

# がん分子標的探索プログラム

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	<a href="http://hdl.handle.net/2297/0002002566">http://hdl.handle.net/2297/0002002566</a>

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



# がん分子標的探索プログラム

## Division of Translational and Clinical Oncology

### 腫瘍制御研究分野

Professor	Toshinari Minamoto 源 利成
Assistant Professor	Takahiro Domoto 堂本貴寛
Graduate Students	Satoshi Takenaka 竹中 哲 (D4:肝胆膵・移植外科学)
Postdoctoral Fellows	Masahiro Uehara 上原将大
Assistant Staff	Atsuko Asaka 浅香敦子

#### 【 Abstract 】

The mission of our division centers on laboratory and clinical research to develop the novel strategies and modalities for diagnosis and treatment of the gastrointestinal (GI), refractory and rare cancer types including glioblastoma, bone and soft tissue sarcomas and pancreatic neuroendocrine neoplasms. Research projects are based on biological characteristics of individual tumor types that are relevant to their invasive and metastatic potential, resistance to therapy, recurrence and outcome of patients. Our current efforts are focused on (1) research and development of the cancer therapy by targeting aberrant glycogen synthase kinase (GSK)3 $\beta$ ; (2) understanding of malignant phenotypes of cancer by investigating pathological metabolic properties (eg., aerobic glycolysis, tumor-promoting autophagy); and (3) biological basis of GI and refractory cancer, all for clinical translation. We have been also establishing the tissue material resources of human stomach and colorectal cancer for our own projects described above as well as for studies collaborating with our institutional and many other research groups. During an immediate couple of years, we have obtained the preliminary results indicating the putative roles of tumor GSK3 $\beta$  as a molecular node that is intersected by the pathways responsible for tumor invasion and resistance to therapy, thus enforcing its potential as an emerging cancer therapeutic target. We are extending this project toward investigation of the putative roles for GSK3 $\beta$  in promoting pancreatic neuroendocrine neoplasms as well as in interconnecting malignant phenotypes in pancreatic cancer with acquired chemoresistance. Following the project on GSK3 $\beta$ , we have recently identified a number of molecules including cyclin D2 potentially responsible for acquired resistance to gemcitabine in pancreatic cancer by comparing the cDNA microarray-based gene expression between gemcitabine-sensitive BxPC-3 cells and BxPC-3-derived clones that acquired resistance to gemcitabine. In addition to these projects, we have participated in the collaborative studies on the pathologic roles of galectin-4 in promoting peritoneal metastasis in the diffuse-type gastric cancer and of nucleoporin 153 in facilitating the liquid-phase localization of super-enhancers resulting in progression of esophageal cancer.

## <2023 年の研究成果, 進捗状況および今後の計画>

### 1. glycogen synthase kinase (GSK) 3 $\beta$ 阻害によるがん治療法の研究、開発

Wnt 経路抑制因子と認識されている GSK3 $\beta$  が固有の分子経路を介して、がんの悪性形質を推進することを系統的に示してきた。そして、GSK3 $\beta$  阻害のがん治療効果を細胞レベルと担がん動物で実証した。また、学内外のグループと連携し、膵がん、膠芽腫や骨軟部肉腫などの難治、希少がんで高活性を示す GSK3 $\beta$  が、腫瘍浸潤性と治療(抗がん剤、放射線)不応性の悪性形質を連結することを見出した。一連の研究をもとに、GSK3 $\beta$  阻害薬品の転用と抗がん剤を併用するがん治療法を開発し、再発膠芽腫(附属病院脳神経外科)と進行膵がん(金沢医科大学病院)を対象とする医師主導臨床研究によりその安全性と抗腫瘍効果を検証した。ついで、食道扁平上皮がんと抗がん剤耐性獲得膵がんに対する GSK3 $\beta$  阻害の治療効果とメカニズムを明らかにした。2022 年以降から現在まで、GSK3 $\beta$  阻害によるがん治療の概念実証のため、膵内分泌腫瘍(PNET)の共同研究に加えて、米国で臨床試験中の GSK3 $\beta$  阻害剤 9-ING-41 を開発した Actuate 社と共同で治療耐性膵がんの前臨床研究を進めている。

