

がん微小環境研究プログラム 細胞機能統御研究分野

1. 研究スタッフ

常勤

教授	佐藤 博	1977年12月(助手)～ 1997年 4月(助教授)～ 1998年 6月(教授)～現在
准教授	滝野 隆久	1999年10月(助手)～ 2003年 5月(助教授・准教授)～現在
技能補佐員	山岸 小百合	1990年～現在

独立した研究スタッフ (別途記載)

准教授	遠藤 良夫	1996年 7月 2002年 2月(助教授・准教授)～現在
-----	-------	----------------------------------

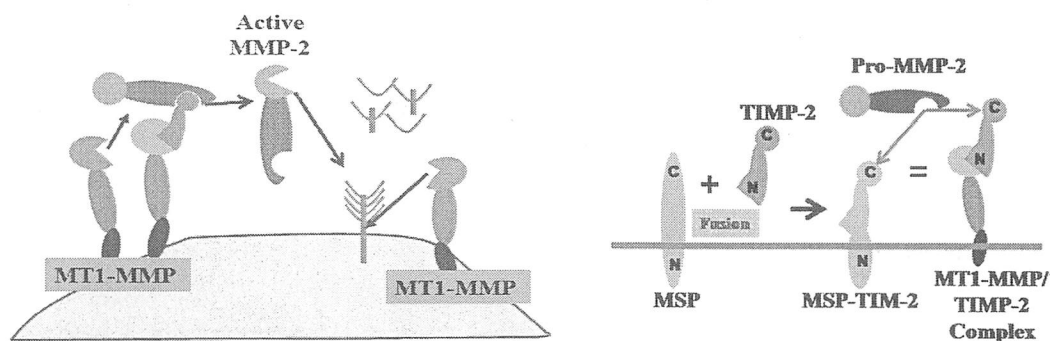
2. 研究概要

当研究分野では1994年に佐藤、滝野、清木(現東京大学医科学研究所・教授)が中心となって発見した膜型マトリックスメタロプロテアーゼ(Membrane-Type Matrix Metalloproteinase-1, MT1-MMP)(Nature, 1994)について、その新規基質を同定することによりがん浸潤・転移における役割を明らかにしてきた。MT1-MMPはMMPの中で唯一そのノックアウトマウスが顕著な病態を示し、そのユニークな機能は未解明の部分が多く、1994年のNature論文の被引用回数は1800回を超え、依然増加している。

MT1-MMPはMMP-2の活性化因子として同定され、その後MMP-2活性化以外にも細胞外マトリックス成分であるコラーゲン、ファイブロネクチンの分解、膜タンパクの切断・シェディングなど様々な機能を有し、総合的にがんの悪性化形質に重要な役割を果たしている。MT1-MMPによるMMP-2活性化はほとんど全てのヒトがん組織で確認されるが、活性化の意義・メカニズム・他基質切断との関連などについては不明の点が多かった。我々は人工的なMMP-2レセプターを開発することにより(Cancer Res., 2008)、MT1-MMPによるMMP-2活性化vs他基質切断の調節機構について新規の提案を行った(Cancer Science 総説, 2010)。MT1-MMPによる膜タンパクのシェディングのなかでも、膜型のセリンプロテアーゼ阻害因子(Hepatocyte Growth Factor Activator Inhibitor-1, HAI-1)に特に注目している。MT1-MMPによるHAI-1の切断・シェディングはセリンプロテアーゼのみならず、多くのMMPをも活性化するプロテアーゼカスケードのトリガーであることを報告した(Cancer Sci, 2012)。

3. 主な研究成果

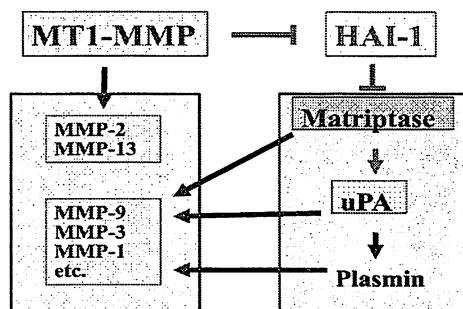
1. MT1-MMP の機能は MMP-2 の活性化と ECM をはじめとする基質の切断に大別できる。MMP-2 活性化は全てのヒトがん組織で認められる反応であるが、阻害因子 TIMP-2 が関与するきわめて特異なメカニズムである（下左図）。これまでに TIMP-2 濃度が MMP-2 活性化とそれ以外の酵素活性のバランスを調節していることを報告してきた。今回、TIMP-2 を人工的に操作し、MMP-2 受容体として機能するキメラタンパク (MSP-TIMP-2) を作成することに初めて成功し（下右図）、本キメラたんぱくを用いて MMP-2 活性化のがん転移における重要性を明らかにした。すなわち MT1-MMP のコラゲナーゼ活性と、MMP-2 のゼラチナーゼ活性の相乗効果により強力な組織破壊活性を發揮し、浸潤・転移を亢進することを示した(Cancer Res., 2008)。



2. ヒト線維肉腫 HT1080 細胞に MMP 阻害剤あるいは MT1-MMP に対する siRNA を処理することにより HT1080 細胞の周囲にファイブロネクチンの重合・集積を引き起こすことを見出した。ファイブロネクチンの集積にはカドヘリンを介した細胞接着が必須であり、MT1-MMP は HT1080 細胞の発現する N-カドヘリンを切断することによりファイブロネクチンの集積を制御していることを明らかにした (FEBS Lett., 2011; ファイブロネクチン集積の写真は同誌の表紙に採用)。発育鶏卵法、ヌードマウス移植腫瘍において、線維化したファイブロネクチンはがん細胞の浸潤を抑制したが、同時に細胞生存シグナルを発生し細胞死は誘導しなかった。これらの知見は MMP 阻害剤の抗腫瘍効果を検討する際に重要である。

3. MT1-MMP の新規基質として膜タンパク GI24、KIM-1、HAI-1 を同定し、MT1-MMP によるシェディングの生理的意義について報告した(Cancer Sci., 2010; J. Biochem., in press; Cancer Sci., 2012)。とりわけ膜型のセリンプロテアーゼ阻害因子である HAI-1 については引き続きがん悪性化への関与について研究を継続している。上皮細胞における HAI-1 の標的は膜型セリンプロテアーゼであるマトリプターゼである。マトリプターゼ

