

がん幹細胞研究プログラム

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2025-05-07 キーワード: 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/0002002564

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License.



がん幹細胞研究プログラム

Division of Molecular Genetics

遺伝子・染色体構築研究分野

Professor	Atsushi Hirao 平尾 敦
Assistant Professors	Yuko Tadokoro 田所優子, Masahiko Kobayashi 小林昌彦, Masaya Ueno 上野将也, Mahmoud Ibrahim Shoulkamy
Postdoctoral Researcher	Kenta Kurayoshi 倉吉健太, Youngwei Jing
Graduate Students	Hiroki Gugiyama 杉山雄紀, Xi Chen, Yihang Gu, Yuhang Yan, 周美琦
Assistant Staff	Kazue Sawa 澤和恵, Yukiko Takai 高井由紀子

【 Abstract 】

Nutrients undergo conversion into smaller molecules within the body, serving as crucial components for both anabolic and catabolic metabolic reactions. The coordinated regulation of these processes is paramount for sustaining life. Our group is committed to pioneering innovative therapeutics for malignant brain tumors and myeloid leukemias. We aim to achieve this by identifying nutrient metabolic pathways that characterize malignancy, focusing on the transcription factor families FOXO and MiT/TFE, critical in governing autophagy and lysosomal biogenesis.

Utilizing gene expression profiling and differentiation marker-based CRISPR/Cas9 screening, we identified TRIB1 as a functional FOXO downstream gene crucial for maintaining an undifferentiated status in acute myeloid leukemia (AML). We designed a DNA-binding pharmacological inhibitor using pyrrole-imidazole polyamides (PIPs), specifically binding to the FOXO-responsive element (FRE) in the TRIB1 promoter. Treatment with FRE-PIPs inhibited leukemia progression, promoting cell differentiation without notable adverse effects, presenting a promising therapeutic strategy (Kurayoshi K., *Cell Death Dis.* 2023, **Figure**).

Recent investigations highlight the pivotal role of metabolic organelles, such as mitochondria, in cancer development and malignant progression (Noguchi M., *Cell Death Dis.* 2023). We found that lysosomal activity emerges as a metabolic biomarker of tumorigenesis, influencing therapeutic efficacy in glioblastoma (GBM). Mechanistic studies revealed the TFE-lysosome axis as a regulator of metabolic status, contributing to the malignant signature and tolerance to temozolomide (TMZ) in GBM. Our findings identified a critical amino acid central to preserving lysosomal membrane integrity, protecting GBM cells from lysosomal damage. We successfully developed a novel lysosome-targeting therapeutic strategy by manipulating the amino acid balance in GBM cell (Jing W., *submitted*).

In addition, for the advancement of diagnosing and treating age-related diseases, several projects are currently underway. (1) Identification of biomarkers for aging: Conducting metabolomic analyses on biological samples from middle-aged and older adults to identify biomarkers of aging. (2) Establishing new analysis methods for NAD⁺ metabolism. (3) Research on the immune response of hematopoietic stem cells during aging. Through these comprehensive research initiatives, our goal is to contribute significantly to the establishment of a healthier society.

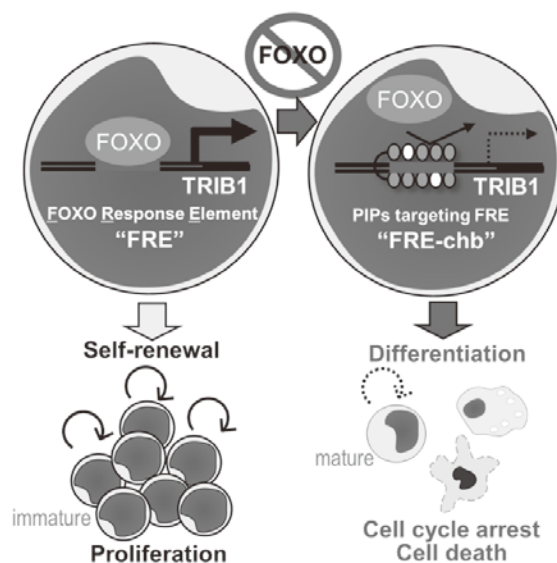
＜2023 年の研究成果，進捗状況及び今後の計画＞

様々な生体活動において，タンパク質，糖，脂質，ビタミン，ミネラル等の栄養素の摂取およびその代謝調節は極めて重要な役割を果たす。我々は，このような栄養代謝調節の観点から幹細胞の動態およびがんの悪性化制御機構を理解したいと考え，研究を進めている。特に，転写因子 FOXO，MiT/TFE ファミリーなど，オートファジーおよびリソソーム経路における重要な分子を同定することにより，悪性脳腫瘍や骨髄性白血病に対する革新的な治療法の開発を進めている。

本年は，遺伝子発現プロファイリングと分化マーカーに基づく CRISPR/Cas9 スクリーニングを利用し，未分化状態を維持するのに重要な機能的 FOXO 下流遺伝子として TRIB1 を同定した。TRIB1 プロモーター中の FOXO 応答性エレメント (FRE) を同定し，さらに特異的に結合する DNA 結合阻害剤 (pyrrole-imidazole polyamides : PIP) を作製した。FRE-PIP による治療は腫瘍の進行を抑制し，顕著な副作用なしに細胞の分化を誘導するなど，有望な治療戦略であることを示した (Kurayoshi K., *Cell Death Dis.* 2023) (図)。

最近の研究で，がんの発生と悪性化における細胞小器官の役割が解明されつつある (Noguchi M., *Cell Death Dis.* 2023)。私たちは，悪性膠芽腫 (GBM) におけるリソソーム活性は，腫瘍形成の代謝バイオマーカーであること，転写因子 TFE が悪性形質を司る代謝制御因子であり，テモゾロミド (TMZ) に対する耐性にも寄与していることを見いだした。さらに，リソソーム障害から守るために重要な役割を果たすアミノ酸を同定した。本研究により，アミノ酸バランスを操作することは新規治療法開発に有用なアプローチであることを明らかにした (投稿中)。

