな予後因子としての可能性を含めた新たな治療への道標としての可能性を検証していく予定。

3. 乳がん幹細胞におけるがん化パスウェイの解析

この解析を更に進めるとともに、乳がんの新規分子標的、バイオマーカーを更に同定し、評価を進め、日本発の分子標的薬並びにバイオマーカーの開発へとつなげる予定である。

平成 25 年度

1. 肺がんのがん化パスウェイの解析

分子標的 MTHFD2 は、癌細胞において、この分子の発現が高いほど、ノックダウンの効果が強くなることから、癌細胞が MTHFD2 に依存して増殖する、すなわち MTHFD2 中毒になっていることが示唆された。gefitinib などの抗癌剤に対して抵抗を示すようになった症例の癌も、MTHFD2 中毒になっていることが示唆された。今後、免疫染色で、得られた結果を追試すると共に、コンパニオン診断薬を目指した解析も重要になってくる。この代謝経路にある分子の変異によって、MTHFD2 中毒のレベルを測定できる可能性も出てきている。代謝産物の測定など、より詳細な分子機構をつめることにより、臨床で使えるコンパニオン診断薬の開発へとつなげる予定である。

早期肺癌の予後予測シグネチャーは、7 分子という適切な数の遺伝子を用いて、ステージ I のハイリスク群を精度高く予測することが可能などころまで到達できた。今後は、パラフィン標本を用いて、実際に臨床で使えるよう、多くの検体を用いて、アルゴリズムの再構築が必要である。

肺腺がん進展の過程ではp53の不活化が起こり、TSPAN2遺伝子の発現が誘導され、そしてCD44と協調的に抗酸化系を亢進させるモデルを提唱するに至った。また、TSPAN2が、がん幹細胞様形質維持に重要な因子であることも示唆され、肺腺がんの浸潤や転移、そしてがん幹細胞の標的分子と考えられた。今後将来的には、TSPAN2とCD44との相互作用を阻害する中和抗体や低分子化合物等が抗がん剤あるいは抗浸潤転移薬になるのではないかと期待できる。

Gefitinib 耐性の分子機構として、beta-catenin パスウェイの活性化を見いだした。今回見いだした beta-catenin パスウェイの活性化は、チロシンキナーゼシグナル伝達分子を標的とした抗がん剤耐性のみならず、他の抗がん剤に対する耐性獲得にも、普遍的な分子機序である可能性がある。

免疫染色による蛋白発現で治療予測因子としての IGF-1R の可能性が示唆された。

また、Exon 19, exon 21 の染色で陽性部位と陰性部位と蛋白発現が異なる部位が存在することが確認された。現在、この exon 19 の欠失、exon 21 の点突然変異は、保険適応となっている EGFR 遺伝子検査をもって、行われている。一方、遺伝子検査は高額である。安価で簡便な診断方法である免疫組織学的染色の抗体も近年、開発され、感度、特異度共に良好な結果を示している。しかし、あくまでこれは、exon 19 と exon 21 の遺伝子変異の診断までで治療効果までは解明されていない。

今後、beta-catenin と IGF-1R を組み合わせた免疫染色法により、gefitinib 治療効果判定の精度をあげられる可能性について解析し、良好な結果が得られれば、臨床で使えるようキット化へと持ち込みたい。

2. AKT がん化パスウェイの解析

新しい「Akt活性化補助因子」である

Protooncogene によるTCL1B-AKT複合体はヒトの様々な悪性腫瘍の原因や背景因子となっている可能性が示され、発がんの背景因子として重要な役割を担っていることが明らかとなった。また、このTCL1B-AKT複合体の構造と機能の解析に基づく新規AKT阻害剤「TCL1B-Akt-in」はさまざまな悪性腫瘍において新しい分子標的薬としての期待され

る抗がん効果を示す可能性があり、新規抗癌治療への展望も期待できる研究成果である。

Phafin2-Akt 複合体の膜リン脂質PI(3)P依存的なライソゾームの移行がオートファジー誘導に必須であることを示した。Phafin2-AKT 複合体はこれまで広く用いられてきたオートファジー阻害剤である 3-MA の分子標的を世界で初めて明らかにすることができた。この一連の研究は、細胞内PI3K-Akt-mTOR シグナル伝達によるオートファジー制御の仕組みが明らかにするばかりでなく、Phafin2-Akt 複合体を介したオートファジーを制御することで発がんにかかわるウイルス感染などにおける病態や細胞反応の制御の開発に向けた道標となる可能性がある。