の重要な基質の一つは uPA であり、uPA が活性化されることによりプラスミン、その他のセリンプロテアーゼがカスケード的に活性化される。これらのセリンプロテアーゼは MMP-1, -3, -9などを活性化することから、MT1-MMP による HAI-1 切断がトリガーとなりプロテアーゼカスケードがいきなり活性化され得る。この状態を protease storm と名付けた(Cancer Sci., 2012)。



4. 今後の研究目標

これまでの研究の継続として、ファイブロネクチンの重合・集積を中心とした微小環境構築における MT1-MMP の機能、およびプロテアーゼカスケードのトリガーとしての MT1-MMP の役割を解析する。

MT1-MMP の発見以来 20 年が経過し、未だその機能は十分に理解されたとはいえませんが、発見者として同分子を標的とした抗腫瘍・抗転移薬剤の開発を目指さなければならない。MT1-MMP 以外の MMP については浸潤・転移の亢進作用と同時にがん抑制遺伝子的な機能が報告されており、特異性のない低分子薬剤は、がん抑制遺伝子機能をも阻害することが懸念されている。したがって MT1-MMP 特異的な薬剤の開発が待望されている。最近、ベンチャー企業により MT1-MMP 中和抗体が開発され、その臨床試験の結果が期待されている。我々は人口抗体といわれる核酸アプタマーの開発に力を注いでいる。現在のところ MT1-MMP に対して十分に高い親和性を有するアプタマーの開発には至っていないが、アプタマーの開発が成功したら、その利点を活かして、MT1-MMP の阻害に止まらず、発現細胞に細胞死を誘導するような修飾を加えることを計画している。

5. 共同利用・共同研究拠点としての役割を果たすことに関連する活動について
以下は共同研究として研究所から予算措置された共同研究課題である。

平成 21 年度：

「悪性脳腫瘍幹細胞における MT1-MMP の機能解析」

金沢大学・医薬保健研究域医学系 脳・脊髄機能制御学 中田 光俊

「MT1-MMPによる膜タンパクシェディングの病理学的解析」

慶應義塾大学医学部病理 岡田保典

平成 22 年度 :

「悪性脳腫瘍における MT1-MMP と CD133 との相互作用の解析」

金沢大学・医薬保健研究域医学系 脳・脊髄機能制御学 中田 光俊

平成 24 年度

「メタロプロテアーゼ ADAM28 の遺伝子発現機構解析に基づく治療法開発の基礎研究」

慶應義塾大学医学部病理 望月 早月

「高特異性 MMP インヒビターの分子設計による制癌剤の開発」

横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科 東 昌市

これら以外に

大阪大学蛋白質研究所 関口教授らとの共同研究「MT1-MMPによるファイブロネクチン重合制御機構の解析」(文献4)

金沢大学フロンティアサイエンス機構の Richard Wong 博士らとの「MT1-MMPの核内に於ける新規機能の解析」に向けての共同研究・(文献3, 5, 7)

金沢大学医学系研究科中沼教授らと「肝がんにおける MMP 発現制御機構」について共同研究(文献8, 9, 10)を行った。

6. 研究業績

原著論文

1. Guo L., Takino T., Endo Y., Domoto T., Sato, H. (in press) Shedding of kidney injury molecule-1 by membrane-type 1 matrix metalloproteinase. *J. Biochem.*
2. Domoto T., Takino T., Guo L., and Sato, H. (2012) Cleavage of hepatocyte growth factor activator inhibitor-1 by membrane-type MMP-1 activates matriptase. *Cancer Sci.* 2012, 103; 448-454.
3. Funasaka T, Nakano H, Wu Y, Hashizume C, Gu L, Nakamura T, Wang W, Zhou P, Moore MA, Sato H, Wong RW. RNA export factor RAE1 contributes to NUP98-HOXA9-mediated leukemogenesis. *Cell Cycle.* 2011, 10:1456-67.
4. Takino T, Nagao R, Manabe R, Domoto T, Sekiguchi K, Sato H. Membrane-type 1 matrix metalloproteinase regulates fibronectin assembly to promote cell motility. *FEBS Lett.* 2011;3378-84.

5. Nakano H, Wang W, Hashizume C, Funasaka T, Sato H, Wong RW. Unexpected role of nucleoporins in coordination of cell cycle progression. *Cell Cycle*. 2011, 10:425-33.
6. Takino T, Tsuge H, Ozawa T, Sato H. MT1-MMP promotes cell growth and ERK activation through c-Src and paxillin in three-dimensional collagen matrix. *Biochem Biophys Res Commun.*, 3964, 1042-1047, 2010.
7. Sakr MA, Takino T, Domoto T, Nakano H, Wong RW, Sasaki M, Nakanuma Y, Sato H. GI24 enhances tumor invasiveness by regulating cell surface membrane-type 1 matrix metalloproteinase. *Cancer Sci.*, 101, 2368-2374, 2010.
8. Itatsu K, Sasaki M, Harada K, Yamaguchi J, Ikeda H, Sato Y, Ohta T, Sato H, Nagino M, Nimura Y, Nakanuma Y.: Phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase 1/2, p38 mitogen-activated protein kinase and nuclear translocation of nuclear factor-kappaB are involved in upregulation of matrix metalloproteinase-9 by tumour necrosis factor-alpha. *Liver Int.* 29, 291-298, 2009.
9. Itatsu K, Sasaki M, Yamaguchi J, Ohira S, Ishikawa A, Ikeda H, Sato Y, Harada K, Zen Y, Sato H, Ohta T, Nagino M, Nimura Y, Nakanuma Y.: Cyclooxygenase-2 is involved in the up-regulation of matrix metalloproteinase-9 in cholangiocarcinoma induced by tumor necrosis factor-alpha. *Am. J. Pathol.*, 174, 829-841, 2009.
10. Onodera M, Zen Y, Harada K, Sato Y, Ikeda H, Itatsu K, Sato H, Ohta T, Asaka M, Nakanuma Y. Fascin is involved in tumor necrosis factor (TNF)- α -dependent production of MMP9 in cholangiocarcinoma. *Lab. Inv.*, 89, 1261-1274, 2009.
11. Katō M, Hossain K, Iida M, Sato H, Uemura N, Goto Y. Arsenic enhances matrix metalloproteinase-14 expression in fibroblasts. *J Toxicol Environ Health A*, 71, 1053-1055, 2008.
12. Nishida Y, Miyamori H, Thompson EW, Takino T, Endo Y, Sato H. Activation of Matrix Metalloproteinase (MMP)-2 By Membrane-type 1-MMP Through An Artificial Receptor For ProMMP-2 Generates Active MMP-2. *Cancer Res.*, 68, 9096-9104, 2008.
13. Gantulga D, Baljinnyam Tuvshintugs B, Endo Y, Takino T, Sato H, Murakami S, Yoshioka K. The scaffold protein c-Jun NH2-terminal kinase-associated leucine zipper protein regulates cell migration through interaction with the G protein G α 13. *J. Biochemistry*, 144, 693-700, 2008.

