

[0022]九州大学生体防御医学研究所年報 : 2007年

<https://doi.org/10.15017/10326>

出版情報 : 九州大学生体防御医学研究所年報. 22, 2008-05. 九州大学生体防御医学研究所
バージョン :
権利関係 :



細胞機能制御学部門
Department of Molecular and Cellular Biology

分子発現制御学分野

Division of Cell Biology

分子発現制御学分野（旧細胞学部門）では、細胞の基本的性質である細胞周期と細胞死を制御する分子メカニズムを、遺伝学的・生化学的・細胞生物学的・発生工学的手法を用いて研究を進めている。つまり細胞周期や細胞死の制御に関わっていると推測される分子の遺伝子を単離同定し、最終的にはその遺伝子を破壊したマウス（ノックアウトマウス）を人工的に作製し、その異常を調べることによって、その分子の生理的役割を個体レベルで明らかにしようというものである。特に免疫系と神経系の細胞の分化段階特異的な細胞周期と細胞死の制御因子の量的制御機構を、選択的タンパク質分解の視点から取り組んでいる。

分子発現制御学分野は、中山敬一教授、白根道子准教授、東田裕一助教、西山正章特任助教（科学技術振興機構派遣研究員）、小野山一郎特任助教（科学技術振興機構派遣研究員）の教員を中心に、大学院生（修士課程 5 名、博士課程 6 名）、科学技術振興機構派遣職員（研究員 3 名、技術員 1 名、研究補助員 3 名、事務員 1 名）、九州大学有期契約職員（21 世紀 COE 雇用学術研究員 1 名、テクニカルスタッフ 3 名）、企業からの派遣研究者 1 名の体制で研究を進めている（2008 年 3 月 31 日現在）。

人事異動について、2007 年 4 月より白根道子が助教授から准教授へ、東田裕一が助手から助教へ昇任した。また 2007 年 4 月より小野山一郎が特任助教へと昇任した。新規参加者としては 2007 年 4 月より大学院修士課程に片山雄太（九大・農）、細田将太郎（九大・農）、山田政典（熊大・薬）が、博士課程に松崎芙美子（九大・農修）、松本有樹修（九大・医修）、於昊龍（北陸大・薬修）、武石昭一郎（九大・医）が入学した。さらに 2007 年 4 月より洲崎悦生（前年度まで 21 世紀 COE 雇用・学術研究員）をグローバル COE 雇用学術研究員として引き続き雇用。2007 年 4 月より雑賀徹（前年度まで大学院生）を科学技術振興機構（JST）派遣職員（研究員）として雇用した。2007 年 4 月より濱崎亜佳里、北島奈緒子、金林明奈を、9 月より佐藤みどりをテクニカルスタッフとして雇用した。前年度に引き続き、押川清孝（ロコモジェン）を派遣研究員として受け入れた。

次いで退職者として、2007 年 4 月に特任助教（21 世紀 COE 雇用）の松本雅記が感染防御分野助教へ配置換えとなった。また 2007 年 12 月に佐藤みどりが退職した。さらに 2008 年 3 月に吉村祐子がグローバル COE へ配置換えのため退職した。また 2008 年 3 月に大学院修士課程の杉本直樹が卒業し、大学院博士課程の中川直が卒業した。さらに 2008 年 3 月共同研究員の押川清孝（ロコモジェン）の派遣が終了となった。

1997 年 11 月より当研究室は科学技術振興機構（JST）による戦略的創造研究推進事業（CREST）「脳を守る（1997～2002 年度）」・「生物の発生・分化・再生（2002～2007 年度）」・「生命システムの動作原理の解明と活用のための基盤技術の創出（2007 年度～）」の支援を受けている。本年度は研究員として西山正章（特任助教・継続）、小野山一郎（特任助教・新規）、雑賀徹（新規）、技術員として小山田浩二（継続）、研究補助員として吉村祐子（継続）、木村美保子（継続）、西村直子（継続）、事務員として太田茜（継続）を受け入れている。