上記に加えて，加齢随伴疾患の診断・治療開発のため，①一般の中高年の生体試料に含まれる代謝産物 (低分子化合物) をメタボローム技術にて解析し，老化バイオマーカーの同定する，②慢性炎症を伴う老化表現型に深く関わる NAD⁺代謝の新規解析法の確立と臨床的意義の理解を通して，加齢に伴う代謝異常の診断法の開発と社会実装を進める，③造血幹細胞の老化における免疫反応に関する研究を進めるなどのプロジェクトを実施している。これらの研究を通して，老化の予防，診断，介入の観点から，健康社会の形成に貢献することを目標としている。



Critical roles of FOXO in leukemia stem cells

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著

(分野主体)

1. Kurayoshi K, Takase Y, Ueno M, Ohta K, Fuse K, Ikeda S, Watanabe T, Nishida Y, Horike SI, Hosomichi K, Ishikawa Y, Tadokoro Y, Kobayashi M, Kasahara A, Jing Y, Shoulkamy MI, Meguro-Horike M, Kojima K, Kiyoi H, Sugiyama H, Nagase H, Tajima A, Hirao A. Targeting cis-regulatory elements of FOXO family is a novel therapeutic strategy for induction of leukemia cell differentiation. *Cell Death Dis.* 2023,14(9):642.
2. Noguchi M, Kohno S, Pellattiero A, Machida Y, Shibata K, Shintani N, Kohno T, Gotoh N, Takahashi C, Hirao A, Scorrano L, Kasahara A. Inhibition of the mitochondria-shaping protein Opa1 restores sensitivity to Gefitinib in a lung adenocarcinoma resistant cell line. *Cell Death Dis.* 2023, 14(4):241.

(共同研究)

3. Nomura M, Ohuchi M, Sakamoto Y, Kudo K, Yaku K, Soga T, Sugiura Y, Morita M, Hayashi K, Miyahara S, Sato T, Yamashita Y, Ito S, Kikuchi N, Sato I, Saito R, Yaegashi N, Fukuhara T, Yamada H, Shima H, Nakayama KI, Hirao A, Kawasaki K, Arai Y, Akamatsu S, Tanuma SI, Sato T, Nakagawa T, Tanuma N. Niacin restriction with NAMPT-inhibition is synthetic lethal to neuroendocrine carcinoma. *Nat Commun.* 2023, 14:8095.
4. Arakawa H, Nakazono Y, Matsuoka N, Hayashi M, Shirasaka Y, Hirao A, Tamai I. Induction of open-form bile canaliculus formation by hepatocytes for evaluation of biliary drug excretion. *Commun Biol.* 2023, 6(1):866.
5. Tamai S, Ichinose T, Jiapaer S, Hirai N, Sabit H, Tanaka S, Kinoshita M, Kobayashi M, Hirao A, Nakada M. Therapeutic potential of pentamidine for glioma-initiating cells and glioma cells through multimodal antitumor effects. *Cancer Sci.* 2023,114(7):2920-2930.
6. Fukasawa K, Lyu J, Kubo T, Tanaka Y, Suzuki A, Horie T, Tomizawa A, Osumi R, Iwahashi S, Tokumura K, Murata M, Kobayashi M, Todo T, Hirao A, Hinoi E. MEK5-ERK5 Axis Promotes Self-renewal and Tumorigenicity of Glioma Stem Cells. *Cancer Res Commun.* 2023, 3(1):148-159.

< 学会発表 >

1. Hirao A: Cell fate determination by diet and immune system in hematopoiesis. 2023 Normal/Malignant Hematopoiesis and Novel Therapies for Hematologic Malignancies Symposium. 2023年2月22日, ハワイ
2. Hirao A: Cell fate decision by metabolic regulation in normal and malignant hematopoiesis Korea-Japan Blood and Vessel Symposium 2023年7月11日, 熊本

3. Hirao A: Metabolic Organelle Dynamics on Cell Fate Determination. India – Japan Cancer Symposium, 2023 年 7 月 25 日, 金沢
4. Tadokoro Y, Hirao A: Regulation of hematopoietic stem cell aging by adaptive immunity. 第 20 回幹細胞シンポジウム, 2023 年 5 月 19 日, 淡路島
5. 田所優子: 造血幹細胞競合のシステム変容と造血老化, 学術変革領域研究 (A)「競争的コミュニケーションから迫る多細胞生命システムの自律性」第 3 回 領域班会議, 2023 年 9 月 8 日, 博多
6. 田所優子: 造血幹細胞エイジング制御機構の理解とその破綻による慢性炎症疾患誘導機構の解明, AMED-JST 合同キックオフ会議, 2023 年 11 月 19 日, WEB 開催
7. 上野 将也, 平尾 敦: リソソーム活性に依存した白血病分化制御機構の解明と新規治療法の開発, 第 27 回 造血器腫瘍研究会, 2023 年 1 月 19 日 (木)・20 日, 広島
8. 上野 将也, 倉吉 健太, 平尾 敦: 白血病細胞はリソソームが制御するクロマチンリモデリングにより分化から回避している第 9 回 がん代謝研究会, 2023 年 5 月 31 日-年 6 月 1 日, 愛媛
9. Ueno M, Kurayoshi K, Pham LT, Hirao A: Lysosomes suppress leukemia cell differentiation via chromatin remodeling, 第 85 回日本血液学会学術総会, 2023 年 10 月 13 日-15 日, 東京
10. Ueno M, Kurayoshi K, Pham LT, Hirao A: Lysosomes suppress leukemia cell differentiation via chromatin remodeling, 第 82 回日本癌学会学術総会, 2023 年 9 月 21 日-23 日, 神奈川
11. Kobayashi M, Jing Y, Hirao A: Tumor microenvironment factor regulates malignant properties through transcription networks in glioblastoma, 第 82 回日本癌学会学術総会, 2023 年 9 月 21 日-9 月 23 日, 横浜
12. Jing Y, Kobayashi M, Hirao A: Therapeutic advantage of targeting lysosome as signaling hub for metabolic conditions in malignant gliomas, American Association for Cancer Research Annual Meeting 2023; 2023 Apr 14-19; Orlando, USA.