著書・総説など

1. Sato H, Takino T. Coordinate action of membrane-type matrix metalloproteinase-1(MT1-MMP) and MMP-2 enhances pericellular proteolysis and invasion. *Cancer Science*, 101, 843-947, 2010.
2. 滝野隆久、佐藤博. (2009) がん分子標的治療研究 実践マニュアル p106-113、金芳堂

<学会発表>

<学会発表>

1. 堂本 貴寛、滝野 隆久、佐藤 博 「MT1-MMP activates matrilysin through the cleavage of its inhibitor HAI-1」 第70回日本癌学会学術総会 (2011年10月3-5日 名古屋)
2. 堂本 貴寛、滝野 隆久、佐藤 博
「MT1-MMPによるHAI-1切断を介したセリンプロテアーゼ系の制御」第20回日本がん転移学会総会 (2011年6月30-7月1日 浜松)
3. Guo Luyang、滝野 隆久、佐藤 博
「MT1-MMPによる免疫グロブリンファミリー膜タンパク KIM-1の切断」第20回日本がん転移学会総会 (2011年6月30-7月1日 浜松)
4. 滝野隆久、堂本 貴寛、佐藤 博 「MT1-MMPによるフィブロネクチンの重合と集積抑制」第20回日本がん転移学会総会 (2011年6月30-7月1日 浜松)
5. Luyang Guo, Takahiro Domoto, Takahisa Takino, Hiroshi Sato. 「Cleavage of KIM-1 by MT1-MMP」2011年日本分子生物学会第11回春季シンポジウム-金沢国際がん生物学シンポジウム (金沢)
6. 滝野 隆久、堂本 貴寛、佐藤 博 「MT1-MMP regulates fibronectin assembly」第70回日本癌学会学術総会 (2011年10月3-5日 名古屋)
7. 佐藤 博：会長講演「MT1-MMPによる細胞機能統御」第19回日本がん転移学会総会 (2010年6月16-19日、金沢)
8. 長尾亮太、滝野隆久、佐藤博「MT1-MMPによる細胞増殖誘導機構」(優秀演題賞) 第19回日本がん転移学会総会 (2010年6月16-19日、金沢)
9. 堂本貴寛、滝野隆久、佐藤博「MT1-MMPによるセリンプロテアーゼ系の制御」第19回日本がん転移学会総会 (2010年6月16-19日、金沢)
10. 第19回日本がん転移学会総会 (2010年6月16-19日、金沢)
11. 佐藤博、堂本貴寛、滝野隆久：口演「Gi24はMT1-MMPを介したMMP-2活性化を促進することによりがん細胞浸潤を亢進する」第69回日本癌学会学術総会 (2010年9月22-24日、大阪)

12. 堂本貴寛、滝野隆久、佐藤博「MT1-MMPによるHAI-1の分解を介したセリンプロテアーゼ系の制御」ポスターセッション：第69回日本癌学会学術総会（2010年9月22-24日、大阪）
13. 佐藤博「Overview of Metastatic Research and Roles of MT1-MMP in Tumor Invasion and Metastasis」International Symposium to Commemorate the 50th Anniversary of Osaka Medical Center for Cancer & Cardiovascular Diseases（2009年11月14日、大阪）
14. 滝野隆久、堂本貴寛、佐藤博「MT1-MMPは3次元コラーゲン内でc-srcとPaxillinを介してERK活性化と細胞増殖を亢進する」ポスターセッション：第69回日本癌学会学術総会（2010年9月22-24日、大阪）
15. 第18回日本がん転移学会総会 堂本 貴寛、滝野隆久、佐藤博「膜型セリンプロテアーゼによる膜型MMP活性化機構の解析」（優秀演題賞）2009年7月（旭川）
16. 第82回日本生化学会大会 滝野 隆久、佐藤 博「MT1-MMPによる浸潤性増殖誘導」、2009年10月（神戸）
17. 第68回日本癌学会学術総会 滝野 隆久、佐藤 博「MT1-MMPによる浸潤性増殖誘導」、2009年10月（横浜）
18. 第17回日本がん転移学会総会 西田 有希、滝野隆久、佐藤博「MT1-MMPによるMMP-2活性化は転移を増強する」（優秀演題賞）日本がん転移学会総会 2008年7月（鹿児島）
19. 第17回日本がん転移学会 滝野 隆久、小澤 晃正、西田 有希、佐藤 博「MT1-MMPによる浸潤性増殖誘導」、2008年7月（鹿児島）
20. 第17回日本がん転移学会小澤 晃正、滝野 隆久、西田 有希、佐藤 博「MT1-MMPによる細胞外マトリックス再構築誘導」、2008年7月（鹿児島）
21. 第67回日本癌学会総会 滝野 隆久、佐藤 博「MT1-MMPはFAKとERKを介して細胞増殖と浸潤を増強する」2008年10月（横浜）
22. 第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会 シンポジウム（マトリックスメタロプロテアーゼの新規機能：オーガナイザー；宮崎香、佐藤博）佐藤博、滝野隆久「MT1-MMP活性制御機構の解析」2008年12月（神戸）

