

腫瘍制御（旧 遺伝子診断）研究分野

【研究スタッフ】（2009年現在）

教授 源 利成； 准教授 川上和之

ポスドク研究員 金 明姫

大学院 [博士課程] 宮下勝吉（脳神経外科，3月まで），斉藤健一郎（心肺総合外科），麦 威（3月まで），松之木愛香（心肺総合外科；米国留学），王 利明（国費）

[修士課程] 北野綾子（薬学系），近野祐里（薬学系）

研究支援推進員：浅香敦子

技能補佐員：柘井亜希子（11月から），麦 威（14条特例；3月まで）

共同研究員：山下 要（腫瘍外科），小竹優範（石川県立中央病院消化器外科）

【研究分野の概要と研究成果】

消化器がんと呼吸器がんを中心に，がんの多様な分子細胞病態と腫瘍外科的特性の解明を目指して，基礎・臨床橋渡し研究を実施している．今年度は神経膠芽腫（本学脳神経外科）と膵がん治療（金沢医科大学腫瘍内科）の臨床研究を共同でそれぞれ開始，立案した．

1. がん化シグナル誘導の分子細胞機構とがん制御への応用（源，川上）

(1) Wnt シグナル制御破綻に関わる新しい分子細胞機構

Wnt 経路の制御破綻が固有のがん化シグナルを誘発する仕組みと，それを修飾する分子細胞機構を解明するために β -catenin を中心とするがん化シグナルネットワークの概念を創出し，これを具現化する．大腸がんの腫瘍-宿主境界の微小環境における β -catenin 活性化の重要性， β -catenin と I κ B α に共通のユビキチン連結酵素 β -TrCP の同定， β -TrCP を転写後に制御する Wnt 経路の新規転写標的 coding region determinant-binding protein (CRD-BP) の同定と，これらの分子の制御異常と病的作用を見出した．CRD-BP は c-myc や IGF-II の RNA トランス因子であり，大腸がんでは複数の細胞増殖経路 (Wnt, NF- κ B, c-Myc, IGF-II) を機能的に結びつけると仮定し，臨床がんの解析を進めている．今年度は，CRD-BP が Gli-1 mRNA の安定化により，大腸がんの Wnt と Hedgehog 経路の交差応答を形成することを明らかにした (Cancer Res 2009)．また，CRD-BP の hTERT mRNA 安定性に対する作用や，腸上皮細胞の極性輸送の制御異常にもなる E-cadherin の発現変化と β -catenin 活性化の関連などについて共同研究を開始した．

(2) 慢性進行性疾患の創薬標的 GSK3 β の消化器がんにおける発現，活性，機能解析

正常細胞の Wnt 経路制御作用からがん抑制的に働く機能分子と認識されている glycogen synthase kinase 3 β (GSK3 β) の大腸がんへの関与に着目した．そして，GSK3 β の過剰発現やそのリン酸化による酵素活性調節の破綻が腫瘍細胞の生存や増殖を維持・推進するという，Wnt 経路抑制機能とは異なる病的作用を発見した．その後，GSK3 β 阻害の制がん効果を消化器がん細胞と担がん動物で実証し，本酵素が新しいがん治療標的であると提唱した (国際出願)．今年度は，その制がん効果の分子メカニズムは細胞周期やがん抑制分子経路の制御によるものであることを明らかにした (Clin Cancer Res 2009, 2報)．本研究結果を基にして，GSK3 β 阻害効果を示す医薬品による再発神経膠芽腫治療の臨床研究を本学附属病院脳神経外科で開始した．同様に，切除不能・再発膵がん治療の臨床研究を金沢医科大学腫瘍内科と共同で立案中である．今後は，GSK3 β が制御するがん細胞の形態特性と運動性，代謝動態や蛋白質リン酸化特性と，本酵素阻害のがん化学予防効果を検討する．

2. 遺伝薬理学的解析によるオーダーメイドがん化学療法（川上，源）

遺伝子の発現量や遺伝子型を抗がん剤の感受性・有害事象予測に利用し，オーダーメイド化学療法を実現させることを目的に研究を進めている．5-FU のターゲット酵素であるチミジル酸合成酵素 (TS) の遺伝子発現，遺伝子型，LOH の存在に加え，複数の核酸・葉酸代謝酵素遺伝子発現・遺伝子型と抗がん剤感受性の関連を消化器がん，肺がんを対象に解析している．