3. 乳がん幹細胞におけるがん化パスウェイの解析

この解析を更に進めるとともに、乳がんの新規分子標的、バイオマーカーを更に同定し、評価を進め、日本発の分子標的薬並びにバイオマーカーの開発へとつなげる予定。

E. 結論

シグナル伝達のシステムの解析に立脚した独創的なアプローチにより、いくつかの新規分子標的、予後予測シグネチャー、バイオマーカー候補などが得られた。この成果は、国内国際学会での発表、招待講演、論文発表として世界へ発信されている。さらに、知的財産の獲得、実用化へと着実な筋道がつけられている。本研究をさらに加速、推進させることにより、21世紀の医療として注目されているがんの個別化医療へ着実に進めるものと考えられる。MTHFD2 については、実際に製薬会社による低分子化合物のハイスループットスクリーニングを行っている。今後、コンパニオン診断薬を目指した解析も重要になってくる。早期肺癌の予後予測シグネチャーは、パラフィン標本を用いて、実際に臨床で使えるよう、多くの検体を用いて、アルゴリズムの再構築が必要である。今後将来的には、TSPAN2 と CD44 との相互作用を阻害する中和抗体や低分子化合物等が抗がん剤あるいは抗浸潤転移薬になるのではないかと期待できる。今回見いだした beta-catenin パスウェイの活性化は、他の抗がん剤に対する耐性獲得にも、普遍的な分子機序である可能性がある。今後は、がんの臨床での実用化をめざして、他のシーズについても、積極的に競争的資金を獲得しつつ、開発を進めていきたい。

F. 研究発表

1. 論文発表

後藤典子

Kohsaka, S., Hinohara, K., Wang, L., Nishimura, T., Urushido, M., Yachi, K., Tsuda, M., Tanino, M., Kimura, T., Nishihara, H., Gotoh, N. & Tanaka, S.: Epiregulin enhances tumorigenicity activating ERK/MAPK pathway in glioblastoma. *Neuro. Oncol.*, in press.

Ono, K., Kita, T., Sato, S., O'Neill, P., Mak, S.-S., Paschaki, M., Ito, M., Gotoh, N., Kawakami, K. & Ladher, R.K.: Fgfr1-Frs2/3 Signalling Maintains Sensory Progenitors during Inner Ear Hair Cell Formation. *PLOS Genetics.*, 10, e1004118, 2014.

Li, H., Tao, C., Cai, Z., Hertzler-Schaefer, K., Collins, T.N., Wang, F., Feng, G.-S., Gotoh, N. & Zhang, X.: Frs2alpha and Shp2 signal independently of Gab to mediate FGF signaling in lens development. *J. Cell Sci.*, 127, 571-582, 2014.

Tomokuni, A., Eguchi, H., Hoshino, H., Dewi, D.L., Nishikawa, S., Kano, Y., Miyoshi, N., Tojo, A., Kobayashi, S., Gotoh, N., Hinohara, K., Fusaki, N., Saito, T., Suemizu, H., Wada, H., Kobayashi, S., Marubashji, S., Tanemura, M., Doki, Y., Mori, M., Ishii, H. & Nagano, H. Effect of in vivo administration of reprogramming factors in the mouse liver. *Oncol. Lett.* 6, 323-328, 2013.

Gotoh N.: Growth factor signaling regulates breast cancer stem cells. In *Practical molecular target for suppression of cancer. Publication in Forum on Immunopathological Diseases and Therapeutics, Begell House Inc. Publisher, CT, USA*, 4, 2013.

Hinohara, K. & Gotoh, N.: NF- B pathways in breast cancer stem cells for tumorigenesis. In: *Breast cancer, Bentham eBooks, Bentham Science*, in press.

Hashimoto, M., Suizu, F., Tokuyama, W., Noguchi, H., Hirata, N., Matsuda-Lennikov, M., Masuzawa, M., Gotoh, N., Tanaka, S. & Noguchi, M.: Protooncogene TCL1b functions as an Akt kinase co-activator which exhibits oncogenic potency in vivo. *Oncogenesis*, 2, e70, doi: 10.1038/oncsis.2013.30.

Cai, Z., Tao, C., Li, H., Ladher, R., Gotoh, N., Feng, G.-S., Wang, F. & Zhang, X.: Deficient FGF signaling causes optic nerve dysgenesis and ocular coloboma. *Development*, 140, 2711-2723, 2013.