### 2. 膵がんの抗がん剤耐性獲得に伴う悪性形質の解析研究

膵がんで汎用されているゲムシタビン(GEM)に対する耐性獲得は、膵がん治療の未解明医療ニーズである。そこで、GEM 感受性膵がん BxPC-3 細胞から段階的に GEM 耐性を獲得させた 3 種のクローン細胞株(Anticancer Drug 2015;26:90, 北里大から供与)を対象に、GEM 耐性獲得の生物学的特性を検討した。その結果、耐性獲得に伴い腫瘍浸潤とがん幹細胞形質が増強した。また、最耐性細胞株をマウス膵内に移植すると、高度の局所浸潤と肝や腹膜転移をきたし、GEM 耐性を獲得した膵がん患者の病態を模倣する所見を呈した。さらに、GSK3 $\beta$  がこれらの悪性形質のハブとして作用することを見出した(論文作成中)。ついで、耐性細胞株の遺伝子発現解析により、cyclin D2 をはじめ複数の新たな耐性獲得に関わる候補責任分子群を見出した。現在、個々の分子について解析を進めている。

### 3. ヒト消化管がん組織バンクを中心とするがんの分子病理学的研究

消化管がん研究や臨床研究の基礎資源として 2008 年から本事業を開始し、2010 年にこの事業を当研究所ヒトがん組織バンクに継承し現在に至っている。この組織資源の共同利用促進のために、日本医療研究開発機構ゲノム医療支援サイトに情報公開している。帝京大学:竹田 扇らが開発した大気圧イオン化法—質量分析を用いて、大腸がん質量分析診断法開発の共同研究を継続している。大腸組織の質量分析パターンをもとに特有の統計解析と機械学習を組合わせて非がん/がんの判別(診断)アルゴリズムを構築し、90%以上の感度と特異度による判別を可能にした。現在、山梨大学:吉村らと島津製作所基盤技術研究所との共同で、大腸がんの質量分析—内視鏡診断法の内視鏡デバイス開発を進めている。組織バンク検体を共用して、野口研究所との共同研究により、がん細胞で高発現する galectin-4 がびまん型胃がんの腹膜播種性転移に寄与することを明らかにした。また、本学ナノ生命研究所との共同研究により、核膜孔複合体因子(NUP)153 がスーパーエンハンサーの液相局在化を促進して、食道扁平上皮がんの病態を進行させることを見出した。

## 【 研究業績 】

<発表論文> ※下線は研究室関係者

原著

1. Kitamura K, Hoshino T, Okabe A, Fukuyo M, Rahmutulla B, Tanaka N, Kobayashi S, Tanaka T, Shida T, Ueda M, Minamoto T, Matsubara H, Kaneda A, Ishii H, Matsushita K. The link of mRNA and rRNA transcription by PUF60/FIR through TFIIH/P62 as a novel therapeutic target for cancer. *Int J Mol Sci* 24 (24): 17341, 2023. doi: 10.3390/ijms242417341
2. Hazawa M, Dini Kurnia Ikliptikawati, Iwashima Y, Lin D-C, Jiang Y, Qiu Y, Makiyama K, Matsumoto K, Kobayashi A, Nishide G, Keesiang L, Yoshino H, Minamoto T, Suzuki T, Kobayashi I, Meguro-Horike M, Jiang Y-Y, Nishiuchi T, Konno H, Koeffler HP, Hosomichi K, Tajima A, Horike S, Wong RW. Super-enhancer trapping by the nuclear pore via intrinsically disordered regions of proteins in squamous cell carcinoma cells. *Cell Chem Biol* 2023 Oct 30:S2451-9456(23)00366-5. doi: 10.1016/j.chembiol.2023.10.005
3. Koizumi K, Domoto T, Minamoto T, Satomura K, Nakajima H. Deactivation of glycogen synthase kinase-3 $\beta$  by heat shock-inducible tumor small protein attenuates hyperthermia-induced pro-migratory activity in colorectal cancer cells. *Int J Oncol* 63 (2): 92, 2023. doi: 10.3892/ijco.2023.5540
4. Ideo H, Tsuchida A, Takada Y, Kinoshita J, Inaki N, Minamoto T. Suppression of galectin-4 attenuates peritoneal metastasis of poorly differentiated gastric cancer cells. *Gastric Cancer* 26 (3): 352-363, 2023. doi: 10.1007/s10120-023-01366-5
5. Matsuda Y, Ye J, Yamakawa K, Mukai Y, Azuma K, Wu L, Masutomi K, Yamashita T, Daigo Y, Miyagi Y, Yokose T, Oshima T, Saito H, Morinaga S, Kishida T, Minamoto T, Kojima M, Kaneko S, Haba R, Kontani K, Kanaji N, Okano K, Muto-Ishizuka M, Yokohira M, Saoo K, Imaida K, Suizu F. Association of longer telomere length in cancer cells and cancer-associated fibroblasts with worse prognosis. *J Natl Cancer Inst* 115 (2): 208-218, 2023. doi: 10.1093/jnci/djac226