7. 外部資金受け入れ状況

2012年

基盤研究（C）120万円（代表）滝野隆久

「細胞外マトリックス分解と細胞運動の極性形成維持機構」

2011年

基盤研究（B）450万円（代表）佐藤博（分担）滝野隆久、中田光俊

「膜型マトリックスメタロプロテアーゼ1のがん悪性化形質に果たす役割の解析」

基盤研究（C）170万円（代表）滝野隆久

「細胞外マトリックス分解と細胞運動の極性形成維持機構」

2010年

基盤研究 (B) 450万円 (代表) 佐藤博 (分担) 滝野隆久、中田光俊
「膜型マトリックスメタロプロテアーゼ1のがん悪性化形質に果たす役割の解析」

基盤研究 (C) 110万円 (代表) 滝野隆久
「細胞外微小環境変化と細胞運動誘導」

2009年

基盤研究 (B) 530万円 (代表) 佐藤博 (分担) 滝野隆久、中田光俊
「膜型マトリックスメタロプロテアーゼ1のがん悪性化形質に果たす役割の解析」

基盤研究 (C) 120万円 (代表) 滝野隆久
「細胞外微小環境変化と細胞運動誘導」

特定領域研究 260万円 (代表) 滝野隆久
「膜型マトリックスメタロプロテアーゼによる細胞運動極性制御機構」

2008年

基盤研究 (B) 470万円 (代表) 佐藤博 (分担) 滝野隆久、
「膜型マトリックスメタロプロテアーゼによる組織破壊機構の解析」

基盤研究 (C) 130万円 (代表) 滝野隆久
「細胞外微小環境変化と細胞運動誘導」

特定領域研究 260万円 (代表) 滝野隆久
「膜型マトリックスメタロプロテアーゼによる細胞運動極性制御機構」

出願特許等

該当なし

8. 特記事項

佐藤 博 2005-2008年 金沢大学がん研究所・所長
2008年 名古屋大学環境医学研究所国際外部評価委員
2008年 日本がん転移学会副会長
2009年 日本がん転移学会会長

2011年 日本がん転移学会監事
2011年～ 大阪大学蛋白質研究所専門委員会委員
2002年～ 日本癌学会評議員

2. 研究概要

光線力学的治療 (PDT) は低侵襲性のがん治療法の一つとして知られる。5-アミノレブリン酸 (以下5-ALA) は、従来のPDTで用いられてきたポルフィリン関連化合物とは異なり、がん細胞内でヘム合成経路の酵素群によりプロトポルフィリンIXに代謝され、光感受性物質として活性化される新世代の光感受性物質として注目されている。我々は5-ALAを用いる光線力学的療法 (ALA-PDT) の成否の鍵を握る感受性規定因子の同定と効果増強法に関する研究を展開している。これまでの研究により、ALA-PDT感受性は5-ALAの細胞内取り込みおよび排出に関与するトランスポーターの発現のバランスにより規定されることを明らかにした。最近では、ALA-PDTの効果的増強法の研究も進展し、特許出願も行っている。また、腹膜偽粘液腫(PMP)は100万人の一人に発症すると言われ、虫垂や卵巣を原発とする粘液産生腫瘍が腹腔内で播種性の転移を形成する疾患であるが、その発生機構は明らかではない。さらに腹膜偽粘液腫の予後との関連性が指摘されている組織型を診断する基準も未だ確立されていない。我々は、PMPに特徴的な遺伝子発現様式を網羅的に解析することで腫瘍マーカーとして有用な遺伝子を同定し、組織型診断や分子標的治療への応用を目指す研究を実施しており、有望な候補遺伝子も見出されつつある (特許出願中)。その他の研究としては、抗腫瘍性核酸代謝拮抗剤として開発中のCNDACは従来cytidine deaminase (CDA) 抵抗性であると考えられてきたが、CDAを過剰に発現するがん細胞においてはgemcitabine やcytarabineと同様に脱アミノ化され、不活化されること、さらに本来細胞内の代謝酵素であるCDAががん細胞では細胞外に放出され、血液中にもCDA活性が検出されことを明らかにした。

3. 主な研究成果

1. ALA-PDTに対する感受性規定因子としてペプチドトランスポーターおよびABCトランスポーターに着目し、ヒト胃がん細胞における PEPT1 ならびに BCRP1/ABCG2 mRNA の発現と ALA-PDT 感受性との関連性を検討した。その結果、1) 胃がん細胞の ALA-PDT 感受性は、5-ALA 処理後の細胞内 PpIX 蓄積量と相関すること、2) 胃がん細胞における PEPT1 mRNA の発現は、細胞内 PpIX 蓄積量と高い相関性を示すこと、3) ABCG2 mRNA を強発現する胃がん細胞は ALA-PDT 感受性に低感受性を示すこと等から、胃がん細胞における ALA-PDT 感受性は 5-ALA の細胞内取り込みに関与する PEPT1 と PPIX の排出を担う ABCG2 の機能的発現のバランスにより規定され、効果を予測する上で有用なマーカーとなることを明らかにした (Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, in press, online 4 January 2012; 第 70 回日本癌学会学術総会 2011 年 10 月; 日本薬学会第 132 年会 2012 年 3 月等)。
2. ALA-PDT では、低用量の 5-ALA で処理した場合、アポトーシスにより、高用量ではネクローシスによる細胞死を誘導する。この ALA-PDT により誘導されるアポトーシスは p53 の 15 番目のセリンのリン酸化を阻害する pifithrin- α により抑制され、野生型 p53 を有するがん細胞は ALA-PDT に高感受性を示すことから、p53 の遺

伝子型は ALA-PDT 感受性を規定する因子の一つであることを明らかにした (ALA-Porphyrin Science, 2012; 1: 23-31)。

3. ヒトがん細胞を用いた ALA-PDT 感受性試験法により効果増強作用を有する低分子化合物のスクリーニングを実施し、有望なリード化合物を見出した (特願 2012-136227 平 24. 6. 15)
4. PMP 中でも、特に良好な totalRNA 試料が得られた検体とヒト正常組織およびがん細胞の網羅的遺伝子発現解析を実施し、腹膜偽粘液腫において特徴的に高発現する候補遺伝子を見出した (特願 2012-134683 平 24. 6. 14)
5. ABCG2 トランスポーターの基質である抗がん剤と、5-ALA とを併用することによって、かかる抗がん剤の抗がん作用を増強し得ることを見出した (特願 2010-147334 平 22. 6. 29 : 特許公開 2012-12305 平 24. 1. 19)
6. 我々は固形がんに対しても有用な核酸代謝拮抗性抗がん剤として、2'-デオキシシチジン誘導体 (CNDAC, DMDC) および 3'-エチニルヌクレオシド類 (ECyd, EUrd, EAdo) を開発し、それらの抗腫瘍作用機序と耐性化機序の解明研究を行ってきた。米国において治験中の CNDAC は従来 cytidine deaminase (CDA) 抵抗性であると考えられてきたが、CDA を過剰に発現するがん細胞においては gemcitabine や cytarabine と同様に脱アミノ化され、不活化されること、さらに本来細胞内の代謝酵素である CDA ががん細胞においては細胞外に放出され、血液中にも CDA 活性が検出され、不活化因子として働くことを明らかにした (Drug Metab Dispos. 2010)

