

平 28 年 度 委 託 研 究 開 発 成 果 報 告 書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的がん医療実用化研究事業
(英語) Practical Research for Innovative Cancer Control

研究開発課題名： (日本語) p53 経路が規定する難治がんの分子標的と治療抵抗性の解析
(英語)

研究開発担当者 (日本語) 研究所難治進行がん研究分野 ユニット長 江成政人
所属 役職 氏名： (英語) Division of Refractory and Advanced Cancer, Laboratory Head, Masato Enari

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) PHLDA3 など機能未知の新規 p53 標的遺伝子の解析
開発課題名： (英語) Analysis of novel p53 target genes with unknown functions

研究開発分担者 (日本語) 基礎腫瘍学ユニット・ユニット長、大木 理恵子
所属 役職 氏名： (英語) Laboratory of Fundamental Oncology, Laboratory Head, Rieko Ohki

II. 成果の概要（総括研究報告）

本研究では、ヒト臨床組織から ALK 融合陽性肺腺がん細胞株の樹立を試み、ALK 阻害剤や p53 活性化剤の薬剤抵抗性とがん幹細胞様形質との関連性を明らかにするとともに、それら薬剤に対する抵抗性に関与する因子を網羅的な解析により同定すること、がん随伴線維芽細胞の有無によるそれら薬剤抵抗性への影響について調べることを目的とした。一方、膵内分泌腫瘍患者の治療成績と PHLDA3 遺伝子異常との関連を調べ、PHLDA3 遺伝子異常の有無による膵内分泌腫瘍の診断法開発の土台を築くとともに、膵内分泌腫瘍の疾患モデルを用いて、膵内分泌腫瘍発生のメカニズムを解析し、新規の治療標的分子を同定することを目的とした。それら研究開発の成果を以下に示す。

まず ALK 阻害剤抵抗性メカニズム解明に関わるアッセイ系の開発として、ALK 融合陽性肺腺がん患者由来のがん組織や胸水の 37 症例から細胞株の樹立を試み ALK 融合陽性でかつ p53 遺伝子に変異を持たない細胞株の樹立を試みた。その結果、臨床検体 37 症例のうち、7 例が ALK 融合陽性であり、その内 1 症例の ALK 融合陽性でありかつ p53 遺伝子に変異を持たない細胞株の樹立に成功した。その樹立した細胞株を用いて p53 活性化剤による ALK 阻害剤抵抗性への効果を調べたところ、p53 活性化剤によって顕著に ALK 阻害剤耐性細胞の出現が減弱した。また、ALK 阻害剤と p53 活性化剤の薬剤除去による再増殖実験を行ったところ、p53 活性化剤を添加したほうが有意に再増殖率の低下を示した。ALK 阻害剤と p53 活性化剤の併用による細胞死誘導のメカニズムを解明するために、p53 標的遺伝子に着目しその発現を調べた。その結果、p53 活性化剤単剤に比べ ALK 阻害剤との併用処理により、アポトーシス誘導に関連する p53 標的遺伝子の発現が有意に上昇していた。一方、PHLDA3 など機能未知の新規 p53 標的遺伝子の解析として、まず PHLDA3 遺伝子を欠損した膵内分泌腫瘍疾患モデルマウスの作製を試みた。その結果、PHLDA3 遺伝子を欠損したマウスでは 10 ヶ月ほどで悪性度の高い膵内分泌腫瘍を発症することがわかり膵内分泌腫瘍疾患モデルマウスの作製に成功した。

膵内分泌腫瘍患者における PHLDA3 の遺伝子異常を解析するために、新たな膵内分泌腫瘍の症例を 38 症例収集し、ゲノム異常の有無を解析した。その結果、PHLDA3 遺伝子が、がん抑制遺伝子であること、がん患者の予後と PHLDA3 遺伝子の異常が関わること、PHLDA3 遺伝子の異常の有無で治療薬の選択が出来ることの詳細な解析を進めた。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 件、国際誌 件）

1. In vitro determination of the relative biological effectiveness of carbon-ion beam irradiation in cells derived from human normal lung tissues. Naoko Okano, Takahiro Oike, Jun-ichi Saitoh, Katsuyuki Shirai, Masato Enari, Tohru Kiyono, Mayu Isono, Kohta Torikai, Tatsuya Ohno, Takashi Nakano. *Experimental and Therapeutic Medicine*, in press, 2016.