<学会発表> ※下線は研究室関係者

1. 井手尾浩子, 土田明子, 八須和子, 高田美生, 木下 淳, 稲木紀幸, 源 利成. 低分化型胃癌細胞の腹膜播種転移に糖鎖結合分子ガレクチン-4 が関与する. 第 32 回日本がん転移学会学術集会, 2023 年 7 月 20 日 (木), 21 日 (金), 仙台国際センター, 仙台市.
2. Hiroko Ideo, Akiko Tsuchida, Kazuko Hachisu, Yoshio Takada, Jun Kinoshita, Noriyuki Inaki, Toshinari Minamoto. Galectin-4 plays a vital role in the peritoneal dissemination of poorly differentiated gastric cancer cells. 26th International Symposium on Glycoconjugates (Glyco26), August 27th (Sun)~September 1st (Fri), 2023, Academia Sinica, Taipei, Taiwan.

3. Takahiro Domoto, Masahiro Uehara, Satoshi Takenaka, Tomoharu Miyashita, Toshinari Minamoto. A new preclinical GSK3 $\beta$  inhibitor overcomes acquired resistance to gemcitabine in pancreatic cancer. 堂本貴寛, 上原将大, 竹中 哲, 宮下知治, 源 利成. 新規 GSK3 $\beta$  阻害剤による膵がんゲムシタビン獲得耐性の克服. 第 82 回日本癌学会学術総会, 2023 年 9 月 21 日(木)-24 日(土), パシフィコ横浜, 横浜市.
4. Masahiro Uehara, Satoshi Takenaka, Takahiro Domoto, Shinichi Horike, Chiaki Takahashi, Tomoharu Miyashita, Toshinari Minamoto. Overexpression of cyclin D2 in gemcitabine-resistant pancreatic cancer and its potential as a therapeutic target. 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. ゲムシタビン耐性膵がんにおける 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(木)-24 日(土), パシフィコ横浜, 横浜市.
5. 宮下知治, 源 利成, 島崎猛夫, 佐々木省三, 稲木紀幸, 藤村 隆. 食道発癌過程における STAT3/GSK3 $\beta$  の関与と GSK3 $\beta$  阻害による微小環境の変化. 第 34 回日本消化器癌発生学会総会, シンポジウム1 がんの微小環境, 2023 年 11 月 24 日(金), 25 日(土), G メッセ群馬(高崎), 高崎市.
6. 堂本貴寛, 上原将大, Ludimila Cavalcante, Frank Giles, 宮下知治, 源 利成. GSK3 $\beta$  阻害剤のゲムシタビン耐性獲得膵がんの前臨床的評価. 第 34 回日本消化器癌発生学会総会, ワークショップ3 薬剤耐性のメカニズムとその克服, 2023 年 11 月 24 日(金), 25 日(土), G メッセ群馬(高崎), 高崎市.
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. 膵がんにおけるゲムシタビン耐性克服のための cyclin D2 関連経路の標的化. 第 34 回日本消化器癌発生学会総会, 2023 年 11 月 24 日(金), 25 日(土), G メッセ群馬(高崎), 高崎市.