<特許出願>

特願 2023-120148 FOXO 阻害剤, 及び医薬組成物

国立大学法人金沢大学, 学校法人順天堂 (2023 年 7 月 24 日)

<外部資金>

1. 平尾敦: 基盤研究 (B) R5~R7 年度「代謝調節によるがんステムネス制御の分子基盤」5,400 千円
2. 平尾敦: 挑戦的研究 (萌芽) R5~R6 年度「造血幹細胞老化制御機構の解明と介入法の開発」2,000 千円
3. 平尾敦: 次世代がん医療加速化研究事業 R4~R5 年度「悪性化に伴う栄養代謝制御を標的とした革新的がん創薬に関する研究開発」33,000 千円

4. 平尾敦：R5 年度学際領域展開ハブ形成プログラム「加齢に伴う代謝・免疫調節機構の解明と介入法の開発」 800 千円
5. 田所優子：基盤研究 (C) R4～R6 年度「加齢に伴う造血幹細胞ニッチ変容の解明」 1,100 千円
6. 田所優子：学術変革領域研究 (A) R4～R5 年度「造血の加齢変化における幹細胞競合パラドックスの解明」 4,300 千円
7. 田所優子：日本血液学会 2023 年度研究助成「免疫環境による造血制御機構の解明」 1,000 千円
8. 田所優子：金沢大学戦略的研究経費 先魁プロジェクト 2022 (分担) R4～R5 年度「先進的な健康長寿延伸医療の開発を目指した老化メカニズムの解明」 1,500 千円
9. 田所優子：AMED-PRIME, R5～R8 年度「造血幹細胞エイジング制御機構の理解とその破綻による慢性炎症疾患誘導機構の解明」 7,000 千円
10. 小林昌彦：基盤研究 (C) R5～R7 年度「組織環境を介した可塑性によって規定される治療抵抗性の分子基盤」 1,300 千円
11. 上野将也：基盤研究 (C) R5～R7 年度「がんの悪性形質獲得におけるがん特異的ニコチンアミド代謝経路の機能解析」 1,820 千円
12. 倉吉健太：基盤研究 (C) R5～7 年度「リソソーム-鉄経路が規定する白血病幹細胞特異的な遺伝子発現制御機構の特定」 1,200 千円
13. Jing Yongwei：若手研究 R5～6 年度「リソソームによる膠芽腫悪性化の制御機構」 1,800 千円

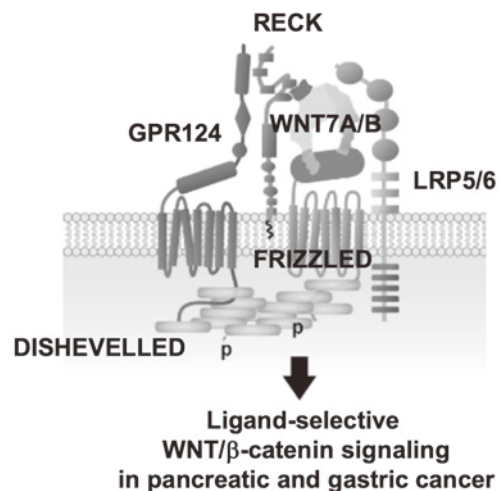
Division of Oncology and Molecular Biology

腫瘍分子生物学研究分野

Professor	Chiaki Takahashi 高橋 智聡
Assistant Professors	Susumu Kohno 河野 晋 Santosh Kumar Gothwal (新学術創成研究機構) Nakayama Joji 中山 淨二
Graduate Students	Yu Hai 余 海, Gong Linxiang 龔 麟祥, Zhang Yuanyuan 張 園園, Zhang Zixue 張 子雪 (~2022.3.31) , Yu Jinghui 于 靖暉 (~2022.3.31) , Renata Akhmetzianova, Quan Ruifang 權 瑞方 (~2022.9.30) , Yu Peifu 于 沛夫, Nada Hamdy Mohamed Hussein, Yao Ziheng 姚 子衡 , Pan Junjian 潘 俊堅 , Sarah Momtazkari, Tu Hongxin 塗 宏鑫 (2023.4.1~) , Gao Keqi 高 科奇 (2023.4.1~) , Lu Tong 盧 彤 (2023.10.1~) , HUANG YAO 黃 堯 (2023.10.1~)
Technical Assistant	Naoko Nagatani 永谷 直子