本年度は、肺がんを対象として葉酸代謝酵素の遺伝子発現量と組織内葉酸量の関連を解析したところ、腺癌では扁平上皮癌に比較して細胞内への葉酸取り込みをより促進させる遺伝子発現変化を認めた。この結果は、肺がんにおいて組織型別に葉酸拮抗剤の使用を個別化できる可能性を示唆する。

3. エピジェネティクスを標的にするがん診断・治療法の開発（川上，源）

がん細胞におけるエピジェネティックな変化とその背景にある代謝変動の理解を進め、これのがん予防・診断・治療の新たな戦略構築に応用することをめざしている。エピジェネティックな変化のうち、とくに DNA メチル化を解析対象として、がん表現型である CpG island methylator phenotype (CIMP), MSI, chromosomal instability 相互の関連を観察し、大腸がんをモデルに発がん経路をジェネティック・エピジェネティックな変化により説明することを試みている。CIMP(+)がんでは組織の葉酸代謝が亢進し、葉酸の細胞外排出に関与する酵素 (GGH) の発現低下を認めることを昨年度報告した。本年度は、CIMP(+)細胞を使用して GGH 強制発現細胞を作成し DNA メチル化の変動を解析した。GGH 強制発現細胞ではその親株に比較して DNA メチル化は低下し、葉酸代謝の変動ががんにおける異常な DNA メチル化の一因になることを実証した。現在 GGH 強制発現細胞を用いて代謝拮抗剤への反応性などを解析している。また、昨年度特許出願したメチル化マーカーである LINE-1 の臨床的意義を肺がんにて検討した。379 例の非小細胞肺がん患者のがん組織における LINE-1 メチル化を測定し、その予後因子としての意義を検討したところ、stage IA の患者群で LINE-1 の低メチル化は独立した予後不良因子となることを観察した。さらに、LINE-1 のメチル化が 5-FU 感受性と相関する機構を解析し、5-FU による LINE-1 の発現亢進とそれに伴う DNA 2 重鎖切断が背景にあることを発見した。現在、この機構を利用した新規治療法の開発を行っている。

4. ヒト消化管がん組織検体資源化：プロジェクト K（源，川上）

がんの分子・細胞レベルの変化、代謝変動や遺伝子改変動物の解析から得られる結果を実際のがん病巣で具現化してはじめて、がんの臨床に導入することができる。医学研究に共通する時代の要請である。そのためには、ヒトのがん検体は必須である。この目的で、当研究所腫瘍外科研究分野と協力して、200 例以上の胃がん・大腸がん手術症例の臨床検体を集積してきた。がん組織と非がん粘膜からゲノム DNA, 全 RNA, cDNA, 多目的（蛋白質解析）用凍結組織、凍結切片ブロック、パラフィンブロックを作成し、臨床病情報を含めて資源化した。2007 年秋から、当研究所腫瘍外科診療科で手術を実施できないことになった。このため、消化管がん治療の臨床研究を兼ねて、2008 年末から本学附属病院胃腸外科と市中の基幹病院（金沢赤十字病院、石川県立中央病院、金沢医科大学病院）外科と連携して、本事業を継続することとした。今後の 5 年間で大腸がん 1,000 例、胃がん 500 例の集積を当面の目標としている。本プロジェクトの活動は関連学会で発表し、次年度以降も発表を継続する。