4. 今後の研究目標

1. ALA-PDT の応用研究に関しては徳島大学の宇都義浩准教授との共同研究で新規 ALA-PDT 効果増強剤の探索研究を継続的に実施するとともに、これまでに見出された化合物の誘導体展開を行う。既に ALA-PDT に対する獲得耐性細胞のサブクローン複数株を独自に樹立することに成功し、これらの耐性細胞における網羅的遺伝子発現解析も既に完了している。今後、ALA-PDT 耐性機構を明らかにして、新規作用機序を有する効果増強剤の開発研究への応用を目指す。ALA-PDD に関しては本学脳神経外科中田光俊助教とも悪性脳腫瘍における感受性規定因子の同定とその応用に関する共同研究を行っているが (Br J Cancer. 2011 Mar 1;104(5):798-807、第 11 回日本分子脳神経外科学会、2010 年 8 月仙台)、実際の臨床がん組織における PEPT1 や ABCG2 等の ALA-PDT 感受性関連トランスポーターの発現についてはほとんど研究されていない。我々は従来、適用のなかった腹膜播種などの進行癌の診断および治療への 5-ALA の応用を目指し、多様ながん組織における PEPT1 や ABCG2 を解析し、ALA-PDD および ALA-PDT 感受性との関連性を精査したいと考えている。

2. 年間 10 症例を目標に網羅的遺伝子発現解析を実施して、PMP 遺伝子発現データベースを構築することにより、データベース治療方針の決定に重要な所見となる PMP 組織分類に有用な腫瘍マーカーの確立を目指したい。さらに、腫瘍を含む種々の培養細胞に cDNA 発現ベクターを導入し、PMP 関連遺伝子を発現させ、生物学的な表現系を解析する。実験動物に移植することで PMP の病態を再現できるか否かについて検証し、再現された場合、治療実験モデルとしての応用の可能性を検討する予定である。以上、がん治療の

発展に寄与する研究を有機的に実施していきたい。

5. 共同利用・共同研究拠点としての役割を果たすことに関連する活動について現在、当研究所の細胞バンクの管理、運用を担当しているほか、細胞を使用した研究法の相談および指導も要請に応じ積極的に受け入れている。また、以下の共同研究課題を外部機関の研究者と実施している。

平成23年度

1. 徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部 准教授 宇都 義浩 先生
ヒトがん細胞を用いた抗転移性制癌剤の開発
2. 東京工業大学フロンティア研究機構 特任准教授 小倉俊一郎 先生
アミノレブリン酸投与後の腫瘍特異的ポルフィリン蓄積メカニズムの細胞レベルでの解明

平成24年度

1. 徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部 准教授 宇都 義浩 先生
ヒトがん細胞を用いた抗転移性低酸素サイトトキシン類の開発
2. 東京工業大学フロンティア研究機構 特任准教授 小倉俊一郎 先生
アミノレブリン酸投与後の腫瘍特異的ポルフィリン蓄積メカニズムの細胞レベルでの解明

6. 研究業績

原著論文

1. Hagiya Y, Endo Y (equal contribution), Yonemura Y, Okura I, Ogura S: Tumor Suppressor Protein p53-dependent Cell Death Induced by 5-Aminolevulinic Acid (ALA)-based Photodynamic Sensitization of Cancer cells in Vitro. ALA-Porphyrin Science (ISSN 2187-1639), 2012; 1: 23-31.
2. Hagiya Y, Endo Y (equal contribution), Yonemura Y, Takahashi K, Ishizuka M, Abe F, Tanaka T, Okura I, Nakajima M, Ishikawa T, Ogura S: Pivotal Roles of Peptide Transporter PEPT1 and ATP-Binding Cassette (ABC) Transporter ABCG2 in 5-Aminolevulinic Acid (ALA)-Based Photocytotoxicity of Gastric Cancer Cells in Vitro. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, in press, available online 4 January 2012 (December 06, 2011, accepted)
3. Hideki Katagiri, Ichiro Nishizaki, Tomohiro Hayashida, Yoshio Endo, Hisashi Miyamori and Junya Hirai: A GO similarity measurement method based on information contents and semantic values, International Journal of Biomedical Soft Computing and Human Sciences (in press), Feb 17, 2011, accepted.
4. Teng L, Nakada M, Zhao SG, Endo Y, Furuyama N, Nambu E, Pyko IV, Hayashi Y, Hamada JI. Silencing of ferrochelatase enhances 5-aminolevulinic acid-based fluorescence and photodynamic therapy efficacy. Br J Cancer. 2011 Mar 1;104(5):798-807.