Kano, Y., Tsuchiya, K., Zheng, X., Horita, N., Fukushima, K., Hibiya, S., Yamauchi, Y., Nishimura, T., Hinohara, K., Gotoh, N., Suzuki, S., Okamoto, R., Nakamura, T. & Watanabe, M.: The acquisition of malignant potential in colon cancer is regulated by the stabilization of Atonal homolog 1 protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 432, 175-181, 2013.

Minegishi, Y., Shibagaki, Y., Mizutani, A., Fujita, F., Tezuka, T., Kinoshita, M., Kuroda, M., Hattori, S. & Gotoh, N.: An adaptor protein complex of FRS2beta and CIN85/CD2AP provides a novel mechanism for ErbB2/HER2 protein downregulation. *Cancer Sci.*, 104, 345-352, 2013.

Ohno, S., Takanashi, M., Sudo, K., Ueda, S., Ishikawa, A., Matsuyama, N., Fujita, K., Mizutani, T., Ohgi, T., Ochiya, T., Gotoh, N. & Kuroda, M.: Systemically injected exosomes targeted to EGFR deliver anti-tumor microRNA to breast cancer cells. *Molecular Therapy*, 21, 185-191, 2012.

Yamauchi, M., Yamaguchi, R., Nakata, A., Kohno, T., Nagasaki, M., Shimamura, T., Imoto S., Saito A., Ueno, K., Hatanaka, Y., Yoshida, R., Higuchi, T., Nomura, M., Beer, D.G., Yokota, J., Miyano, S. & Gotoh, N.: Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase defines critical prognostic genes of stage I lung adenocarcinoma. *PLoS ONE*, 7, e43923, 2012.

Nakata, A. & Gotoh, N.: Recent understanding of the molecular mechanisms for the efficacy and resistance of EGF receptor-specific tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Expert Opin. Ther. Targets*, 16, 771-781, 2012.

Hinorara, K., Kobayashi S., Kanauchi, H., Shimizu, S., Nishioka, K., Tsuji, E., Tada, K., Umezawa, K., Mori, M., Ogawa, T., Inoue, J., Tojo, A. & Gotoh, N.: ErbB/NF- B signaling controls mammosphere formation in human breast cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 109, 6584-6589, 2012.

Kojima, K., Imoto, S., Yamaguchi, R., Fujita, A., Yamauchi, M., Gotoh, N. & Miyano, S.: Identifying regulational alterations in gene regulatory networks by state space representation of vector autoregressive models and variational annealing. *BMC Genomics, Suppl.* 1, S6, 2012.

Okayama, H., Khono, T., Ishii, Y., Shimada, Y., Shiraiishi, K., Iwakawa, R., Furuta, K., Tsuta, K., Shibata, T., Yamamoto, S., Watanabe, S., Sakamoto, H., Kumamoto, K., Takenoshita, S., Gotoh, N., Mizuno, H., Sarai, A., Kawano, S., Yamaguchi, R., Miyano, S. & Yokota, J.: Identification of genes up-regulated in ALK-positive and EGFR/KRAS/ALK-negative lung adenocarcinoma. *Cancer Res.*, 72, 100-111, 2012.

Nomura, M., Fukuda, T., Fujii, K., Kawamura, T., Tojo, H., Kihara, M., Bando, Y., Gazdar, A.F., Tsuboi, M., Oshiro, H., Nagao, T., Ohira, T., Ikeda, N., Gotoh, N., Kato, H., Marko-Varga, G. & Nishimura, T.: Preferential expression of potential markers for cancer stem cells in large cell neuroendocrine carcinoma of the lung. *Journal of Clinical Bioinformatics*, 1, 23, (3 September), 2011.

Yamauchi, M., Yoshino, I., Yamaguchi, R., Shimamura, T., Nagasaki, M., Imoto, S., Niida, A., Koizumi, F., Kohno, T., Yokota, J., Miyano, S. & Gotoh, N.: N-cadherin expression is a potential survival mechanism of gefitinib-resistant lung cancer cells. *Am. J. Cancer. Res.*, 1, 823-833, 2011.

Gotoh, N.: Somatic mutations of the EGF receptor and their signal transducers affect the efficacy of EGF receptor-specific tyrosine kinase inhibitors. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, 4, 403-409, 2011.

