

がん分子標的探索プログラム

分子病態研究分野

<研究スタッフ>

教授 後藤 典子

助教 中田 飛鳥

技能補佐員 武 紀代子

【研究概要】

癌と癌幹細胞に注目し、基礎研究から臨床へと連続する研究の展開を目指している。最先端の分子生物学、細胞生物学的手法、さらにはシステム生物学的理論を組み合わせ、癌の早期発見や個々の患者に最適な治療法を選択するための診断マーカーの抽出、そして新しい抗がん剤開発のための新たな分子標的の発見を試み、トランスレーショナルリサーチへと展開している。

<2013年の研究成果、進捗状況>

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。

MTHFD2 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 11 遺伝子に絞り込んだ。

2) 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, MICAL3 などが新規分子標的候補として得られた。

3) 乳がんマウスモデルを使ったがん幹細胞の解析

乳がん幹細胞が、周囲の微小環境を形成するがん幹細胞ニッチを利用して生体内に棲みつくしくみの一端を明らかにした。また、正常の幹細胞・前駆細胞には、受容体チロシンキナーゼのシグナル伝達を抑制するたがが仕組みされており、細胞増殖が抑えられている。がん幹細胞はこれも巧みに利用し、自己複製やがん幹細胞ニッチを操り、生体内に棲みつくことも事が明らかになってきた。

FRS2beta アダプター分子は、HER/ErbB 受容体チロシンキナーゼファミリーに恒常的に結合している。HER ファミリー分子のチロシンキナーゼ活性が上昇して、ERK が活性化すると、このリン酸化 ERK と FRS2beta は結合して、ERK の核内への移行を抑制するため、FRS2beta は HER シグナル伝達のフィードバック抑制分子、言い換えれば「たが」として機能している。FRS2beta ノックアウトマウスと、乳がんモデルマウス MMTV-neu とを交配させたマウスの乳がんは、腫瘍の増殖能が悪く、がん幹細胞の機能が弱くなっていることがわかった。現在その分子機序を詳細に解析している。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著論文

1. 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. (研究室主体)
2. 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. (共同研究)
3. 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.*, in press. (共同研究)

4. 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.*, in press. (共同研究)
5. 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. (共同研究)
6. 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. (共同研究)
7. 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. (共同研究)
8. 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. (共同研究)

<総説>

1. 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
2. Hinohara, K. & Gotoh, N.: NF-kappaB pathways in breast cancer stem cells for tumorigenesis.
In: *Breast cancer, Bentham eBooks, Bentham Science*, in press.

<学会発表>

国際学会

1. 後藤典子 : "Receptor tyrosine kinase signaling controls breast cancer stem cells."
SNUCRI & KUCRI Symposium, 2013年7月10日, ソウル, 韓国。
2. Yukino Machida, Daisuke Iejima, Anna Mizutani, Reiko Sakamoto, Yusuke Inoue,

Nobutaka Kobayashi, Naoki Itano, Arinobu Tojo, Nobuaki Yoshida, and Noriko Gotoh :
“Growth factor receptor signaling controls breast cancer stem cells and their niche”
Gradients and Signaling: from chemotaxis to development, 2013年11月11
日～15日, 沖縄, OIST

3. Noriko Gotoh : “Prognostic gene signature and novel molecular targets derived from EGF receptor tyrosine kinase signaling.” , 日韓がんワークショップ, 2013年11月29日～12月1日
4. Yukino Machida, Arinobu Tojo and Noriko Gotoh : “Growth factor receptor signaling controls breast cancer stem cells and their niche”, 日韓がんワークショップ, 2013年11月29日～12月1日
5. Kana Tominaga, Kunihiko Hinohara, Teppei Shimamura, Satoru Miyano, Arinobu Tojo, Noriko Gotoh : “MICAL3 regulates mammosphere formation in human breast cancer.”
Gradients and Signalling: from chemotaxis to development, 2013年11月11日～15日, 沖縄, OIST