5. Abe C, Uto Y, Nakae T, Shinmoto Y, Sano K, Nakata H, Teraoka M, Endo Y, Maezawa H, Masunaga S, Nakata E, Hori H. Evaluation of the In vivo Radiosensitizing Activity of Etanidazole Using Tumor-bearing Chick Embryo. *J Radiat Res (Tokyo)*. 2011/03;52(2):208-14.
6. Yonemura Y, Endou Y, Sasaki T, Hirano M, Mizumoto A, Matsuda T, Takao N, Ichinose M, Miura M, Li Y. Surgical treatment for peritoneal carcinomatosis from gastric cancer. *Eur J Surg Oncol*. 2010 Dec;36(12):1131-8. Epub 2010 Oct 8.
7. Yoshida T, Endo Y, Obata T, Kosugi Y, Sakamoto K, Sasaki T. Influence of cytidine deaminase on antitumor activity of 2'-deoxycytidine analogues in vitro and in vivo. *Drug Metab Dispos*. 2010 Oct;38(10):1814-9. 2010 Jun 29. [Epub ahead of print]
8. Yonemura Y, Endou Y, Shinbo M, Sasaki T, Hirano M, Mizumoto A, Matsuda T, Takao N, Ichinose M, Mizuno M, Miura M, Ikeda M, Ikeda S, Nakajima G, Yonemura J, Yuuba T, Masuda S, Kimura H, Matsuki N. Safety and efficacy of bidirectional chemotherapy for treatment of patients with peritoneal dissemination from gastric cancer: Selection for cytoreductive surgery. *J Surg Oncol*. 2009 Sep 15;100(4):311-316.
9. 安部千秋, 宇都義浩, 遠藤良夫, 新元優也, 中島宏一郎, 佐野圭一郎, 佐々木有紀, 皆巳和賢, 前澤 博, 増永慎一郎, 中田栄司, 堀 均: 次世代動物実験系としての腫瘍移植鶏卵の構築と放射線照射による腫瘍成長阻害活性. *放射線生物研究* 2009 44(2):233-241.
10. Nishida Y, Miyamori H, Thompson Ew, Takino T, Endo Y, Sato H. Activation of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) by membrane type 1 matrix metalloproteinase through an artificial receptor for proMMP-2 generates active MMP-2. *Cancer Res*. 2008 Nov 1;68(21):9096-104.
11. Gantulga D, Tuvshintugs B, Endo Y, Takino T, Hiroshi S, Murakami S, Yoshioka K. The scaffold protein c-Jun NH2-terminal kinase-associated leucine zipper protein regulates cell migration through interaction with the G protein G{alpha}13. *J Biochem*. 2008 Dec;144(6):693-700. Epub 2008 Sep 30.
12. 米村豊、新保雅也、萩原明於、島田信也、中島豪、岡村寛子、平野正満、水野光邦、遠藤良夫、三浦真弘、水本明良: P0・Cy1 胃癌の治療. 2008 年 4 月臨時増刊号“特集 胃癌のすべて” *消化器外科*, 2008 31(5): 802-12.

著書・総説など

1. 米村豊、遠藤良夫、三浦真弘: 腹膜播種転移形成の分子機構. “新編 スキルス胃癌-基礎と臨床-” 改訂版、曾和融生、井藤久雄編、*医薬ジャーナル*、PP158-175 (2010 年 3 月) .
2. 米村豊、新保雅也、平野正満、島田信也、池田聡、三浦真弘、遠藤良夫、佐々木琢磨: 腹膜播種形成の分子機構と治療法. “ハイパーサーミア-がん温熱治療ガイドブック”、日本ハイパーサーミア学会編、*毎日健康サロン*、PP58-63 (2008 年 5 月) .

学会発表

2012 年学会発表

1. 遠藤 良夫, 小倉 俊一郎, 萩谷 祐一郎, 米村 豊, 石塚 昌宏, 井上 克司, 高橋 究, 中島 元夫: 5-アミノレブリン酸を用いるがんの光線力学的療法感受性と膜輸送系の関連性 日本薬学会第 132 年会 2012 年 3 月 30 日(札幌、北海道大学) 口演
2. 田中大地, 宇都義浩, 安部千秋, 遠藤良夫, 前澤博, 原田浩, 増永慎一郎, 堀均: 腫瘍移植鶏卵における低酸素腫瘍の同定とエタニダゾールの *in vivo* 放射線増感活性の評価 日本薬学会第132年会 2012年3月29日(札幌、北海道大学)
3. 宇都義浩, 田中大地, 野口智帆, 原田 浩, 遠藤良夫, 前澤 博, 増永慎一郎, 堀 均: HIF-1-GFP 発現系を利用した腫瘍移植鶏卵における低酸素領域の解析と放射線による分布変化の観察 第 18 回癌治療増感研究会 2012 年 6 月 9 日(土) (大阪、大阪大学吹田キャンパス)
4. (発表予定) Endo Yoshio, Ogura Shun-ichiro, Yonemura Yutaka, Ishizuka Masahiro, Inoue Katsushi, Takahashi Kiwamu, Nakajima Motowo, Kimura Masashi: Molecular mechanism underlying ALA-PDT resistance in human cancer cells 第 71 回日本癌学会学術総会 2012 年 9 月 (札幌、ロイトン札幌、札幌市教育文化会館)
5. (発表予定) Yoshihiro Uto, Chiaki Abe, Toru Yoshitomi, Yukio Nagasaki, Yoshio Endo and Hitoshi Hori: Evaluation of *in vivo* antioxidative activity of O-TEMPO-RNP using our newly developed chicken egg assay. The 16th biennial meeting for the Society for Free Radical Research International (SFRRRI) 6-9 September 2012 (Imperial College' s SOUTH KENSINGTON campus, London, UK)

2011 年学会発表

6. Yoshihiro Uto, Chiaki Abe, Toru Yoshitomi, Yukio Nagasaki, Yoshio Endo and Hitoshi Hori: *In vivo* antioxidative activity of O-TEMPO-RNP using our developed chicken egg assay 第21回日本MRS学術シンポジウム 2011年12月(横浜、横浜市開港記念会館・横浜情報文化センター)
7. Yoshihiro Uto, Chiaki Abe, Toru Yoshitomi, Yukio Nagasaki, Yoshio Endo, Eiji Nakata, Hitoshi Hori: Development of an *in vivo* evaluation system of antioxidants using fertilized chicken eggs International Conference on Biomaterials Science ICBS2011 in Tsukuba, Japan 2011 年 5 月 (つくば、つくば国際会議場)
8. 宇都義浩, 安部千秋, 川崎彩加, 吉富徹, 長崎幸夫, 遠藤良夫, 堀均: 酸化ストレス発育鶏卵モデルを用いたラジカル含有ナノ粒子 TEMPO-RNP の *in vivo* 抗酸化活性評価 第 64 回日本酸化ストレス学会 2011 年 7 月 (北海道、ルスツ)
9. 遠藤 良夫, 小倉 俊一郎, 萩谷 祐一郎, 米村 豊, 石塚 昌宏, 井上 克司, 高橋 究, 中島 元夫: 5-アミノレブリン酸を用いるがんの光線力学的療法感受性と膜輸送系の関連性 日本薬学会第 131 年会 2011 年 3 月 (静岡、ツインメッセ静岡)
10. Yoshio Endo, Shun-ichiro Ogura, Yuichiro Hagiya, Yutaka Yonemura, Masahiro Ishizuka, Tohru Tanaka, Katsushi inoue, Kiwamu Takahashi, Motowo Nakajima: Role of membrane transporters in determining ALA-PDT sensitivity in human cancer cells 日本分子生物学会第 11 回春季シンポジウム 2011 年 5 月 (金沢、石川県立音楽堂)