A. 細胞周期から G0 期への脱出に必要なユビキチンリガーゼ Fbw7 の解析

Fbw7 はサイクリン E, c-Myc や Notch を標的とすることが示唆されていたが、個体レベルでどのような機能を有しているかは不明であった。そこでわれわれはマウス Fbw7 遺伝子を破壊した場合にどのような異常が生じるかを検討することによって、Fbw7 の機能を探索した。Fbw7 ノックアウトマウスは胎生中期（胎生 10.5–11.5 日）で死亡し、十分な細胞周期解析ができないため、われわれはコンディショナルノックアウトマウスを作製することとした。われわれは哺乳類で最も細胞分化の研究が進んでいる T リンパ球において、特異的に Fbw7 を欠失させ、どのように分化特異的な細胞周期制御が影響されるかを検討した。T リンパ球は胸腺内において CD4-8- (DN) → CD4+8+ (DP) → CD4+8-/CD4-8+ (SP) という分化段階を経て成熟していくが、細胞が激しく増殖するのは DN 後期に限られ、DP 以降、細胞周期は停止する。われわれは Fbw7 の T 細胞系列におけるコンディショナルノックアウトマウスを作製したところ、胸腺が腫大していることを発見した。さらに FACS 解析の結果、DP の比率が特異的に増加していることを見出した。

そこで細胞の絶対数を計算してみると、やはり DP 細胞の数が正常の 2 倍程度増加していることが明らかとなった。しかし SP 細胞の数は増加していなかった。BrdU の取込み実験を行うと、DN では Fbw7 の有無にかかわらずその増殖率は高いが、DP では本来細胞周期が停止するべきところ、Fbw7 が欠損していると細胞周期が停止せず、増殖を続けることが半明した。次にわれわれは、この DP 期における細胞周期停止異常のメカニズムを調べた。ウェスタンブロッティング法により、Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスの DP では c-Myc と Notch の異常発現が観察された。

そこで Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスと RBP-J コンディショナルノックアウトマウスまたは c-Myc コンディショナルノックアウトマウスを交配させて、それぞれダブルコンディショナルノックアウトマウス ($Fbw7^{flx/flx}; RBP-J^{flx/flx}; CD4-Cre$ または $Fbw7^{flx/flx}; c-Myc^{flx/flx}; CD4-Cre$) を作製した。RBP-J は Notch の転写活性化に必要な協同分子であり、その欠損は 4 つの Notch ファミリーメンバー全ての機能を不活化する。この実験の結果、Notch の欠失によっても Fbw7 欠損における増殖過剰の表現型は認められることから、これらの異常は Fbw7 による Notch の分解異常とは関係ないと結論された。一方で c-Myc の欠失は Fbw7 欠損における増殖過剰の表現型を打ち消すことから、この増殖過剰状態は c-Myc の分解過程に異常を来した結果であると考えられた。

しかしながら、Fbw7 が欠損した状態でも、成熟 T 細胞になると細胞周期が停止ようになる。この原因を調べるために、Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスの T 細胞を抗原刺激し、細胞周期を回転させてみたが、細胞周期の進行は G1-S 期においてブロックされていた。同時に c-Myc の増加とそれに反応して p53 の誘導が確認された。p53 の誘導は細胞周期を G1-S 期で停止させ、アポトーシスを増加されることが予想され、Fbw7 欠損 T 細胞の表現型と一致する。そこでこの仮説を検証するため、Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスと p53 ノックアウトマウスを交配して、ダブルノックアウトマウスを作製した ($Fbw7^{flx/flx}; p53^{-/-}; Lck-Cre$)。すると G1-S 期における細胞周期停止が解除され、アポトーシスが減少した。このことは、成熟 T 細胞における、未熟細胞と正反対の表現型は、p53 の活性化に因っていることを示している。つまり成熟 T 細胞においては、c-Myc の異常発現が p53 を誘導し、その結果細胞周期停止とアポトーシスの上昇を招くことが明らかとなった。このことから、Fbw7 の欠失は c-Myc の過剰発現を招き、短期的に細

胞周期を回転させるものの、p53 によるチェックポイントが作用して細胞周期は強制的に停止させられることが示唆される。

しかしこのような不安定な状態は、長期間のうちに p53 遺伝子に変異が入ることによって容易に癌化することが予想された。そこでマウスを長期間観察すると、1 年間で約 60% のマウスがリンパ腫によって死亡することが明らかとなった。この経過は比較的ゆっくりとしたものであるが、p53 を欠失させた Fbw7/p53 ダブルノックアウトマウスでは非常に早いリンパ腫の発症を認めたことにより、p53 が腫瘍抑制に関わっていることが明らかとなった。最近ヒトのリンパ腫において Fbw7 の異常が多く報告されており、本研究結果はそのメカニズムを具体的に再現したものである。