【 Abstract 】

We obtained rationales to expand the usage of CDK4/6 inhibitors to KRAS PDAC in which RB1 is prevalently intact. We found CDK4/6 or CDK2/4/6 inhibitors induce SASP-high senescence in an RTK-dependent manner however KRAS inhibitors induce SASP-low although both promotes RB1 under-phosphorylation with a similar kinetics. We assessed the influence of STK11/LKB1 and KEAP1 status on the sensitivity by which RB1-intact KRAS LUAD respond to a KRAS inhibitor AMG510. We explored number of promising therapeutic targets in RB1-inactive tumors including centrosomal mitotic kinases including AURKA, fatty acid elongation enzymes including ELOVL6 and a novel mitochondrial cholesterol-binding protein. We clarified the mechanism whereby mammary epithelial cells resist to carcinogenesis caused by RB1 deficiency. In collaboration with Jikei University School of Medicine, we identified a considerable percentage of RB1-SUCLA2-deleted



cases in Japanese advanced PC patients. We are developing a diagnostic kit using ctDNA in blood. 2-isopropyl-5-methylbenzo-1,4-quinone (Thymoquinone; TQ) had appeared to exhibit therapeutic effects on SUCLA2-negative PC. We identified four enzymes that bind to TQ, and so far, detected that two of them are indeed inhibited by TQ. We will newly develop inhibitors to one of these enzymes aiming to treat SUCLA2-deficient tumors. RECK appeared to cooperate with GPR124 to regulate the ligand selective WNT signaling in PDAC and GC (Figure). RECK was found to be downregulated in CAFs trained by neighboring BC cells. Loss of RECK in CAF seems to support the malignant progression of BC through MMPs and exosomes. We are investigating a metabolic gene involved in BC metastasis using a Zebrafish gastrulation system.

<2023 年の成果、進行状況と今後の計画・展望>

CDK4/6 阻害剤を KRAS 膵臓がんに適応拡大するラショナルレを探索した。CDK4/6 ないし CDK2/4/6 阻害剤と KRAS 阻害剤によって同様のキネティクスで RB1 無リン酸化状態と細胞老化が誘導されたが 随伴する SASP の様態が全く異なることがわかった。KRAS 肺がんの KRAS^{G12C} 阻害剤 AMG510 への感受性発揮において STK11/LKB1 と KEAP1 の同時欠失が与える影響を腫瘍微小環境も含め検討した。RB1 不活性化がん克服のため、AURKA を含むセントロソーム M 期キナーゼ群、ELOVL6 を含む脂質酸伸長酵素群等の治療標的としての有効性を検討した。RB1 依存的な細胞分化に関わる新規 cholesterol 標的蛋白質の機能を探索した。正常乳腺上皮が RB1 不活性化による発がんに抵抗する機序を明らかにした。進行前立腺がんにおいて RB1-SUCLA2 染色体領域の広範な欠失が起こること、および、2-isopropyl-5-methylbenzo-1,4-quinone (Thymoquinone; TQ)がこのタイプの患者に有効である可能性を報告している。この化合物に結合する代謝酵素 4 種を同定、うち 2 種が TQ による活性阻害を受けることを見出した。今後 TQ 結合蛋白質に対する新規阻害剤の開発を展開する。東京慈恵会医科大学泌尿器科との共同研究により進行前立腺がん患者血中 ctDNA による SUCLA2 欠失迅速診断キットの開発を行った。RECK と GPR124 の結合が膵臓がんおよび胃がんの WNT シグナルを制御するメカニズムを探索した (図)。乳がん CAF における RECK の発現が同がん腫の挙動に与える影響も検討した。ゼブラフィッシュ系を用い乳がん転移に関わる代謝酵素を発見、この阻害剤の開発につながる POC の蓄積を目指す。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著論文

(研究室主体)

1. Okada N, Ueki C, Shimazaki M, Tsujimoto G, Kohno S, Muranaka H, Yoshikawa K and Takahashi C. NFYA promotes the malignant behavior of triple-negative breast cancer through the regulation of lipid metabolism. *Commun Biol.*, 6(1):596, 2023. doi: 10.1038/s42003-023-04987-9

(共同研究)

1. Noguchi M, Kohno S, Pellattiero A, Machida Y, Shibata K, Shintani N, Kohno T, Gotoh N, Takahashi C, Hirao A, Kasahara A, and Scorrano L. Inhibition of the mitochondria-shaping protein Opa1 restores sensitivity to Gefitinib in a lung adenocarcinoma resistant cell. *Cell Death & Disease.*, 14(4):241, 2023. doi: 10.1038/s41419-023-05768-2
2. Noyes C, Kitajima S, Li F, Suita Y, Miriyala S, Isaac S, Ahsan N, Knelson E, Vajdi A, Tani T, Thai TC, Xu D, Murai J, Tapinos N, Takahashi C, Barbie DA and Yajima M. The germline factor DDX4 contributes to the chemoresistance of small cell lung cancer cells. *Commun. Biol.*, 6(1):65., 2023. doi: 10.1038/s42003-023-04444-7
3. Inaba Y, Hashiuchi E, Watanabe H, Kimura K, Oshima Y, Tsuchiya K, Murai S, Takahashi C, Matsumoto M, Kitajima S, Yamamoto Y, Honda M, Asahara S, Ravnskjaer K, Horike S, Kaneko S, Kasuga M, Nakano H, Harada K, and Inoue H. The transcription factor ATF3 switches cell death from apoptosis to necroptosis in hepatic steatosis in male mice. *Nat. Commun.*, 14(1):167, 2023. doi: 10.1038/s41467-023-35804-w
4. Ma M, Wu M, Gu S, Yang J, Wang C, Zhang Y, Cheng S, Xu S, Zhang M, Wu Y, Zhao Y, Tian X, Takahashi C, Sheng J, and Wang Y. Inactivation of CSGALNACT2 Promotes Ovarian Cancer Migration and Invasion Through the MAPK/ERK Signaling Pathway. *Cellular Oncol.*, 2023. (accepted)

(著書・総説)

1. 河野晋. 実験医学 News and Hot Paper Digest 「がんの100年来の謎に絶対定量で迫る」 Vol.41 No.8 p1301-1302, 2023 早野 元詞, 寺尾 知可史 編, 羊土社刊