Nasirujjaman K., Kimura-Yoshida, C., Gotoh, N., Hiramatsu, R. and Matsuo I.: A genetic study of the effects of reduced *Frs2alpha* gene dosage in exostoses development and cartilage abnormalities observed in *Ext2* heterozygous mutant mice. *Journal of Osaka Medical Center & Research Institute for Maternal & Child Health.*, 26, 101-108, 2011.

Gotoh, N.: FRS2. In: *Encyclopedia of Signaling Molecules*. Springer, Heidelberg, Germany, 2011.

Oyama, M., Nagashima, T., Suzuki, T., Kozuka-Hata, H., Yumoto, N., Shiraishi, Y., Ikeda, K., Kuroki, Y., Gotoh, N., Ishida, T., Inoue, S., Kitano, H., Okada-Hatakeyama, M.: Integrated quantitative analysis of the phosphoproteome and transcriptome in tamoxifen-resistant breast cancer. *J. Biol. Chem.*, 286, 818-829, 2010.

Tasaki, S., Nagasaki, M., Kozuka-Hata, H., Semba, K., Gotoh, N., Hattori, S., Inoue, J., Yamamoto, T., Miyano, S., Sugano, S. and Oyama, M.: Phosphoproteomics-based modeling defines the regulatory mechanism underlying aberrant EGFR signaling. *PLoS ONE*, 5(11), e13926, 2010.

Gotoh, N.: Possible signaling pathways in cancer stem cells in breast cancer. In: *Cancer Stem Cells Theories and Practice*, Chapter 13, Nikolic, A. (Ed.), INTECH, NY, USA, 2011.

Hinohara, K. and Gotoh, N.: Inflammatory signaling pathways in self-renewing breast cancer stem cells. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 10, 650-654, 2010. (論文の図がこの号の表紙に採用されました)

Shimamura, T., Imoto, S., Nagasaki, M., Yamauchi, M., Yamaguchi, R., Fujita, A., Tamada, Y., Gotoh, N., Miyano, S. Collocation-based sparse estimation for constructing dynamic gene networks. *Genome Inform.*, 24, 164-178, 2010.

Sato, T., Shimazaki, T., Naka, H., Fukami, S., Okano, H., Lax, I., Schlessinger, J. and Gotoh, N.: FGF-FRS2-Erk axis controls a self-renewal target Hes1 and growth of neural stem/progenitor cells. *Stem Cells.*, 28, 1661-1672, 2010.

Kojima, K., Yamaguchi, R., Imoto, S., Yamauchi, M., Nagasaki, M., Yoshida, R., Shimamura, T, Ueno, K., Higuchi,

T., Gotoh, N., Miyano, S.: A state space representation of VAR models with sparse learning for dynamic gene networks. *Genome Inform.*, 22, 56-68, 2010.

Iejima, D., Minegichi, Y., Takenaka, K., Siswanto, A., Watanabe, M., Huang, L., Watanabe, T., Tanaka, F., Kuroda, M. and Gotoh, N.: FRS2, a potential prognostic gene for non-small cell lung cancer, encodes a feedback inhibitor for EGF receptor family members via ERK binding. *Oncogene*, 29, 3087-3099, 2010.

Murohashi, M., Hinohara, K., Kuroda, M., Isagawa, T., Tsuji, S., Kobayashi, S., Umezawa, K., Tojo, A., Aburatani, H. and Gotoh, N.: Gene set enrichment analysis provides insight into novel signaling pathways in breast cancer stem cells. *British J. Cancer*, 102, 206-212, 2010.

Murohashi, M., Nakamura, T., Tanaka, S., Ichise, T., Yoshida, N., Yamamoto, T., Shibuya, M., Schlessinger, J. and Gotoh, N.: An FGF4-FRS2-Cdx2 axis in trophoblast stem cells induces BMP4 to regulate proper growth of early mouse embryos. *Stem Cells*, 28, 113-121, 2010.

江成正人

Hirokazu Ohata, Makoto Miyazaki, Ryo Otomo, Yuko Matsushima-Hibiya, Chihiro Otsubo, Takahiro Nagase, Hirofumi Arakawa, Jun Yokota, Hitoshi Nakagama, Yoichi Taya and Masato Enari: NuMA is required for the selective induction of p53 target genes. ***Molecular and Cellular Biology***, 33, 2447-2457, 2013.