[註]アンダーラインは研究スタッフ，研究協力員および共同研究員

論文発表

原著

1. Mai W, Kawakami K, Shakoori A, Kyo S, Miyashita K, Yokoi K, Jin MJ, Shimasaki T, Motoo Y, Minamoto T. Deregulated glycogen synthase kinase 3 β sustains gastrointestinal cancer cells survival by modulating human telomerase reverse transcriptase and telomerase. *Clin Cancer Res* 15 (22): 6810-9, 2009, Published online first on Nov 10, 2009.
2. Jin MJ, Kawakami K, Fukui Y, Tsukioka S, Oda M, Watanabe G, Takechi T, Oka T, Minamoto T. Different histological types of non-small cell lung cancer have distinct folate and DNA methylation levels. *Cancer Sci* 100 (12): 2325-30, 2009, Epub ahead of print Aug 25, 2009.
3. Noubissi FK, Sanek NA, Kawakami K, Minamoto T, Moser A, Grinblat Y, Spiegelman VS. Wnt signaling stimulates transcriptional outcome of the Hedgehog pathway by stabilizing GLI1 mRNA. *Cancer Res* 69 (22): 8572-8, 2009; Epub ahead of print Nov 3, 2009.
4. Du YC, Oshima H, Oguma K, Kitamura T, Itadani H, Fujimura T, Piao YS, Yoshimoto T, Minamoto T, Kotani H, Taketo MM, Oshima M. Induction and downregulation of Sox17 and its possible roles during the course of gastrointestinal tumorigenesis. *Gastroenterology* 137 (4): 1346-57, 2009 [Epub ahead of print, Jun 20, 2009].
5. Howlett M, Giraud AS, Lescesen H, Jackson CB, Kalantzis A, van Driel IR, Robb L, Van der Hoek M, Ernst M, Minamoto T, Boussioutas A, Oshima H, Oshima M, Judd LM. The IL-6 family cytokine IL-11 regulates homeostatic epithelial cell turnover and promotes gastric tumor development. *Gastroenterology* 136 (3): 967-77, 2009. Epub ahead of print, Dec 3, 2008.
6. Miyashita K, Kawakami K, Mai W, Shakoori A, Fujisawa H, Nakada M, Hayashi Y, Hamada J, Minamoto T. Potential therapeutic effect of glycogen synthase kinase 3 β inhibition against human glioblastoma. *Clin Cancer Res* 15 (3): 887-897, 2009.

著書・総説

7. Nakada M, Kita D, Hayashi Y, Kawakami K, Hamada J, Minamoto T. RNAi in malignant brain tumors: relevance to molecular and translational research. In; Erdmann VA, Barciszewski J, eds., *RNA Technologies and Their Applications*, Springer Verlag, in press.
8. Miyashita K, Nakada M, Shakoori A, Ishigaki Y, Shimasaki T, Motoo Y, Kawakami K, Minamoto T. An emerging strategy for cancer treatment targeting aberrant glycogen synthase kinase 3 β . *Anti-Cancer Agents Med Chem* 9 (10): 1114-22, 2009.

学会発表

国際学会

1. Kazuyuki Kawakami, Mingji Jin, Kenichiro Saito, Aika Matsunoki, Wei Mai, Go Watanabe, Toshinari Minamoto. Allele-specific inhibition of thymidylate synthase expression by small interfering RNA. Annual Meeting 2009 of the American Association

for Cancer Research, April 18-22, 2009, Denver, CO.

2. Minamoto T, Kawakami K. Glycogen synthase kinase (GSK)-3 β inhibition for cancer treatment. 第14回日韓がん研究ワークショップ, 2009年12月18-19日, 金沢.