<学会発表>

1. 高橋智聡. 新学術創成研究機構ワークショップ「生体恒常性維持を担う生理機能研究の最先端の知見とその解析技術の融合へ向けて」, 2023年2月20日(金沢市/金沢大学宝町キャンパス 口頭)
2. 張園園. PDAC resists to CDK inhibition therapy through cellular senescence depending on EGFR signaling. 第5回がんと代謝研究会・若手の会, 2023年4月26日(金沢市/金沢大学がん進展制御研究所 4/26-27 口頭)
3. 龔麟祥. RB loss induces quiescent state in MCF10A cells through RAS inactivation. 第5回がんと代謝研究会・若手の会, 2023年4月26日(金沢市/金沢大学がん進展制御研究所 4/26-27 口頭)
4. Okahashi N, Shima T, Kondo Y, Araki C, Tsuji S, Sawai A, Uehara H, Kohno S, Shimizu H, Takahashi C, and Matsuda F. ¹³C-metabolic flux analysis and flux balance analysis indicates the role of aerobic glycolysis in cultured cancer cell as ATP supply avoiding excess heat generation. Metabolic Engineering Conference, 2023年6月13日(Singapore/Marina Bay Sands 6/11-15 口頭)
5. Zhang Y, Gothwal KS, Kohno S and Takahashi C. The mechanism whereby PDAC resists to CDK inhibition. 第82回日本癌学会学術総会, 2023年9月21日(横浜市/パシフィコ横浜 9/21-23 口頭)
6. 河野晋, 高橋智聡. 2-OG代謝を標的としたRB-SUCLA2欠失前立腺がん治療法の確立. 第82回日本癌学会学術総会, 2023年9月21日(横浜市/パシフィコ横浜 9/21-23 口頭)
7. 上原将大, 竹中哲, 堂本貴寛, 堀家慎一, 高橋智聡, 宮下知治, 源利成. ゲムシタビン耐性腺がんにおける Cyclin D2 の過剰発現と治療標的としての可能性. 第82回日本癌学会学術総会, 2023年9月21日(横浜市/パシフィコ横浜 9/21-23 ポスター)
8. Yamazaki M, Li M, Nishimura T, Takamatsu S, Gabata T, Ueno M, Hirao A, Kohno S, Takahashi C, Horie K, Ikeda K, Inoue S, Gotoh N. Targeting FXYD3 positive cancer stem cells in radio-resistance. 第82回日本癌学会学術総会, 2023年9月22日(横浜市/パシフィコ横浜 9/21-23 ポスター)
9. Momtazkari S, Koo JK, Choudhury AD, Le TD, Tan TZ, Mori S, Hazawa M, Wong RW, Harada K, Takahashi C, Ito Y, Voon DC. RUNX3 and p53 act cooperatively to induce S100A2 in gastric epithelial cells in response to DNA damage. 第82回日本癌学会学術総会, 2023年9月23日(横浜市/パシフィコ横浜 9/21-23 ポスター)
10. Nakayama J. Zebrafish embryo screen utilizing gastrulation identifies anti-metastasis

- drugs. 第 18 回生命医科学研究所ネットワーク国際シンポジウム, 2023 年 10 月 6 日 (東京都/東京医科歯科大学 10/5-6 ポスター)
11. Kamel W, Chen Y, Sada A, Tabata Y, Sakaguchi Y, Tajima T, Takahashi C and Ohki R. Induction of an Undifferentiated State in Medullary Thyroid Carcinoma through Dual Inactivation of Rb-PHLDA3 in Parafollicular C Cells. 10th International MDM2 Workshop, 2023 年 10 月 15 日 (東京都中央区/国立がん研究センター 研究所 10/15-18 ポスター)
 12. 高橋智聡. 膵がんの CDK 阻害剤耐性発現機構. 第 61 回日本癌治療学会学術集会, 2023 年 10 月 21 日 (横浜市/パシフィコ横浜 10/19-21 口頭)
 13. Takahashi C. Targeting RB1 status in cancer. Gynecologic Oncology Symposium, 2023 年 11 月 1 日 (中国上海市/Shanghai First Maternity and Infant Hospital)
 14. 高橋智聡. KRAS 阻害剤の基礎. 日本放射線腫瘍学会第 36 回学術大会, 2023 年 12 月 1 日 (横浜市/パシフィコ横浜 11/30-12/2 口頭 招待)

<外部資金> (2023 年度/ R5 年度が含まれる課題)

高橋智聡

1. 科学研究費補助金 基盤研究 (B) R2~R5 年度「RB がん抑制遺伝子の代謝制御機能」(代表) 3,300 千円
2. 2023. Cancer Council SA Beat Cancer Project Research Project Grant App ID: 2018775. (Australia)
A novel model to investigate the role of high fat diet in breast cancer predisposition. (分担)
CIs: S Kumar, L Dorstyn, C Takahashi. AU\$75,000 (総額)

Santosh Kumar Gothwal

1. 科学研究費補助金 若手研究 R3~R5 年度「Different roles of C/EBP-alpha in chromosome conformation during lung injury of young and old mice.」(代表) 800 千円

中山 淨二

1. 科学研究費補助金 基盤研究 (C) R3~R5 年度「乳がん細胞内の HSD11β1 によるホルモン生産が転移を亢進する分子機構の解明」(代表) 700 千円
2. 高橋産業経済研究財団助成金 R5 年度「乳がん細胞のホルモン自立産生機構を標的とした治療戦略の開発」(代表) 2,000 千円

Division of Cancer and Senescence Biology

がん・老化生物学研究分野

Professor	Yoshikazu Johmura 城村由和
Associate Professor	Tomohisa Baba 馬場智久
Assistant Professor	Yasuhiro Nakano 中野泰博
Technical Assistant	Yoshie Jomen 定免由枝
Graduate Students	Borui Lee 李博睿(D1)、Zixue Zhang 張子雪(D1)、 Gao Keqi 高科奇(M1)
Undergraduate Students	Ryota Kobori 小堀良太(B3)、Yuta Moriguchi 森口裕太(B3)

【 Abstract 】

We aim to elucidate the molecular mechanisms of induction, maintenance, and function of senescent cells *in vivo*, and to develop innovative approaches to control senescent cells (Senotherapy), such as selective removal of senescent cells and cell rejuvenation by altering epigenomic information. In this year, we focused our research on the following two issues.