2. Discovery of new low-molecular-weight p53-Mdmx disruptors and their anti-cancer activities. Shinichi Uesato, Yoshihiro Matsuura, Saki Matsue, Takao Sumiyoshi, Yoshiyuki Hirata, Suzuho Takemoto, Yasuyuki Kawaratani, Yusuke Yamai, Kyoji Ishida, Tsutomu Sasaki and Masato Enari. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 24, 1919-1926, 2016.
3. CD74-NRG1, an oncogenic fusion gene product, leads to insulin-like growth factor 2 autocrine/paracrine circuit and confers cancer stem cell properties. Takahiko Murayama, Takashi Nakaoku, Masato Enari, Tatsunori Nishimura, Kana Tominaga, Asuka Nakata, Arinobu Tojo, Sumio Sugano, Takashi Kohno, Noriko Gotoh. *Cancer Research*, 76, 974-983, 2016.
4. Clathrin heavy chain interacts with estrogen receptor α and modulates 17 β -estradiol signalling. Pierangela Totta, Valeria Pesiri, Masato Enari, Maria Marino and Filippo Acconcia. *Molecular Endocrinology*, 29, 739-755, 2015.
5. Masahiro Takikawa and Rieko Ohki (corresponding author). A vicious partnership between AKT and PHLDA3 to facilitate neuroendocrine tumors. **Cancer Science**, in press.
6. Issei Ezawa, Yuichiro Sawai, Tatsuya Kawase, Atsushi Okabe, Shuichi Tsutsumi, Hitoshi Ichikawa, Yuka Kobayashi, Fumio Tashiro, Hideo Namiki, Tadashi Kondo, Kentaro Semba, Hiroyuki Aburatani, Yoichi Taya, Hitoshi Nakagama and Rieko Ohki. (corresponding author) A novel p53 target gene FUCA1 encodes a fucosidase and regulates growth and survival of cancer cells. **Cancer Science**, 107(6):734-45, 2016.
7. IER5 generates a novel hypo-phosphorylated active form of HSF1 and contributes to tumorigenesis. Yoshinori Asano, Tatsuya Kawase, Atsushi Okabe, Shuichi Tsutsumi, Hitoshi Ichikawa, Satoko Tatebe, Issay Kitabayashi, Fumio Tashiro, Hideo Namiki, Tadashi Kondo, Kentaro Semba, Hiroyuki Aburatani, Yoichi Taya, Hitoshi Nakagama and Rieko Ohki. *Scientific Reports*, 6, 19174; doi: 10.1038/srep19174., 2016.
8. PHLDA2 is a key oncogene-induced negative feedback inhibitor of EGFR/ErbB2 signaling via interference with AKT signaling. Xiaoqi Wang, Guangyuan Li, Sanjay Koul, Rieko Ohki, Matthew Maurer, Alain Borczuk and Balazs Halmos. *Oncotarget*, DOI: 10.18632/oncotarget.3674.2015.
9. Identification of non-coding RNAs associated with telomeres by enChIP-RNA-Seq. Toshitsugu Fujita, Miyuki Yuno, Daisuke Okuzaki, Rieko Ohki and Hodaka Fujii. *PLoS One*, 10, e0123387.2015.
10. 膵神経内分泌腫瘍の新規がん抑制遺伝子 PHLDA3 の発見. 陳 ヨ, 齊藤 梢, 山口 陽子, 大木 理恵子. *胆と膵*, Vol.36 No.6: 515-523. 2015.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. ALK 阻害剤と p53 活性化剤の併用は ALK 遺伝子増幅を伴う神経芽腫に対して効率的にアポトーシスを誘導する：宮崎 允、大友 亮、日比谷 優子、松田 浩一、江成 政人：第 39 回日本分子生物学会年会、横浜、2016 年 11 月、国内
2. 線維芽細胞と肺癌細胞との細胞間接触によって惹起されるがん悪性化シグナル伝達機構に関する研究：鈴木 英暢、大友 亮、宮崎 允、日比谷 優子、江成 政人：第 39 回日本分子生物学会年会、横浜、2016 年 11 月、国内
3. 肺腺がんにおいて TSPAN2-CD44 相互作用は新規治療標的となる：口頭発表：宮崎 允、大友 亮、日比谷 優子、大坪 千裕、渡邊 俊樹、江成 政人。第 38 回日本分子生物学会年会第 88 回日本生化学会大会合同大会、神戸、2015 年 12 月、国内
4. 線維芽細胞の p53 不活化による細胞間接触依存的ながん進展制御機構：口頭発表：大友 亮、宮崎 允、日比谷 優子、江成 政人。第 38 回日本分子生物学会年会第 88 回日本生化学会大会合同大会、神戸、2015 年 12 月、国内
5. CD74-NRG1, a fusion gene product, leads to ErbB-NF κ B-IGF2 autocrine/paracrine circuit and confers cancer stem cell properties：口頭発表：Takahiko Murayama, Takashi Nakaoku, Masato Enari, Tatsunori Nishimura, Kana Tominaga, Asuka Nakata, Arinobu Tojo, Sumio Sugano, Takashi Kohno, Noriko Gotoh. 第 38 回日本分子生物学会年会第 88 回日本生化学会大会合同大会、神戸、2015 年 12 月、国内
6. TSPAN12 はがん-線維芽細胞間接触を介した肺がん進展に重要な因子である：口頭発表：大友 亮、宮崎 允、日比谷 優子、江成 政人。第 74 回日本癌学会 2015 年度学術総会、名古屋、2015 年 10 月、国内
7. TSPAN2 は CD44 と協調して肺がんの運動能及び浸潤能を亢進する：口頭発表：宮崎 允、大友 亮、日比谷 優子、江成 政人。第 74 回日本癌学会 2015 年度学術総会、名古屋、2015 年 10 月、国内
8. PH domain-only protein PHLDA3 is a novel p53-regulated repressor of Akt and a novel tumor suppressor of neuroendocrine tumors 口頭発表 大木理恵子 日本分子生物学会 ワークショップ 2016 年 12 月。於：横浜 国内
9. がん抑制遺伝子 p53 が制御する様々ながん制御経路 口頭発表 大木理恵子 第 19 回学習院大学生命科学シンポジウム 2016 年 5 月。於：学習院大学 国内
10. 5. p53 標的遺伝子 IER5 は新規の低リン酸化型の活性化 HSF1 を作り出し、がん化を促進する 口頭発表 大木理恵子 第 11 回 臨床ストレス応答学会大会 2016 年 11 月、於：山口大学 国内
11. IER5 generates a novel hypo-phosphorylated active form of HSF1 and contributes to tumorigenesis 口頭発表 大木理恵子 2016 年 11 月、International Cancer Forum for Young Scientists、2016 年 11 月。於：北海道大学 国内
12. がん抑制遺伝子 p53 機能喪失を伴った新規悪性胃癌病体モデルの作製と解析 口頭発表 大木理恵子 平成 28 年度第 2 回金沢大学がん進展制御研究所共同利用・共同研究拠点シンポジウム 2017 年 2 月。於：金沢東急ホテル 国内