11. Yoshio Endo, Shun-ichiro Ogura, Yuichiro Hagiya, Yutaka Yonemura, Masahiro Ishizuka, Tohru Tanaka, Katsushi inoue, Kiwamu Takahashi, Motowo Nakajima, Masashi Kimura: Significance of membrane transporters in determining the ALA-PDT sensitivity in human cancer cells 第70回日本癌学会学術総会 2011年10月 (名古屋、国際会議場)
12. Yuichiro Hagiya, Yoshio Endo, Yutaka Yonemura, Kiwamu Takahashi, Masahiro Ishizuka, Fuminori Abe, Motowo Nakajima, Toshihisa Ishikawa, Shun-ichiro Ogura: Pivotal Role of PEPT1 and ABCG2 on 5-Aminolevulinic Acid (ALA)-based Photodynamic Sensitization of Gastric Cancer Cells *in Vitro*. 第70回日本癌学会学術総会 2011年10月 (名古屋、国際会議場)
13. Yutaka Yonemura, Haruaki Ishibashi, Akiyosi Mizumoto, Masamitsu Hirano, Masumi Ichinose, Npbuyuki Takao, Yoshio Endo, Masahiro Miura, Ayman Elnemr, Akeo Hagiwara, Tsuyozumi Togawa, Yuuki Ozamoto: A new concept regarding the mechanism of peritoneal carcinomatosis: Trans-lymphatic metastasis. 第70回日本癌学会学術総会 2011年10月 (名古屋、国際会議場)
14. Chiaki Abe, Yoshihiro Uto, Yoshio Endo, Hiroshi Maezawa, Shin-ichiro Masunaga, Hitoshi Hori: Evaluation of the In vivo Radiosensitizing Activity of Etanidazole Using Tumor-Bearing Chick Embryo 第70回日本癌学会学術総会 2011年10月 (名古屋、国際会議場)

2010年学会発表

15. Yuichiro Hagiya, Yoshio Endo, Katsushi Inoue, Kiwamu Takahashi, Shun-ichiro Ogura, Ichiro Okura: Tumor specific porphyrin accumulation after administration of 5-Aminolevulinic acid 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2010年 (平成22年) 12月15日 (水) ~20日 (月) (Honolulu, Hawaii, USA)
16. Uto Y, Abe C, Nakae T, Endo Y, Tominaga M, Maezawa H, Nakata E, Hori H: Systems biology-based drug design of sugar-hybrid hypoxic cell radiosensitizers using the tumorimplantablechick embryo model The 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2010) 2010年11月15-20日 (Honolulu, Hawaii, USA)
17. Yuichiro Hagiya, Yoshio Endo, Shun-ichiro Ogura: Tumor specific porphyrin accumulation after administration of 5-aminolevulinic acid 第69回日本癌学会学術総会 2010年9月 (大阪、大阪国際会議場)
18. Yoshio Endo, Shun-ichiro Ogura, Yuichiro Hagiya, Yutaka Yonemura, Masahiro Ishizuka, Katsushi Inoue, Kiwamu Takahashi, Motowo Nakajima: Role of membrane transporters in determining ALA-PDT sensitivity in human cancer cells 第69回日本癌学会学術総会 2010年9月 (大阪、大阪国際会議場)
19. Ayako Kitano, Takeo Shimasaki, Yuri Chikano, Mitsutoshi Nakada, Tomomi Higashi, Yasuhito Ishigaki, Yoshio Endo, Yoshimichi Sai, Ken-ichi Miyamoto, Yoshiharu Motoo, Kazuyuki Kawakami, Toshinari Minamoto: Pathological role for deregulated glycogen synthase kinase (GSK) 3beta in pancreatic cancer proliferation and invasion 第69回日本癌学会学術総会 2010年9月 (大阪、大阪国際会議場)

20. Yutaka Yonemura, Masahiro Miura, Yoshio Endou: A new concept of the formation of peritoneal dissemination and new strategy to control peritoneal metastasi 第 69 回日本癌学会学術総会 2010 年 9 月 (大阪、大阪国際会議場)
21. Lei Teng, Mitsutoshi Nakada, Shi-Guang Zhao, Yoshio Endo, Natsuki Furuyama, Ilya V. Pyko, Yutaka Hayashi, and Jun-Ichiro Hamada: Enhanced quality of 5-aminolevulinic acid molecular imaging by targeting ferrochelatase 第 11 回日本分子脳神経外科学会 2010 年 8 月 27 日 (金)・28 日 (土) (仙台・良陵会館記念ホール)
22. 萩谷祐一郎、遠藤良夫、小倉俊一郎、大倉一郎: アミノレブリン酸投与における腫瘍特異的ポルフィリン蓄積機構の解明 第 37 回ポルフィリン研究会学術総会 2010 年 4 月 17 日 (土) (横浜、東京工業大学すずかけホール)
23. 宇都義浩、安部千秋、中江 崇、村井絵美、遠藤良夫、富永正英、前澤 博、中田栄司、堀 均: 腫瘍移植鶏卵モデルによる糖ハイブリッド放射線増感剤の *in vivo* 放射線増感活性の評価 第 16 回増感研究会 2010 年 6 月 19 日 (土) (岐阜、県民文化ホール未来会館)
24. 宇都義浩、安部千秋、吉富 徹、長崎幸夫、遠藤良夫、中田栄司、堀 均: 障害による鶏胎児の致死毒性に対するラジカル含有ナノ粒子 TEMPO-RNP の防護効果 第 63 回日本酸化ストレス学会学術集会 2010 年 6 月 24 日 (木)-25 日 (金) (横浜、神奈川県民ホール)
25. 吉田、孝寛、遠藤良夫、小幡徹、佐々木琢磨: 2'-デオキシシチジン誘導体耐性がん細胞株におけるシチジンデアミナーゼ分泌の亢進 日本薬学会第 130 年会 2010 年 3 月 (岡山、岡山県桃太郎アリーナ)