【1】 Pre-existed senescent fibroblasts in aged bladder create tumor permissive niche

Aging is a major risk factor for cancer, but the precise mechanism by which aging promotes carcinogenesis remains largely unknown. Here, using transgenic mouse models, we demonstrate that p16-positive senescent fibroblasts (p16h-sn fibroblasts) accumulate with age, constitute inflammatory cancer-associated fibroblasts (iCAFs), and promote tumor growth in bladder cancer models. Single-cell RNA sequencing of fibroblasts in aged mice revealed higher expression of Cxcl12 in p16h-sn fibroblasts than in p16-negative fibroblasts. We identified the high expression of Smoc2, Gucy1a1 (Gucy1a3), Cxcl12, Crisp1d2, Gas1, and Lum as a p16-positive senescent CAFs (p16h-sn CAFs) signature in both mouse and human. Importantly, the p16h-sn CAFs signature is associated with age and poor prognosis of both advanced and non-advanced bladder cancer patients. In conclusion, our results suggest that p16h-sn fibroblasts in aged bladder serve as a cancer permissive niche and promote tumor growth by secreting CXCL12 (Meguro S et al, In revision).

【2】 Cellular senescence-mediated irreversible differentiation in myeloid leukemia

Cell cycle inhibition is essential process in cellular senescence induction. On the other hand, it was reported that cell proliferation signals, MAPK and mTOR signaling pathway, are contradictorily activated in the senescent cells. A concept "Geroconversion" has been proposed to suggest that the simultaneous activation of this positive and negative cell cycle-related signaling pathways is crucial for induction of cellular senescence, but its molecular mechanism

has been elusive. In this study, we found that simultaneous induction of Erk-MAPK signaling activation by all-trans retinoic acid (ATRA), a clinically used leukemia therapeutic agent, and CDK4/6 inhibitor-mediated cell cycle inhibition, induced an irreversible cell cycle arrest by promoting myeloid cell differentiation. This strongly suggests that a molecular biological phenomenon similar to geroconversion is deeply involved in this irreversible leukemic cell differentiation.

<2023年の研究成果，進捗状況及び今後の計画>

1. 加齢に伴い膀胱内に蓄積した老化細胞が膀胱がんにも及ぼす影響の解析

加齢はがんの主要なリスクファクターである一方、加齢ががんの悪性進展化を制御する詳細なメカニズムは不明な点が多い。私たちは細胞老化のマーカーである p16 のプロモーター活性を指標とした老化細胞可視化マウスを用いて、p16 陽性の老化線維芽細胞が加齢とともに蓄積し、炎症を伴うがん関連線維芽細胞を構成し、膀胱がんモデルで腫瘍成長を促進することを明らかにした。加齢マウスの膀胱を用いた単一細胞 RNA シークエンシングにより、p16 陰性線維芽細胞よりも p16 陽性線維芽細胞で Cxcl12 の発現が高いことが分かった。さらに、マウスとヒトにおいて、Smoc2、Gucyl1a1、Cxcl12、Crispld2、Gas1、Lum の高発現が p16 陽性老化がん関連線維芽細胞の特徴であることを同定した。重要なことに、p16h-sn CAF の特徴は、進行性および非進行性膀胱がん患者の年齢と不良な予後と関連した。以上の検討結果により、加齢した膀胱内の p16 陽性の老化線維芽細胞ががん許容ニッチとして機能し、CXCL12 を分泌することにより腫瘍成長を促進することが示唆された (Meguro S et al, In revision)。

2. 骨髄性白血病に対する細胞老化を介した不可逆的な骨髄球分化誘導法の開発

細胞老化誘導機序において、細胞周期を抑制することの重要性は広く知られているが、これとは矛盾して老化細胞では細胞増殖を誘導する MAPK シグナルや mTOR シグナルが活性化されていることが知られている。この細胞周期に関わる正と負のシグナル経路の同時的活性化が細胞老化の誘導に重要であるとする概念「Geroconversion」が提唱されているが、分子生物学的に解明されていない。本研究では、ヒト急性骨髄性白血病細胞を用いた解析から、白血病治療薬として臨床的に用いられている all-trans retinoic acid (ATRA) による Erk-MAPK シグナルの活性化と CDK4/6 阻害剤による細胞周期の抑制を同時に誘導することで、骨髄球分化を促進することを見出した。すなわち、この不可逆的な白血病細胞分化に geroconversion に類似した分子生物学的現象が深く関与していることが強く示唆された。

3. 今後の計画

老化細胞可視化・除去マウスを用いて、特に肝疾患・血液がんを中心に、がん組織及びその周辺組織の老化細胞の全体像を明らかにすることで、個体老化とがんの発症率増加・悪性化進展のメカニズムを解明する。また、老化細胞の若返り機構の解明も目指す。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著

(研究室主体)

1. Li D, Johmura Y, Morimoto S, Doi M, Nakanishi K, Ozawa M, Tsunekawa Y, Inoue-Yamauchi A, Naruse H, Matsukawa T, Takeshita Y, Suzuki N, Aoki M, Nishiyama A, Zeng X, Konishi C, Suzuki N, Nishiyama A, Harris AS, Morita M, Yamaguchi K, Furukawa Y, Nakai K, Tsuji S, Yamazaki S, Yamanashi Y, Shimada S, Okada T, Okano H, Toda T, Nakanishi M. LONRF2 is a protein quality control ubiquitin ligase whose deficiency causes late-onset neurological deficits. *Nature Aging* 2023 3(8):1001-1019.