国内学会

3. 島崎猛夫, 石垣靖人, 夏 啓勝, 中谷直喜, 友杉直久, 田中卓二, 川上和之, 源利成, 元雄良治. GSK3 β 阻害剤と塩酸ゲムシタピンの併用による膵癌の新規治療戦略と分子基盤. 第40回日本膵臓病学会大会, シンポジウム2:膵癌に対するトランスレーショナルリサーチの展望—bench to bed, bed to bench—, 2009年7月30-31日, 東京.
4. 中田光俊, 林 裕, 喜多大輔, 宮下勝吉, 玉瀬 玲, 上出智也, 田中慎吾, 林 康彦, 内山尚之, 源 利成, 濱田潤一郎. GSK3 β を分子標的とした再発 GBM に対する第 I/II 相臨床試験. 第10回日本分子脳神経外科学会, 2009年9月19-20日, 岡山.
5. Iacopetta B, Kawakami K. The CpG island methylator phenotype as a predictor of response to 5FU-based chemotherapy in colon cancer. 第68回日本癌学会総会学術集会 International Session 1, 2009年10月1日-3日, 横浜.
6. Kazuyuki Kawakami, Aika Matsunoki, Mingji Jin, Kenichiro Saito, Go Watanabe, Toshinari Minamoto (川上和之, 松之木愛香, 金 明姫, 斉藤健一郎, 渡邊 剛, 源 利成). Augmentation of LINE-1 expression is a possible mechanism underlying cytotoxic effect of 5-FU in colorectal cancer (LINE-1 の発現増強は大腸がんにおける 5-FU の抗腫瘍効果発現メカニズムに関与する). 第68回日本癌学会総会学術集会, 2009年10月1-3日, 横浜.
7. Takeo Shimasaki, Yasuhito Ishigaki, Qisheng Xia, Takanobu Takata, Ayako Kitano, Hideo Nakajima, Naohisa Tomosugi, Kazuyuki Kawakami, Toshinari Minamoto, Yoshiharu Motoo (島崎猛夫, 石垣靖人, 夏 啓勝, 高田尊信, 北野綾子, 中島日出夫, 友杉直久, 川上和之, 源 利成, 元雄良治). Chemotherapy-induced changes in morphology and invasion ability of pancreatic cancer cells (化学療法剤により誘導される膵癌細胞の形態と浸潤性の変化. 第68回日本癌学会総会学術集会, 2009年10月1-3日, 横浜.
8. Ayako Kitano, Takeo Shimasaki, Yasuhito Ishigaki, Yuri Chikano, Mingji Jin, Ken-ichi Miyamoto, Yoshiharu Motoo, Kazuyuki Kawakami, Toshinari Minamoto (北野綾子, 島崎猛夫, 石垣靖人, 近野祐里, 金 明姫, 宮本謙一, 元雄良治, 川上和之, 源利成). Pathological roles for glycogen synthase kinase (GSK) 3 β in proliferation and motility of pancreatic cancer cells (膵がん細胞の増殖と細胞運動におよぼす glycogen synthase kinase (GSK) 3 β の病的作用). 第68回日本癌学会総会学術集会, 2009年10月1-3日, 横浜.
9. Mingji Jin, Kazuyuki Kawakami, Yasuhito Ishigaki, Abbas Shakoori, Ayako Kitano, Yuri Chikano, Takeo Shimasaki, Yoshiharu Motoo, Toshinari Minamoto (金 明姫, 川上和之, 石垣靖人, シャクーリ アッバス, 北野綾子, 近野祐里, 島崎猛夫, 元雄良治, 源 利成). Glycogen synthase kinase (GSK) 3 β sustains colon cancer cells survival by modulating JNK-mediated pathway. 第68回日本癌学会総会学術集会, 2009年10月1-3日, 横浜.
10. 川上和之, 源 利成. DNA メチル化マーカーによる大腸がんの予後・抗癌剤感

受性診断. 第 17 回日本消化器関連学会週間 (JDDW 2009) / 第 51 回日本消化器病学会大会: シンポジウム 6. 消化器癌におけるエピジェネティクス, 2009 年 10 月 14-17 日, 京都.

11. 中田光俊, 林 裕, 喜多大輔, 宮下勝吉, 玉瀬 玲, 上出智也, 田中慎吾, 林 康彦, 内山尚之, 源 利成, 濱田潤一郎. 再発神経膠芽腫に対する GSK3 β を分子標的とした Phase I/II 臨床試験. 第 68 回日本脳神経外科学会総会: シンポジウム, 2009 年 10 月 14-16 日, 東京.
12. 山下 要 (優秀賞), 藤田秀人, 伴登宏行, 川上和之, 西村元一, 源 利成. ヒト消化管がん組織検体資源化の試み: がん研究とがんの個別化医療への応用. 第 47 回日本がん治療学会総会学術集会: 優秀演題, 2009 年 10 月 22-24 日, 横浜.
13. 川上和之, 源 利成. LINE-1 メチル化解析による大腸がんの予後・抗癌剤感受性診断. 第 20 回消化器癌発生学会総会: シンポジウム (3) 消化器癌診断の新展開, 2009 年 11 月 26-27 日, 広島.
14. 島崎猛夫 (最優秀賞), 石垣靖人, 高田尊信, 北野綾子, 夏 啓勝, 友杉直久, 川上和之, 源 利成, 元雄良治. GSK3 β 阻害による抗がん剤誘導性上皮-間葉移行の制御に基づく新規膀胱癌治療ストラテジー. 第 20 回消化器癌発生学会総会: シンポジウム (2) 消化器癌治療の新展開, 2009 年 11 月 26-27 日, 広島.
15. 北野綾子, 島崎猛夫, 東 朋美, 近野祐里, 石垣靖人, 元雄良治, 宮本謙一, 川上和之, 源 利成. GSK3 β による膀胱がん細胞の増殖と浸潤の制御. 第 20 回消化器癌発生学会総会: ミニシンポジウム (5) - 3 消化器癌の分子基盤: 浸潤・転移-3, 2009 年 11 月 26-27 日, 広島.