全国学会

1. 後藤典子 : 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
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3～5日, 横浜
2. Kana Tominaga, Hajime Kanauchi, Seiichiro Shimizu, Kotoe Nishioka, Ei-ichi Tsuji, Kei-ichiro Tada, Masaki Mori, Hideshi Ishii, Toshihisa Ogawa, Arinobu Tojo, and Noriko Gotoh : “MICAL3 regulates mammosphere formation in human breast cancer.” **第36回日本分子生物学会年会**, 2013年12月3～6日, 神戸
3. 西村建徳, 中田飛鳥, 東條有伸, 後藤典子 : “MTHFD2 is a key molecule in EGF receptor tyrosine kinase and regulates lung cancer cell growth.” **第36回日本分子生物学会年会**, 2013年12月3～6日, 神戸
4. Yukino Machida, Daisuke Iejima, Natsuko Kimura, Anna Mizutani, Reiko Sakamoto, Yusuke Inoue, Nobutaka Kobayashi, Naoki Itano, Arinobu Tojo, Nobuaki Yoshida, and Noriko Gotoh : “Growth factor receptor signaling controls breast cancer stem cells and their niche” **第36回日本分子生物学会年会**, 2013年12月3～6日, 神戸
5. Yukino Machida, Daisuke Iejima, Anna Mizutani, Reiko Sakamoto, Yusuke Inoue, Nobutaka Kobayashi, Naoki Itano, Arinobu Tojo, Nobuaki Yoshida, and Noriko Gotoh : “Growth factor receptor signaling controls breast cancer stem cells and their niche”
第72回日本癌学会学術総会, 2013年10月3～5日, 横浜

6. Kana Tominaga, Kunihiko Hinohara, Teppei Shimamura, Satoru Miyano, Arinobu Tojo, Noriko Gotoh : “GDF15 promotes mammosphere formation in breast cancer.” 第72回日本癌学会学術総会, 2013年10月3～5日, 横浜
7. 西村建徳, 中田飛鳥, 東條有伸, 後藤典子 : “MTHFD2, an enzyme in a folate-metabolism, is a key molecule in EGF receptor tyrosine kinase and stimulates growth of lung cancer cells.” 第17回日本がん分子標的治療学会, 2013年6月13日, 京都
8. 後藤典子 : “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
9. 西村建徳, 中田飛鳥, 東條有伸, 後藤典子 : “MTHFD2, an enzyme in folate-metabolism, is a key molecule in EGF receptor tyrosine kinase and regulates lung cancer cell growth.” 第11回幹細胞シンポジウム, 2013年5月17日, 東京
10. Kana Tominaga, Kunihiko Hinohara, Teppei Shimamura, Satoru Miyano, Arinobu Tojo, Noriko Gotoh : “GDF15 promotes mammosphere formation in breast cancer.” 第11回幹細胞シンポジウム, 2013年5月17日, 東京
11. Yukino Machida, Daisuke Iejima, Anna Mizutani, Reiko Sakamoto, Yusuke Inoue, Nobutaka Kobayashi, Naoki Itano, Nobuaki Yoshida, and Noriko Gotoh : “Growth factor receptor signaling controls breast cancer stem cells and their niche” 第11回幹細胞シンポジウム, 2013年5月17日, 東京
12. 日野原邦彦, 島村徹平, 福田裕章, 富永香菜, 金内一, 新井田厚司, 多田敬一郎, 小川利久, 宮野悟, 後藤典子 “A PI3K-dependent gene expression program that regulates mammosphere formation of breast cancer cells.” 第11回幹細胞シンポジウム, 2013年5月17日, 東京

<外部資金>

1. 後藤典子, 新学術領域研究・研究領域提案型「癌幹細胞」計画研究, 代表, 12,000千円
2. 後藤典子, 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, 代表, 6,462千円
3. 後藤典子, 基盤研究(B)(一般)代表, 2,900千円
4. 後藤典子, 研究成果最適展開支援プログラム シーズ顕在化タイプ, 代表, 5,527千円
5. 後藤典子, 北国がん基金 研究助成, 1,000千円
6. 中田飛鳥, 若手B, 代表, 1,400千円

<共同研究>

1. 井上純一郎 東京大学医科学研究所 「悪性乳癌幹細胞維持における転写因子 NF- κ B の役割解明」
2. 河野隆志 国立がん研究センター 「がん幹細胞形質を増強する肺がん遺伝子異常の同定」
3. 石井秀始, 森正樹 大阪大学消化器外科学 「膵臓がんの薬剤耐性に関わる miRNA の同定」
4. 北嶋俊輔, 高橋智聡 金沢大学がん進展制御研究所 「細胞自律的炎症とメタボリック・リプログラミングによるがん幹細胞維持機構」
5. 鈴木穰 東京大学新領域創成科 「臨床検体乳がんスフェア培養細胞のゲノム解析」
6. Raj Ladher, 理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター 「FGFR 並びに FRS2alpha のマウス個体を用いた内耳発生の解析」
7. Xin Zhang, コロンビア大学, 米国 「FGFR 並びに FRS2alpha のマウス個体を用いた眼と視神経発生の解析」
8. Anna Akhmanova, Utrecht University, オランダ 「MICAL3 の乳がん幹細胞における役割」
9. 北林一生 (国立がん研究センター), 佐谷秀行 (慶応大学) 「乳がん幹細胞の発生機構の解析」