(共同研究)

2. Nakano Y, Itoh T, Tanaka M, Miyajima A, Kido T. Development of a high throughput system to screen compounds that revert the activated hepatic stellate cells to a quiescent-like state. *bioRxiv* 2023 DOI: 10.1101/2023.11.01.564270
3. Harris AS, Aratani S, Johmura Y, Suzuki N, Dan L, Nakanishi M. In vivo dynamics of senescence in rhabdomyolysis-induced acute kidney injury. *Biochem Biophys Res Commun* 2023 17:673:121-130.
4. Sinha S, Aizawa S, Nakano Y, Rialdi A, Choi HY, Shrestha R, Pan SQ, Chen Y, Li M, Kapelanski-Lamoureux A, Yochum G, Sher L, Monga SP, Lazaris A, Machida K, Karin M, Guccione E, Tsukamoto H. Hepatic stellate cell stearyl co-A desaturase activates leukotriene B4 receptor 2 - β -catenin cascade to promote liver tumorigenesis. *Nature Communications* 2023 14(1):2651.
5. Postmus AC, Kruit JK, Eilers RE, Havinga R, Koster MH, Johmura Y, Nakanishi M, van de Sluis B, Jonker JW. The chemotherapeutic drug doxorubicin does not exacerbate p16Ink4a-positive senescent cell accumulation and cardiometabolic disease development in young adult female LDLR-deficient mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 2023 468:116531.
6. Li D, Wang TW, Aratani S, Omori S, Tamatani M, Johmura Y, Nakanishi M. Transcriptomic characterization of Lonrfl at the single-cell level under pathophysiological conditions. *J Biochem* 2023 173(6):459-469.

著書・総説

1. Nakano Y, Johmura Y. Targeting cellular senescence as a therapeutic approach in non-

- alcoholic steatohepatitis. *Ann Hepatol* 2023 28(2):100900.
2. 大森徳貴, 城村由和: マルチオミクス解析によるセノリティクス戦略 *実験医学* 2023 41(15) 2524-2530.
 3. 馬場智久, 城村由和: 細胞老化を標的とした治療 *月刊「腫瘍内科」* 2023 32(4):411-416
 4. 大森徳貴, 城村由和: 低分子化合物による老化細胞除去の現状と未来 *医学のあゆみ* 2023 287(5).
 5. 中野泰博, 城村由和: 老化細胞の代謝特性によるセノリティクス *月刊細胞* 2023 55(2).
 6. 中野泰博, 城村由和: 抗 PD-1 抗体による老化細胞の除去 *バイオサイエンスとインダストリー* 2023 81(5).
 7. 城村由和: 新たなフェーズに入った老化研究 *医学界新聞* 2023 1月号

<学会発表>

1. 城村由和: がん間質中の老化細胞の同定と性状解析. 第 97 回日本薬理学会年会 2023 年 12 月 14 日, 神戸
2. 城村由和: 老化細胞の一細胞遺伝子発現解析による加齢に伴うがんの悪性進展機構の解明. 第 10 回 JCR ベーシックリサーチカンファレンス 2023 年 11 月 24 日, 東京
3. Nakano Y, Johmura Y: Analysis of the dynamics, origin, and properties of senescent cells induced during tissue damage. 第 96 回日本生化学会大会 2023 年 11 月 2 日, 福岡
4. Nakano Y, Zhang Z, Kumamoto S, Johmura Y: In Vivo Lineage Tracing of p16-expressing Senescent Cells in Acute Liver Injury. 第 18 回生命医科学研究所ネットワーク国際シンポジウム 2023 年 10 月 6 日, 東京
5. 城村由和: 細胞老化の統合的理解による先進的な健康寿命延伸法の創出. 第 21 回大阪大学ニコソイメージングセンター シリーズセミナー 2023 年 9 月 25 日, 大阪
6. 城村由和: 細胞老化を標的とした先進的な健康寿命延伸法の創出を目指して. 第 82 回日本癌学会学術総会 2022 年 9 月 22 日, 横浜
7. Baba T, Johmura Y: Autophagy inhibitors cooperate to induce an irreversible myeloid differentiation in AML differentiation therapy. 第 82 回日本癌学会学術総会 2023 年 9 月 23 日, 横浜

8. Johmura Y: Pre-existed Senescent Fibroblasts in aged bladder create tumor permissive niche. The 11th KUCRI-FUSCC Joint Symposium on Tumor Biology 2023 2023 年 9 月 13 日, 金沢
9. 城村由和: 「21 世紀 先端医療コンソーシアム」免疫医療部会 第 3 回会議 2023 年 7 月 27 日, オンライン
10. Johmura Y: Developing the approaches to treat aging and chronic inflammatory diseases by targeting senescent cells. India - Japan Cancer Symposium International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa 2023 Kanazawa University SAKIGAKE Symposium 2023 年 7 月 25 日, 金沢
11. 城村由和: ユビキチンリガーゼ LONRF2 による変性タンパク質分解を介したプロテオスタシス制御. 第 75 回日本細胞生物学会シンポジウム 2023 年 6 月 28 日, 奈良
12. 城村由和: 先進的な健康寿命延伸医療の実現に向けた細胞老化制御法の創出. 金沢大学十全医学会総会・学術集会 2023 年 6 月 20 日, 金沢
13. 城村由和: 変性タンパク質選択的ユビキチンリガーゼ LONRF2 の欠損は加齢性神経変性を引き起こす. 第 23 回日本抗加齢医学会総会 2023 年 6 月 9 日, 東京
14. 城村由和: ユビキチンリガーゼ LONRF2 による変性タンパク質分解を介したプロテオスタシス制御. 日本生化学会北陸支部第 41 回大会 2023 年 6 月 3 日, 富山
15. Johmura Y: Developing the approaches to treat aging and chronic inflammatory diseases by targeting senescent cells. 日本生理学会第 100 回記念大会 2023 年 3 月 15 日, 京都
16. 城村由和: 先進的な健康寿命延伸医療の実現に向けた細胞老化制御法の創出. 第 8 回新学術創成研究機構シンポジウム 2023 年 3 月 8 日, 金沢