B. p27 の核外移行を制御するサイクリン D2 の作用機序に関する研究

G0 期から G1 期への効率的な進行には、サイクリン-CDK 複合体の速やかな活性化が必要であり、このため CDK インヒビターはその機能が抑制される必要がある。CDK インヒビターの一つ p27 は、G0 期には著明に核へ集積しているが、G0-G1 期において増殖刺激が入るとともに核外へ排出され分解される。しかしながら、増殖刺激下において p27 の細胞質移行および分解のスイッチをオンにする直接の効果器は長年不明であった。サイクリン D2 は G0-G1 移行期において 3 つのサイクリン D の中で最も早期に発現し、その発現パターンは p27 の発現量低下とほぼ同時であることから、われわれはサイクリン D、特にサイクリン D2 が p27 の発現量低下における重要な機能を担っている可能性を検索した。サイクリン D2 を G0 期に強制発現するとサイクリン D2 と p27 は細胞質へと移行し、p27 の発現量は低下した。また逆にサイクリン D2 のノックダウンにより、G0-G1 移行期における p27 の発現量低下の速度は遅延した。サイクリン D2 の Thr280 を Ala に置換した変異体 (T280A) は野生型サイクリン D2 と異なり核内へ強く集積するが、この変異体の過剰発現細胞では p27 も核内へ強く集積し、G0-G1 移行期における p27 の発現量低下は著しく阻害された。これらの結果は G0-G1 移行期においてサイクリン D2 が増殖シグナルの下流で発現し、p27 の細胞質移行と分解をオンにする直接の効果器であることを示している。驚くべきことに、これらの機能はサイクリン D1 では見られず、異なるサイクリン D 間に生化学的な機能差があることを示唆している。

C. FKBP38 ノックアウトマウスにおけるアポトーシスと神経突起異常形成

FKBP38 は FK506 結合タンパク質 (FKBP) の一種であるが、特徴的なのは他の FKBP のほとんどがサイトゾルに局在するのに対して、FKBP38 は膜画分に存在することである。主な局在はミトコンドリア外膜であるが、一部は粗面小胞体にも局在する。FKBP38 の機能として、われわれは Bcl-2 をミトコンドリアに局在させることによるアポトーシス抑制 (Shirane & Nakayama, Nature Cell Biol., 2003) と Protrudin 結合 (Shirane & Nakayama, Science, 2006) を示してきた。われわれは FKBP38 の生理的作用を個体レベルで解析するため、FKBP38 ノックアウトマウスを作製し、その異常を検索した。

FKBP38 ノックアウトマウスは生直後に死亡し、直接の死因は呼吸不全にあると思われるが、強度の骨格異常と二分脊椎がほぼ全例に認められた。また解剖学的に神経細胞の分布の異常が広汎に認められた。胎生 10.5 日の解析では神経細胞にアポトーシスの増加が認められ、それは神経管だけでなく、後根神経節において強く検出された。また神経軸索の走向異常が明らかであり、

基本的に突起が異常進展していると考えられる像を呈していた。FKBP38 の結合タンパク質の一つである Protrudin は突起伸長のマスターとして働くので、Protrudin の活性を調べたところ、Protrudin の活性化に重要な役割を持つリン酸化が、FKBP38 ノックアウトマウスでは異常に亢進していることが明らかとなった。これらの解析より、FKBP38 は Bcl-2/Bcl-x を介して神経細胞のアポトーシスを抑制し、Protrudin を介して神経突起伸長に対して抑制的に働いていることが明らかとなった。

業績目録

原著論文

1. Li, W., Yamada, H., Yajima, T., Nakagawa, R., Shimoda, K., Nakayama, K. I., Yoshikai, Y. 2007.
Tyk2 signaling in host environment plays an important role in contraction of antigen-specific CD8⁺ T cells following a microbial infection.
J. Immunol. 178, 4482-4488.
2. Nakagawa, T., Shirane, M., Iemura, S. I., Natsume, T., Nakayama, K. I. 2007.
Anchoring of the 26S proteasome to the organellar membrane by FKBP38.
Genes Cells 12, 709-719.
3. Cooke, P. S., Holsberger, D. R., Cimafranca, M. A., Meling, D. D., Beals, C. M., Nakayama, K., Nakayama, K. I., Kiyokawa, H. 2007.
The F Box protein S phase kinase-associated protein 2 regulates adipose mass and adipocyte number in vivo.
Obesity 15, 1400-1408.
4. Miyamoto, K., Araki, K. Y., Naka, K., Arai, F., Takubo, K., Yamazaki, S., Matsuoka, S., Miyamoto, T., Ito, K., Ohmura, M., Chen, C., Hosokawa, K., Nakauchi, H., Nakayama, K., Nakayama, K. I., Harada, M., Motoyama, N., Suda, T., Hirao, A. 2007.
Foxo3a is essential for maintenance of the hematopoietic stem cell pool.
Cell Stem Cell 1, 101-112.
5. Susaki, E., Nakayama, K., Nakayama, K. I. 2007.
Cyclin D2 translocates p27 out of the nucleus and promotes its degradation at the G0-G1 transition.
Mol. Cell. Biol. 27, 4626-4640.
6. Suzuki, S., Fukasawa, H., Kitagawa, K., Uchida, C., Hattori, T., Isobe, T., Oda, T., Misaki, T., Ohashi, N., Nakayama, K., Nakayama, K. I., Hishida, A., Yamamoto, T., Kitagawa, M. 2007.
Renal damage in obstructive nephropathy is decreased in Skp2-deficient mice.
Am. J. Pathol. 171, 473-483.
7. Ehre, C., Zhu, Y., Abdullah, L. H., Olsen, J. C., Nakayama, K. I., Nakayama, K., Messing, R. O., Davis, C. W. 2007.
nPKCε, a P2Y2-R downstream effector in regulated mucin secretion from airway goblet cells.
Am. J. Physiol.-Cell Physiol.
8. Wakeyama, H., Akiyama, T., Takahashi, K., Amano, H., Kadono, Y., Nakamura, M., Oshima, Y., Itabe, H.,