Chihiro Otsubo, Ryo Otomo, Makoto Miyazaki, Yuko Matsushima-Hibiya, Takashi Kohno, Reika Iwakawa, Fumitaka Takeshita, Hirokazu Okayama, Hitoshi Ichikawa, Hideyuki Saya, Tohru Kiyono, Takahiro Ochiya, Fumio Tashiro, Hitoshi Nakagama, Jun Yokota, and Masato Enari: TSPAN2 Is Involved in Cell Invasion and Motility during Lung Cancer Progression. ***Cell Reports***, 7, 527-538, 2014.

Takashi Nakaoku, Koji Tsuta, Hitoshi Ichikawa, Kouya Shiraishi, Hiromi Sakamoto, Masato Enari, Koh Furuta, Yoko Shimada, Hideaki Ogiwara, Shun-ichi Watanabe, Hiroshi Nokihara, Kazuki Yasuda, Masaki Hiramoto, Takao Nammo, Aaron J. Schetter, Hirokazu Okayama, Curtis C. Harris, Young Hak Kim, Michiaki Mishima, Jun Yokota, Teruhiko Yoshida, Takashi Kohno: Druggable Oncogene Fusions in Invasive Mucinous Lung Adenocarcinoma. ***Clinical Cancer Research***, in press,

Yuudai Kondo, Kentaro Nagai, Shingo Nakahata, Yusuke Saito, Tomonaga Ichikawa, Akira Suekane, Tomohiko Taki, Reika Iwakawa, Masato Enari, Masafumi Taniwaki, Jun Yokota, Sumio Sakoda and Kazuhiro Morishita: Overexpression of DNA sensor proteins, AIM2 and IFI16, contributes to tumorigenesis

of OSCC with p53 inactivation. **Cancer Sci.**, 103, 782-790, 2012.

Takashi Kohno, Hitoshi Ichikawa, Yasushi Totoki, Kazuki Yasuda, Masaki Hiramoto, Takao Nammo, Hiromi Sakamoto, Koji Tsuta, Koh Furuta, Yoko Shimada, Reika Iwakawa, Hideaki Ogiwara, Takahiro Oike, Masato Enari, Aaron J. Schetter, Hirokazu Okayama, Aage Haugen, Vidar Skaug, Suenori Chiku, Itaru Yamanaka, Shun-ichi Watanabe, Ikuo Sekine, Seishi Ogawa, Curtis C. Harris, Hitoshi Tsuda, Teruhiko Yoshida, Jun Yokota and Tatsuhiro Shibata: KIF5B-RET fusions in lung adenocarcinoma. **Nat. Med.**, 18, 375-377, 2012.

Kodama, M., Othubo, C., Hirota, T., Yokota, J., Enari, M., and Taya, Y.: Requirement of ATM for Rapid p53 Sequences. **Mol. Cell. Biol.**, 30, 1620-1633, 2010

Iwakawa, R., Kohno, T., Enari, M., Kiyono, T., and Yokota, J.: Prevalence of Human Papillomavirus 16/18/33 Infection and P53 Mutation in Lung Adenocarcinoma. **Cancer Sci.**, 101, 1891, 1896, 2010

野口昌幸

Mami Matsuda-Lennikov, Futoshi Suizu, Noriyuki Hirata, Manabu Hashimoto, Kohki Kimura, Tadashi Nagamine, Yoichiro Fujioka†, Yusuke Ohba, Toshihiko Iwanaga, & Masayuki Noguchi: ***Lysosomal interaction of Akt with Phafin2: a critical step in the induction of autophagy PLs ONE, in press***

Manabu Hashimoto, Futoshi Suizu, Wataru Tokuyama, Hiroko Noguchi, Noriyuki Hirata, Mami Matsuda-Lennikov, Tatsuma Edamura, Mikio Masuzawa, Noriko Gotoh, Shinya Tanaka & Masayuki Noguchi: ***Protooncogene TCL1b functions as an Akt kinase co-activator which exhibits oncogenic potency in vivo. Oncogenesis, (2013) 2, e 70***

野口昌幸、堺谷 政弘、水津太 :

日本臨床 最新がん薬物療法学—がん薬物療法の最新知見—

「その他のセリン・スレオニンキナーゼ阻害薬」
in press 2014

野村将春

Journal of Clinical Bioinformatics 2011, 1, 23
<http://www.jclinbioinformatics.com/content/1/1/23>.
Preferential expression of potential markers for cancer stem cells in large cell neuroendocrine carcinoma of the lung. An FFPE proteomic study

2. 学会発表

後藤典子 招待講演のみ記載

「EGF 受容体チロシンキナーゼ制御遺伝子によ

る肺癌の予後予測診断と乳癌幹細胞の分子標的」
シンポジウム：翻訳後修飾に着目したシグナル伝達研究と創薬の最前線

第134回日本薬学会年会

2014年3月30日

熊本

「増殖因子制御遺伝子による予後予測診断と癌幹細胞の分子標的」

“Prognostic gene signature and novel molecular targets derived from growth factor signaling”

分子標的治療のカッティングエッジ

JCA-JSMO 合同シンポジウム、第72回日本癌学会学術総会

2013年10月3日

横浜

“Growth factor signaling regulates breast cancer stem cells.”