13. がん抑制遺伝子 PHLDA3 の下垂体腺腫における機能喪失性変異の同定と機能解析 口頭発表
山口 陽子、富永 航平、陳 好、峯岸 舞子、山田正三、大木理恵子 第 27 回日本間脳下垂
体腫瘍学会 2017 年 2 月. 於：日経カンファレンスルーム 国内
14. PHLDA3 は下垂体腺腫の新規がん抑制遺伝子である 口頭発表 陳 好、峯岸 舞子、斎藤 梢、
山田正三、並木 秀男、仙波 憲太郎、大木理恵子 第 27 回日本間脳下垂体腫瘍学会 2017 年 2
月. 於：日経カンファレンスルーム 国内
15. 膵内分泌腫瘍の新規がん抑制遺伝子 PHLDA3 の機能抑制を利用した膵島移植効率向上法の確
立 口頭発表 大木理恵子 「再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点」共同研究報告会
2017 年 3 月. 於：京都大学 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. がん研究の最前線 ～がん抑制遺伝子 p53 どのようにがんを抑制するのか？～ 口頭発表 大木理恵
子 2016 年 6 月. 於：女子学院同窓会館 国内
2. 研究者という職は、女性に向いている職である 口頭発表 大木理恵子 第 2 回 Rikoh ティータイム シ
ンポジウム～ワセダで輝く・ワセダから輝く、アナタの未来～ 2016 年 5 月. 於：早稲田大学 国内
3. がんの分子生物学 口頭発表 大木理恵子 がんゲノム医療講習会 2017 年 3 月、於：国際研究交流会
館 国内

(4) 特許出願

江成グループ該当なし

出願番号：特願 2014-107529

発明者：大木理恵子、角昭一郎、坂田直昭

発明の名称：移植材料及びその調製方法

出願人：京都大学、東北大学

出願日：2014 年 5 月 23 日

出願番号：PCT/JP2015/064792

発明者：大木理恵子、角昭一郎、坂田直昭

発明の名称：移植材料及びその調製方法

出願人：京都大学、東北大学、大木理恵子

出願日：2015 年 5 月 22 日