#### <講演>

なし

#### <外部資金> ※2023 年が含まれる課題 ※※下線は研究室関係者

1. 2023 年－2025 年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 課題番号 23K08163  
宮下知治(代表), 源 利成(分担)  
 課題: 治療抵抗性膵癌のがん幹細胞性とがん関連性線維芽細胞老化を統御する分子経路の解明  
 研究経費: 4,810,000 円(直接経費 3,700,000 円, 間接経費 1,110,000 円)
2. 2023 年－2024 年度 科学研究費補助金 若手研究 課題番号 23K14644  
上原将大(代表)  
 課題: 抗がん剤耐性獲得膵がんの分子病態解明と治療方法開発への応用  
 研究経費: 4,680,000 円(直接経費 3,600,000 円, 間接経費 1,080,000 円)

3. 2023 年度 武田科学振興財団 医学系研究継続助成(がん領域(基礎))  
堀江真史(代表), 源 利成, 田中秀憲(分担)  
課題:臓器横断的マルチオミックス解析による神経内分泌腫瘍におけるエピゲノムと転写制御の全容解明  
研究経費: 3,000,000 円
4. 2022 年－2024 年度 科学研究費補助金 基盤研究(B) 課題番号 22H03144  
源 利成(代表), 宮下知治(分担)  
課題: 治療耐性膵がんの悪性形質を繋ぐ分子経路の解明と耐性制御法開発への応用  
研究経費: 17,420,000 円(直接経費 13,400,000 円, 間接経費 4,020,000 円)
5. 2022 年－2024 年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 課題番号 22K07227  
堂本貴寛(代表)  
課題: 抗がん剤耐性獲得膵がん細胞における悪性形質連関の解明と治療法開発  
研究経費: 4,030,000 円(直接経費 3,100,000 円, 間接経費 930,000 円)
6. 2022 年－2024 年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 課題番号 22K08014  
澤田 武(代表)  
課題: 非乳頭部十二指腸腺癌の 2 つの発癌経路の検証と分子機構の解明  
研究経費: 4,030,000 円(直接経費 3,100,000 円, 間接経費 930,000 円)

## Division of Functional Genomics

### 機能ゲノミクス研究分野

Professor	Takeshi Suzuki 鈴木 健之
Assistant Professor	Akihiko Ishimura 石村 昭彦
Postdoctoral Fellows	Minoru Terashima 寺島 農 Ryusuke Suzuki 鈴木隆介
Graduate Students	Gerelsuren Batbayar (D4), Hanbing Lyu (D4), Risa Takatsuka 高塚理沙 (D4), Khurelsukh Buyanbat (D1), Yuuka Kubota 窪田悠夏 (M1)
Technical Assistant	Atsuko Odawara 小田原 敦子

#### 【 Abstract 】

We have been studying the function of epigenetic and epi-transcriptomic regulators such as histone methyl-modifying enzymes, long noncoding RNAs and RNA methyltransferase complex in the various steps of cancer progression. ASH2L is a core subunit of the COMPASS complex, the most notable writer of the methylation of histone H3 lysine 4 (H3K4). We found that ASH2L mediated the cell invasion and migration activity of triple-negative breast cancer cells via association with the COMPASS components and the target genomic regions. Transcriptome analysis revealed that ASH2L regulated the expression of the genes involved in inflammatory/immune responses, such as IL1B, indicating a novel function of ASH2L on the maintenance of breast cancer malignancy through H3K4 methylation of the specific target genes. Previously we have screened novel candidates of EMT-related transcription factors based on the changes of broad histone methylation domains on their gene regulatory regions and identified CEBPG. We demonstrated that CEBPG induced EMT through the interaction with CEBPB. We also investigated the role of CEBPG in the DNA repair mechanism because the analysis of proteins interacting with CEBPG revealed several DNA repair factors as the candidates. In response to etoposide-induced DNA double-strand breaks, CEBPG enhanced DNA repair efficiency through its leucine zipper domain, suggesting the collaborative role of CEBPG and its interacting proteins in promoting DNA repair. We aim to comprehensively understand the role of CEBPG in the malignant progression of cancer and explore its potential as a novel target for cancer therapy.