Seminar series in School of Medicine, Yale University

2013年9月19日

New Haven, CT, USA

「増殖因子制御遺伝子による肺癌の予後予測診断と乳癌幹細胞の分子標的」

がん・ゲノム・脳 支援活動 合同シンポジウム
2013年8月6日

東京

「増殖因子による乳がん幹細胞制御の分子機構」

Breast Cancer Conference

2013年7月26日

東京

“Receptor tyrosine kinase signaling controls breast cancer stem cells”

SNUCRI & KUCRI Symposium

2013年7月10日

ソウル 韓国

“Growth factor receptor signaling controls breast cancer stem cells and their niche”

The 86th Annual Meeting of Japanese Tissue Culture Association

2013年5月31日

筑波

「増殖因子による乳癌幹細胞制御の分子機構と臨床応用の可能性」

第29回お茶の水乳腺研究会

2013年5月28日

東京

「がん予防について」

東京消防庁健康管理講演会

2013年5月22日

東京

「Receptor tyrosine kinase signaling controls breast cancer stem cells and their niche」

第35回日本分子生物学会年会

ワークショップ「がん研究の新局面～Akt シグナルと癌幹細胞」

オーガナイザー

「早期肺がん予後予測シグネチャーと gefitinib 耐性の分子機構」

2012年12月12日

福岡

第5回疾患医科学ミニシンポジウム

「肺がんと呼吸器疾患～ゲノム研究-疫学-依存症-生活習慣病」

2012年11月1日

東京（医科研）

「増殖因子による乳がん幹細胞と肺がんシグナルの制御機構から見えてくるがんの個別化医療への道筋」

政策課題対応型研究推進セミナー

2012年10月3日

金沢（がん進展制御研究所）

「増殖因子による乳がん幹細胞と肺がんシグナルの制御機構から見えてくるがんの個別化医療への道筋」

第二回腫瘍病理セミナー

2012年10月2日

金沢（金沢医科大学）

「乳癌幹細胞スフェア培養が解き明かす腫瘍形成の分子機構」

“Discovery of potential molecular targets for breast cancer stem cells by using cultured tumor spheres”

第71回日本癌学会総会 ランチョンセミナー

2012年9月20日

札幌

「増殖因子受容体による癌幹細胞とニッチ制御の分子機構」

“Growth factor receptor signaling controls breast cancer stem cells and their niche”

第71回日本癌学会総会 シンポジウム「がん幹

細胞の分子標的」

2012年9月19日

札幌

「増殖因子による乳がん幹細胞制御の分子機構」
第22回日本サイトメトリー学会 シンポジウム

2012年6月30日

大阪

「増殖因子受容体シグナルによる癌幹細胞制御の分子機構」

第8回文京乳腺研究会 特別講演

2012年6月14日

東京

“ErbB/EGF receptor signaling is a key pathway for self-renewing breast cancer stem cells”

“Cancer and stem cells”

第34回日本分子生物学会年会

シンポジウム オーガナイザー

2011年12月16日

横浜

“がん幹細胞の新規分子標的の同定”

第49回 日本癌治療学会

“がん幹細胞研究の進展と治療展開” パネルディスカッション3

2011年10月27日

名古屋

ErbB/NFκB signaling controls self-renewal of breast cancer stem cells”

13th Japanese-German Cancer Workshop

2011年9月18日

広島

「システム生物学的手法を用いた疾患研究—肺癌予後予測シグネチャーと乳癌幹細胞シグナルの同定」

第4回東京アンチエイジングアカデミー

2011年5月21日

東京

“Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase-responsiveness provides critical prognostic genes of lung adenocarcinoma”

Lecture series of the Lung Cancer Oncogenome Group (LCOG)