2009 年学会発表

26. 宇都義浩、安部千秋、新元優也、中江 崇、中島宏一郎、佐野圭一郎、遠藤良夫、皆巳和賢、前澤 博、増永慎一郎、中田栄司、堀 均: 腫瘍移植鶏卵を用いた *in ovo* 放射線増感活性評価系の確立 第 11 回増感シンポジウム 2009 年 2 月 (奈良)
27. 新元優也、宇都義浩、遠藤良夫、安部千秋、中島宏一郎、佐野圭一郎、佐々木有紀、皆巳和賢、前澤 博、増永慎一郎、中田栄司、堀 均: 腫瘍移植鶏卵を用いた *in ovo* 放射線増感活性評価系の確立 日本薬学会第 129 年会 2009 年 3 月 (京都)
28. 中江 崇、宇都義浩、阿部千秋、新元優也、金園剛行、中島宏一郎、佐野圭一郎、富永正英、前澤 博、増永慎一郎、遠藤良夫、中田栄司、堀 均: 腫瘍移植鶏卵モデルによる糖ハイブリッド低酸素細胞放射線増感剤 TX-2244 の腫瘍移行性 日本薬学会第 129 年会 2009 年 3 月 (京都)
29. 宇都義浩、中江 崇、安部千秋、新元優也、佐野圭一郎、遠藤良夫、富永正英、前澤 博、中田栄司、堀 均: 腫瘍移植鶏卵モデルによる糖ハイブリッド放射線増感剤の薬物動態解析 第 15 回癌治療増感研究会 2009 年 6 月 (京都)
30. Uto Y, Abe C, Endo Y, Maezawa H, Nakata E, Hori H: Pharmacokinetic drug design of sugar-hybrid radiosensitizers using the tumor implant chick embryo model 第 68 回日本癌学会学術総会, 2009 年 10 月 (横浜)
31. Yoshida T, Endo Y, Obata T, Sasaki T: Increased secretion of cytidine deaminase protein in cancer cells resistant to antitumor 2'-deoxycytidine analogues 第 68 回日本癌学会学術総会, 2009 年 10 月 (横浜)

32. Kano S, Endo Y, Ogura S, Yonemura Y, Ishizuka M: Effect of experimental photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid on human gastric cancer cells 第 68 回日本癌学会学術総会, 2009 年 10 月 (横浜)
33. 小倉俊一郎、遠藤良夫、石塚昌宏、井上克司、田中徹、米村豊: アミノレブリン酸(ALA)による腹膜播種の診断ならびに治療の基礎検討 第 1 回播種性転移研究会 (草津) 2009 年 10 月

2008 年学会発表

34. 山崎聡子、田畑まゆ、小幡徹、川上和之、佐々木琢磨、宮本謙一、遠藤良夫: ヒトがん細胞における gemcitabine の感受性規定因子の同定. 日本薬学会第 128 年会, 2008 年 3 月 (横浜)
35. 安部 千秋, 佐々木 有紀, 宇都 義浩, 遠藤 良夫, 中田 栄司, 永澤 秀子, 堀均: 鶏卵胚を用いた酸化血管障害に対する *in vivo* 抗酸化活性評価法の構築. 日本薬学会第 128 年会, 2008 年 3 月 (横浜)
36. Uto Y, Endo Y, Maezawa H, Nagasawa H, Hori H: Design of radiosensitizer based on the *in vivo* radiosensitizing activity against for solid tumor with tumor implant on chick embryo. 第 67 回日本癌学会学術総会, 2008 年 10 月 (名古屋)
37. Tabata M, Yamazaki S, Kawakami K, Sasaki T, Obata T, Endo Y: Enzymatic activity and protein levels of cytidine deaminase in serum from patients with lung cancer. 第 67 回日本癌学会学術総会, 2008 年 10 月 (名古屋)
38. Uto Y, Abe C, Endo Y, Nakata E, Nagasawa H, Hori H: Development of an *in vivo* evaluation system of antioxidants for their vascular protective activities using the chick embryo chorioallantoic membrane. ISSOT 2008. The International Society on Oxygen Transport to Tissue August 3 - 7, 2008 in Sapporo Prince Hotel
39. 宇都義浩, 中江崇, 佐々木有紀, 安部千秋, 中島宏一郎, 新元優也, 佐野圭一郎, 遠藤良夫, 皆巳和賢, 前澤博, 中田栄司, 永澤秀子, 堀均: 次世代動物実験系としての腫瘍移植鶏卵の構築と放射線照射による腫瘍成長阻害活性. 第 14 回癌治療増感研究会, 2008 年 6 月 (三重県鈴鹿市)

特許

1. 特願 2012-134683 平 24. 6. 14
2. 特願 2012-136227 平 24. 6. 15
3. 特願 2012-147334 平 23. 6. 29 (特許公開 2012-12305 平 24. 1. 19)

7. 外部資金受入れ状況

科学研究補助金

厚生労働科学研究費補助金

平成 23 年度難治性疾患克服研究事業 (研究課題名) 腹膜偽粘液腫の本邦における発生頻度・病態の解明・治療法の開発 分担研究 直接経費 80 万

平成 24 年度難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患克服研究事業) (研究課題名) 腹

膜偽粘液腫の本邦における発生頻度・病態の解明・治療法の開発 分担研究 直接経費 30 万

文部科学省科学研究費助成事業

平成 23～25 年度

基盤研究 (C) 代表 遠藤良夫 「細胞膜輸送系の機能修飾に基づく光線力学的治療の効果増強法の基礎開発」直接経費 360 万

民間等との共同研究

1. CG-0321 の抗転移活性の評価と作用機序の解明 (2011 年 9 月-2012 年 3 月 直接経費 30 万)
2. 5-ALA を用いた転移性胃癌の術中診断および治療法の開発 (2010 年 8 月-2011 年 7 月 直接経費 200 万)
3. 5-アミルプリン酸を用いた転移性胃癌の術中診断の開発 (2009 年 1 月～2009 年 12 月 142.9 万)
4. 腹膜播種がん治療用抗体の評価研究 (2008 年 10 月～2009 年 9 月 直接経費 95.3 万)
5. 5-アミルプリン酸を用いた転移性胃癌の術中診断の開発 (2007 年 7 月～2008 年 6 月 直接経費 95.3 万)

寄付金

2010 年 9 月 (120.5 万、内間接経費 20.5 万)

8. 特記事項

ALA-PDT 感受性規定因子に関する共同研究の成果について日刊工業新聞 2011 年 10 月 5 日朝刊 17 面に掲載された