<外部資金>

1. 城村由和: 科学研究費補助金・学術変革領域研究(B)(代表)「慢性炎症の起点となる細胞老化のリバイバル機構の解明」 (直接経費 5,800 千円, 間接経費 1,740 千円)
2. 城村由和: 科学研究費補助金・学術変革領域研究(B)(代表)「老化時計リバイバル機構の解明 -老化研究における新たなパラダイムシフトの総括」 (直接経費 2,100 千円, 間接経費 630 千円)
3. 城村由和: 科学研究費補助金・基盤研究(B)(代表)「細胞種特異的な老化細胞制御システムを用いた個体老化・加齢性疾患病態機構の解明」 (直接経費 3,800 千円, 間接経費 1,140 千円)

4. 城村由和: 科学研究費補助金・挑戦的研究(萌芽) (代表)「個体老化・加齢関連疾患の理解を目指した変性タンパク質アトラスマップの構築」 (直接経費 2,500 千円, 間接経費 750 千円)
5. 城村由和: AMED・再生・細胞医療・遺伝子治療実現加速化プログラム 再生・細胞医療・遺伝子治療研究開発課題 (基礎応用研究課題) (代表)「老化細胞リプログラミング機構の解明による加齢組織再生法の創出」 (直接経費 15,000 千円, 間接経費 4,500 千円)
6. 城村由和: AMED・PRIME (代表)「加齢に伴うプロテオスタシス破綻のメカニズム解明に基づく老化制御法の開発」 (直接経費 10,000 千円, 間接経費 3,000 千円)
7. 城村由和: 先魁プロジェクト 2022 (代表)「先進的な健康長寿延伸医療の開発を目指した老化メカニズムの解明」 (直接経費 2,000 千円, 間接経費 0 千円)
8. 城村由和: 令和 5 年度未来知実証センター ショーケース (代表)「老化肝細胞の理解に基づく画期的な肝不全治療法の開発」 (直接経費 1,400 千円, 間接経費 0 千円)
9. 城村由和: 令和 5 年度未来知実証センター ショーケース (代表)「老化肝細胞の理解に基づく画期的な肝不全治療法の開発」 (直接経費 1,400 千円, 間接経費 0 千円)
10. 城村由和: 令和 5 年度新学術創成研究機構異分野融合研究推進費 (代表)「p16 レポーターマウスを用いた個体レベルでの細胞老化と代謝異常との関連の研究」 (直接経費 850 千円, 間接経費 0 千円)
11. 城村由和: 第一三共生命科学研究振興財団 2023 年度 PI セットアップ研究助成 (代表)「細胞種特異的な細胞老化制御システムを用いた個体老化・加齢性疾患発症の分子機構の解明」 (直接経費 4,000 千円, 間接経費 0 千円)
12. 城村由和: 第 54 回 (2023 年度) 三菱財団自然科学研究助成 (代表)「部分的リプログラミングによる老化細胞の若返り機構の解明」 (直接経費 4,000 千円, 間接経費 0 千円)
13. 城村由和: 2022 年度テルモ研究助成 (代表)「老化細胞リプログラミングによる革新的な健康寿命延伸法の確立」 (直接経費 2,000 千円, 間接経費 0 千円)
14. 城村由和: 2022 年度小野医学研究助成 (代表)「非アルコール性脂肪性肝疾患の先進的治療法を指向した老化細胞リプログラミング機構の解明」 (直接経費 2,000 千円, 間接経費 0 千円)
15. 城村由和: 科学研究費補助金・基盤研究(A) (分担)「脳老化と神経疾患に共通した脳機能低下に懸かる細胞間相互作用機序の統合的理解」 (直接経費 3,000 千円, 間接経費 900 千円)

16. 城村由和: 科学研究費補助金・基盤研究(B)(分担)「がん治療薬誘導性間質細胞老化の分子病態の解明と治療応用」 (直接経費 100 千円, 間接経費 0 千円)
17. 馬場智久: 科学研究費補助金・基盤研究(C)(分担)「時空間的解析による大動脈瘤発生から進行過程でのケモカイン・システムの機能解明」 (直接経費 300 千円, 間接経費 0 千円)
18. 中野泰博: AMED・肝炎等克服実用化研究事業 (代表)「非アルコール性脂肪肝炎における老化細胞の性状解析と新規治療標的分子の探索」 (直接経費 5,500 千円, 間接経費 1,650 千円)
19. 中野泰博: 北陸銀行若手研究者助成金 (代表)「NASH 誘発性肝臓における老化細胞の性状解析」 (直接経費 600 千円, 間接経費 0 千円)
20. 中野泰博: 科学研究費補助金・学術変革領域研究(B)(分担)「組織線維化の筋線維芽細胞におけるリバイバル機構の解明」 (直接経費 2,500 千円, 間接経費 0 千円)
21. 中野泰博: 科学研究費補助金・基盤研究(C)(分担)「CRISPR とインテグラーゼを併用した長鎖 DNA 挿入法の確立とマウス作製への応用」 (直接経費 100 千円, 間接経費 0 千円)
22. 中野泰博: AMED・再生・細胞医療・遺伝子治療実現加速化プログラム 再生・細胞医療・遺伝子治療研究開発課題 (基礎応用研究課題) (分担)「老化細胞リプログラミング機構の解明による加齢組織再生法の創出」 (直接経費 5,000 千円, 間接経費 1,500 千円)
23. 中野泰博: AMED・難治性疾患実用化研究事業 (分担)「細胞老化が引き起こすレット症候群発症メカニズムの解明」 (直接経費 4,000 千円, 間接経費 1,200 千円)