2011年3月28日

Memorial Sloan Kettering Cancer Center

ニューヨーク

“A potential role of NF- κ B pathways in breast cancer stem cells for tumorigenesis”

The 7th Global COE International Symposium

2011年2月11日

University of Singapore

シンガポール

「新規バイオインフォマティクス手法を用いた癌幹細胞内シグナル伝達経路の解明」

創薬薬理フォーラム 第18回シンポジウム

2010年9月16日

東京

ワークショップ 「システム生物学とゲノム研究による癌の予防、診断、治療戦略」

第33回日本分子生物学会年会第83回日本生化学会大会合同大会

ワークショップ オーガナイザー

2010年12月9日

神戸

江成正人

Masato Enari: INACTIVATION OF p53 PATHWAY IN ALK FUSION-POSITIVE TUMORS THROUGH THE DIRECT TYROSINE PHOSPHORYLATION OF p53.

Preconference on p53/6th International p63/p73 Workshop, Kazusa, Symposia, September 15, 2013.

細胞老化とアポトーシスの運命を決定する遺伝子の同定とその機能解析:長野 大輝、中野 真行、橋本 季明、江成 政人、吉川 潮、鎌田 真司
第72回日本がん学会学術総会、横浜、2013年10月5日

NuMA と CDK8 による p53 標的遺伝子の選択的調節:宮崎 允、大畑 広和、大坪 千裕、大友 亮、日比谷 優子、田代 文夫、田矢 洋一、江成 政人
第36回日本分子生物学会年会、神戸、2013年12月4日

がん随伴線維芽細胞の p53 による肺がん細胞の浸潤制御機構:大友 亮、大坪 千裕、宮崎 允、日比谷 優子、田代 文夫、江成 政人
第36回日本分子生物学会年会、神戸、2013年12月4日

Anaplastic lymphoma kinase による p53 チロシンリン酸化を介した p53 不活化機構: 江成 政人
第71回日本癌学会学術総会、札幌、2012年9月19日

がん間質の p53 発現低下に伴うがん浸潤亢進メ

カニズムの解析: 大友 亮、大坪 千裕、宮崎 允、日比谷 優子、田代 文夫、江成 政人
第35回日本分子生物学会年会、福岡、2012年12月12日

p53 転写選択性における NuMA の役割: 宮崎 允、大畑 広和、大坪 千裕、大友 亮、日比谷 優子、田代 文夫、田矢 洋一、江成 政人
第35回日本分子生物学会年会、福岡、2012年12月12日

p53 は癌における ALK 融合蛋白質によるチロシン残基リン酸化で失活する:田矢 洋一、江成 政人
第70回日本癌学会学術総会、名古屋、2011年10月3日

ALK による p53 不活性化機構: 江成 政人、大坪 千裕、田矢 洋一
第70回日本癌学会学術総会、名古屋、2011年10月3日

p53 不活性化による細胞の運動能と浸潤能の制御機構に関する研究:大坪 千裕、岩川 麗香、市川 仁、清野 透、横田 淳、江成 政人
第70回日本癌学会学術総会、名古屋、2011年10月4日

p53 と Mdmx との相互作用を阻害する低分子化合物の同定: 江成政人、瓦谷泰之、上里新一、横田淳
第69回日本癌学会学術総会、大阪、2010年9月22日

Requirement of ATM for Rapid p53 Phosphorylation at Ser46 without Ser/Thr-Gln Sequences: 江成政人、児玉昌美、大坪千裕、横田淳、田矢洋一
第15回 p53 国際ワークショップ、フィラデルフィア
2010年10月11日

ATM による p53Ser46 の直接的リン酸化: 江成政人、児玉昌美、大坪千裕、横田淳、田矢洋一
BMB2010、神戸
2010年12月7日

野口昌幸
野口昌幸: Akt結合因子による多彩な細胞反応性の修飾の分子機構
金沢大学がん進展制御研究所 共同利用・共同研究拠点

シンポジウム2013 金沢市 金沢エクセルホテル
東急 2013.11.19

Manabu Hashimoto, Mami Matsuda Futoshi
Suizu, Tadashi Nagamine, Noriyuki Hirata,
Hiroko Noguchi, Sinya Tanaka, Wataru
Tokuyama, Masayuki Noguchi: Protooncogene TCL1b
functions as an AKT kinase co-activator that exhibits
oncogenic potency in vivo. 第71回日本癌学会学術
集会 2012年9月20日
札幌市 (ポイト札幌)

野口昌幸: Modulation of the Akt signal by its
binding proteins.