## <2023 年の研究成果, 進捗状況及び今後の計画>

### 1. 乳がん悪性形質獲得に関与するエピジェネティック制御因子 ASH2L の解析

がん悪性進展の際のエピジェネティック制御の重要性を調べるために、TP53 欠損乳がん細胞とエピジェネティック制御因子 sgRNA ライブラリーを用いて、スフィア形成を指標に CRISPR/Cas9 スクリーニングを行った。その結果、ヒストン H3K4 メチル化酵素 COMPASS 複合体のコア因子 ASH2L を含む複数のエピジェネティック制御因子が同定された。最も悪性度の高いトリプルネガティブ型乳がん細胞を用いたノックダウン実験から、ASH2L が乳がん細胞のスフィア形成能、細胞増殖・浸潤能に寄与すること、ASH2L のゲノム DNA 及び COMPASS 構成因子との結合がその機能に重要であることが示された。次に ASH2L 標的遺伝子を同定するためにマイクロアレイ解析を行った結果、免疫・炎症に関係する複数の候補遺伝子の発現調節が確認された。代表的な炎症性サイトカイン IL1B に注目してクロマチン免疫沈降実験を行ったところ、内在性 ASH2L は IL1B 遺伝子プロモーター上に直接リクルートし H3K4me3 修飾に関与することがわかった。すなわち ASH2L は、トリプルネガティブ型乳がんサブタイプにおいて、免疫・炎症関連遺伝子の H3K4 メチル化修飾と遺伝子発現を調節することによって乳がん悪性化に関与する可能性が示された。

### 2. ヒストンメチル化修飾分布に基づいた新規 EMT 転写因子 CEBPG の同定

ヒストンの H3K4me3 修飾分布は、細胞の特異性を決定する重要な遺伝子座の目印となりうる。EMT 誘導後に H3K4me3 修飾範囲が拡大する遺伝子の中から EMT 制御転写因子の候補を探索し、SNAIL や SLUG など既知の EMT 転写因子に加えて、CEBPG を新しく同定した。CEBPG 発現による EMT の進行には自身のロイシンジッパードメインが必須であることから、CEBPG と相互作用するタンパク質を探索した。その結果、CEBPG との複合体形成が EMT の誘導に重要であることがわかった。一方、CEBPG 相互作用因子として複数の DNA 修復因子が単離されたことから、DNA 修復経路への関与が示唆された。抗がん剤である etoposide によって引き起こされる DNA 二本鎖切断に対して、CEBPG はロイシンジッパードメイン依存的に DNA 修復効率を向上させることがわかった。これは CEBPG がパートナータンパク質と協調して DNA 修復を促進することを示唆する。今後は、がん悪性化過程における CEBPG の役割を詳細に理解し、がん治療の新たな標的としての可能性を探求したい。

### 3. エピジェネティック制御因子の心臓発生・心疾患における役割

がんに関係する因子としてウイルス挿入変異を用いて単離したエピジェネティック制御因子 KDM8 は、がん抑制遺伝子産物 p53 の転写調節機能を阻害的にコントロールする因子として細胞の増殖に関与することを以前に報告した。今回、私たちが作製した KDM8 コンディショナル KO マウスを用いた国際共同研究によって、KDM8 の心臓発生・心疾患における機能を明らかにした。心臓における KDM8 遺伝子欠損は、拡張型心筋症の発症を誘導した。KDM8 は転写制御因子 TBX15 の発現をエピジェネティックに調節することによって、NAD<sup>+</sup>合成経路を制御し、拡張型心筋症の発症を妨げていることを見いだした。

## 【 研究業績 】

### < 発表論文 >

原著

(研究室主体)

1. Batbayar G, Ishimura A, Lyu H, Wanna-Udom S, Meguro-Horike M, Terashima M, Horike SI, Takino T and \*Suzuki T. ASH2L, a COMPASS core subunit, is involved in the cell invasion and migration of triple-negative breast cancer cells through the epigenetic control of histone H3 lysine 4 methylation. *Biochem Biophys Res Commun.*, 669: 19-29, 2023.
2. Suzuki R, Kanemaki MT, Suzuki T and \*Yoshioka K. Overexpression of JNK-associated leucine zipper protein induces chromosomal instability through interaction with dynein light intermediate chain 1. *Genes Cells.*, doi: 10.1111/gtc.13083, in press.