座 長

16. 源 利成. 一般演題 (口演): がん転移抑制. 第 68 回日本癌学会総会学術集会, 2009 年 10 月 1-3 日, 横浜.
 - O-055 Fumitaka Takeshita, Takahiro Ochiya (竹下文隆, 落谷孝広). Studies on RNA interference-mediated inhibition of cancer metastasis (RNA interference を応用したがん転移抑制効果の検討).
 - O-056 Masa-aki Shibata, Junji Morimoto, Yoshinori Ohtsuki (柴田雅朗, 森本純司, 大槻勝紀). Suppression of metastasis by combination therapy with siRNA vectors against VEGF-C and -A in mouse mammary cancer model (VEGF-C ないしは VEGF-A を標的とする siRNA ベクター複合投与によるマウス乳癌モデルでのリンパ節・肺転移の抑制).
 - O-057 Yu Ohkubo, Mayumi Iwama, Ken-ichiro Seino, Takashi Imai (大久保 悠, 岩川 眞由美, 清野研一郎, 今井高志). Combined therapy of Carbon-ion irradiation and immunotherapy inhibit lung metastases in an in vivo murine model (マウス腫瘍モデルにおける炭素イオン線と免疫療法併用による肺転移抑制効果).
 - O-058 Ikumi Sugiyama, Yasuyuki Sadzuka (杉山育美, 佐塚泰之). Inhibition of hepatic metastasis by DOX contained DDA-PEG modified liposome in murine sarcoma model (マウス卵巣肉腫細胞肝転移に対する DDA-PEG 修飾リポソームの抑制効果).
17. 源 利成. 第 22 回教育講演会. 第 109 回日本消化器病学会北陸支部例会, 2009 年 11 月 15 日, 石川県能美市.
西村元一. 大腸癌の標準的化学療法

18. 源 利成. ミニシンポジウム (5)-3 消化器癌の分子基盤：浸潤・転移－3. 第20回消化器癌発生学会総会, 2009年11月26-27日, 広島.

MS (5)-3-1. 羅 奕, 藤井 澄, 梶原義典, 佐藤真吾, 國安広基. 脂肪酸の大腸癌転移に及ぼす影響.

MS (5)-3-2. 大森 斉, 大家理伸, 森若優希子, 笹平智則, 立本直邦, 國安広基. 大腸癌のアンギオテンシン活性化能は肝転移と相関する.

MS (5)-3-3. 小林 力, 鈴木秀樹, 久保憲生, 新木健一郎, 矢島俊樹, 和田 渉, 堤 莊一, 志村龍男, 桑野博行. 膵癌細胞株における galectin-3 の役割.

MS (5)-3-4. 北野綾子, 島崎猛夫, 東 朋美, 近野祐里, 石垣靖人, 元雄良治, 宮本謙一, 川上和之, 源 利成. GSK3 β による膵がん細胞の増殖と浸潤の制御.

MS (5)-3-5. 新木健一郎, 鈴木秀樹, 久保憲生, 小林 力, 矢島俊樹, 和田 渉, 堤 莊一, 末廣剛敏, 志村龍男, 浅尾高行, 桑野博行. 胆管癌における E/N-cadherin functional switch を介した腫瘍進展の検討.

その他

19. 源 利成 (依頼). 発がん学, がん医科学とがん医療—消化器がんを中心に—. がんにおける質の高い看護師育成研修会, 2009年1月20日, 金沢大学附属病院, 金沢.

20. 源 利成 (依頼). がんの医学と研究. 石川県立金沢泉丘高等学校 SSH (Super Science High School) 模擬講義, 2009年1月30日, 金沢大学医学部, 金沢.

21. 源 利成 (招請). 糖尿病, 精神神経疾患とがんを繋ぐ疾患マーカーの同定. 第34回北陸臨床病理集談会第17回セミナー, 2009年9月26日, 金沢.

22. 源 利成 (招請). Wnt 関連経路の制御破綻と消化器がんの病態, 治療. 第7回福岡外科セミナー, 2009年10月16日, 福岡.