Akt結合因子による細胞反応性の修飾の分子機
構 第35回分子生物学会 2012年12月13日 福岡
市

Manabu Hashimoto, Futoshi Suizu, Wataru
Tokuyama, Hiroko Noguchi, Mami Matsuda,
Noriyuki Hirata, Tadashi Nagamine, Sinya Tanaka,
Masayuki Noguchi: Protooncogene TCL1b functions
as an AKT kinase co-activator that exhibits
oncogenic potency in vivo. Mechanisms & Models of
Cancer. Cold Spring Harbor Laboratory.
2012/8/14

野口昌幸: ウィルス感染症におけるTCL1Bによる
AKTシグナル伝達系の活性化機構

第86回日本感染症学会 長崎市2012年4月25日
Manabu Hashimoto, Mami Matsuda Futoshi Suizu,
Noriyuki Hirata Hiroko Noguchi, Wataru Tokuyama,
Sinya Tanaka Wataru Tokuyama Masayuki Noguchi:
Characterization of the protooncogene TCL1b as an
Akt kinase co-activator.

The 4th international Young Researcher Seminar for
Zoonosis Control 2012.

2012.9.19 ~ 20 Graduate School of Veterinary
Medicine, Hokkaido University

Manabu Hashimoto, Mami Matsuda, Futoshi Suizu,
Tadashi Nagamine, Noriyuki Hirata,
Hiroko Noguchi, Sinya Tanaka, Wataru Tokuyama,
Masayuki Noguchi: Protooncogene TCL1b functions
as an AKT kinase co-activator that exhibits
oncogenic potency in vivo. 第71回日本癌学会学術
集会 2012年9月19~21日 札幌市

野口昌幸、水津太: Modulation of the Akt signal by
its binding proteins.

第35回分子生物学会 2012年12月13日 福岡市

Manabu Hashimoto, Futoshi Suizu, Wataru
Tokuyama, Hiroko Noguchi, Mami Matsuda,
Noriyuki Hirata, Tadashi Nagamine, Shinya Tanaka,

Masayuki Noguchi: Protooncogene TCL1b Functions
as An Akt Kinase Co-activator that Exhibits On
cogenic Potency In Vivo.

第35回分子生物学会 2012年12月13日 福岡市

M. Noguchi, : Characterization of protooncogene TCL
1b as an Akt kinase co-activator. CSHL Meeting.

Cold Spring Harbor Laboratory. 2011/10/11~15

野口昌幸: ユビキチン化によるAKTの活性化制御
の仕組み

第69回日本癌学会学術総会, 大阪市 (大阪国際
会議場), 2010.9.22~24

Manabu Hashimoto, Futoshi Suizu, Wataru
Tokuyama, Hiroko Noguchi, Mami Matsuda,
Noriyuki Hirata, Tadashi Nagamine, Sinya Tanaka,
Masayuki Noguchi: Protooncogene TCL1b functions
as an AKT kinase co-activator that exhibits
oncogenic potency in vivo. Mechanisms & Models of
Cancer. Cold Spring Harbor Laboratory.

2012/8/14

野口昌幸: ウィルス感染症におけるTCL1Bによる
AKTシグナル伝達系の活性化機構

第86回日本感染症学会 長崎市2012年4月25日

p53 は癌における ALK 融合蛋白質によるチロシ
ン残基リン酸化で失活する: 田矢 洋一, 江成 政
人 第70回日本癌学会学術総会、名古屋、2011年
10月3日

(2) ALK による p53 不活性化機構: 江成 政人、大
坪 千裕、田矢 洋一

第70回日本癌学会学術総会、名古屋、2011年10
月3日

(3) p53 不活性化による細胞の運動能と浸潤能の
制御機構に関する研究: 大坪 千裕、岩川 麗香、市
川 仁、清野 透、横田 淳、江成 政人

第70回日本癌学会学術総会、名古屋、2011年10
月3日

野村将春

第102回米国癌学会

Masaharu Nomura et al,

Novel characteristic proteins of large cell
neuroendocrine carcinoma of lung

102nd Annual Meeting of AACR, Orlando, Florida,
USA. April 2-6, 2011 (Poster)

5th EORCT-NCI-ASCO Annual meeting on
“Molecular markers in Cancer” Brussels, Belgium
October 27-29 (Poster)

Masaharu Nomura et al.

Stathmin-1 – drug sensitivity associated protein of