(共同研究)

3. Ahmed A, Syed J, Wang Y, Perez-Romero C, Chi L, Lee D, Kocaqi E, Escalante-Covarrubias Q, Ishimura A, Suzuki T, Aguilar-Arnal L, Gozales GB, Kim K-H and \*Delgado-Olguin P. KDM8 epigenetically controls cardiac metabolism to prevent initiation of dilated cardiomyopathy. *Nat. Cardiovasc. Res.*, 2: 174-191, 2023.
4. Isoyama S, Tamaki N, Noguchi Y, Okamura M, Yoshimatsu Y, Kondo T, Suzuki T, Yaguchi S and \*Dan S. Subtype-selective induction of apoptosis in translocation-related sarcoma cells induced by PUMA and BIM upon treatment with pan-PI3K inhibitors. *Cell Death Dis.*, 14(2): 169, 2023.
5. \*Ogura K, Endo M, Hase T, Negami H, Tsuchiya K, Nishiuchi T, Suzuki T, Ogai K, Sanada H, Okamoto S and Sugama J. Potential biomarker proteins for aspiration pneumonia detected by shotgun proteomics using buccal mucosa samples: a cross-sectional case-control study. *Clin Proteomics*, 20(1): 9, 2023.
6. Hazawa M, Ikliptikawati DK, Iwashima Y, Lin DC, Jiang Y, Qiu Y, Makiyama K, Matsumoto K, Kobayashi A, Nishide G, Keesiang L, Yoshino H, Minamoto T, Suzuki T, Kobayashi I, Meguro-Horike M, Jiang YY, Nishiuchi T, Konno H, Koeffler HP, Hosomichi K, Tajima A, Horike SI and \*Wong RW. Super-enhancer trapping by the nuclear pore via intrinsically disordered regions of proteins in squamous cell carcinoma cells. *Cell Chem Biol.*, S2451-9456(23)00366-5, 2023.

### < 学会発表 >

1. Ishimura A, Terashima M, Takino T and Suzuki T. ASH2L plays a role in triple-negative breast cancer cells through the control of histone H3 lysine 4 methylation. 第82回日本癌学会学術総会 (横浜2023年9月)

2. Takino T, Takatsuka R and Suzuki T. Iron regulates MT1-MMP-mediated MMP-2 activation and cell invasion. 第82回日本癌学会学術総会（横浜2023年9月）
3. Ishimura A, Batbayar G, Lyu H, Wanna-Udom S, Meguro-Horike M, Terashima M, Horike SI, Tsutsui H, Ninomiya K, Takino T and Suzuki T. COMPASS複合体サブユニットASH2Lの悪性化乳がんにおける役割. 第46回日本分子生物学会年会（神戸2023年12月）
4. Terashima M, Suphakhong K, Nishiuchi T, Horike SI, Nishimura T, Tange S, Ishimura A and Suzuki T. Involvement of a candidate transcription factor for inducing epithelial-mesenchymal transition in DNA double-strand break repair. 第46回日本分子生物学会年会（神戸2023年12月）
5. Suzuki R, Suzuki T, and Yoshioka K. JLP overexpression induces chromosomal instability. 第46回日本分子生物学会年会（神戸2023年12月）

#### <外部資金>

1. 文部科学省科学研究費補助金, 基盤研究 (C), 研究代表者 鈴木健之, 1,000 千円 研究課題名「腫瘍細胞の上皮間葉転換におけるエピゲノム・エピトランスクリプトーム制御」
2. 文部科学省科学研究費補助金, 基盤研究 (C), 研究代表者 石村昭彦, 1,100 千円 研究課題名「EGFR 変異肺がんの薬剤耐性に関わるエピジェネティック制御因子の探索」
3. 文部科学省科学研究費補助金, 基盤研究 (C), 研究代表者 寺島農, 1,000 千円 研究課題名「動的エピジェネティックドメインに基づいた新規がん悪性化転写因子の同定」
4. 文部科学省科学研究費補助金, 若手研究, 研究代表者 鈴木隆介, 1,800 千円 研究課題名「染色体安定性維持におけるモーターアダプター分子 JSAP の役割とその分子機構」