- Nakayama, K. I., Nakayama, K., Nakamura, K., Tanaka, S. 2007.
Negative feedback loop in the bim-caspase-3 axis regulating apoptosis and activity of osteoclasts.
J. Bone. Miner. Res. 22, 1631-1639.
9. Zhong, L., Georgia, S., Tschen, S. I., Nakayama, K., Nakayama, K. I., Bhushan, A. 2007.
Essential role of Skp2-mediated p27 degradation in growth and adaptive expansion of pancreatic β cells.
J. Clin. Invest. 117, 2869-2876.
 10. Ueyama, C., Akashiba, H., Nakayama, K., Nakayama, K. I., Nishiyama, N., Matsuki, N. 2007.
Ablation of p27 enhance kainate-induced seizure and hippocampal degeneration.
Neuroreport 18, 1781-1785.
 11. Kawakubo, T., Okamoto, K., Iwata, J., Shin, M., Okamoto, Y., Yasukochi, A., Nakayama, K. I., Kadowaki, T., Tsukuba, T., Yamamoto, K. 2007.
Cathepsin E prevents tumor growth and metastasis by catalyzing the proteolytic release of soluble TRAIL from tumor cell surface.
Cancer Res. 67, 10869-10878.
 12. Onoyama, I., Tsunematsu, R., Matsumoto, A., Kimura, T., de Alboran, I. M., Nakayama, K., Nakayama, K. I. 2007.
Conditional inactivation of Fbxw7 impairs cell-cycle exit during T cell differentiation and results in lymphomatogenesis.
J. Exp. Med. 204, 2875-2888.
 13. Song, M. S., Song, S. J., Kim, S. J., Nakayama, K., Nakayama, K. I., Lim, D. S. 2007.
Skp2 regulates the antiproliferative function of the tumor suppressor RASSF1A via ubiquitin-mediated degradation at the G₁-S transition.
Oncogene (in press).
 14. Shigematsu, N., Fukuda, T., Yamamoto, T., Nishioku, T., Yamaguchi, T., Himeno, M., Nakayama, K. I., Tsukuba, T., Kadowaki, T., Okamoto, K., Higuchi, S., Yamamoto, K. 2008.
Association of cathepsin E deficiency with the increased territorial aggressive response of mice.
J. Neurochem. (in press).
 15. Mukai, A., Mizuno, E., Kobayashi, K., Matsumoto, M., Nakayama, K. I., Kitamura, M., Komada, M. 2008.
Dynamic regulation of ubiquitination and deubiquitination at the central spindle during cytokinesis.
J. Cell Sci. (in press).
 16. Chen, Q., Xie, W., Kuhn, D. J., Voorhees, P. M., Lopez-Girona, A., Mendy, D., Corral, L. G., Krenitsky, V. P., Xu, W., Moutouh-de Parseval, L., Webb, D. R., Mercurio, F., Nakayama, K. I., Nakayama, K., Orlowski, R. Z. 2008.
Targeting the p27 E3 ligase SCFSkp2 results in p27- and Skp2-mediated cell cycle arrest, and activation of autophagy.
Blood (in press).
 17. Shirane, M., Ogawa, M., Motoyama, J., Nakayama, K. I. 2008.
Regulation of apoptosis and neurite extension by FKBP38 is required for neural tube formation in the mouse.
Genes Cells (in press).
 18. Inoue, S.-i., Kinoshita, T., Matsumoto, M., Nakayama, K. I., Doi, M., Shimazaki, K.-i. 2008.

Blue light-induced autophosphorylation of phototropin is a primary step for signaling.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA (in press).

19. Matsuoka, S., Oike, Y., Onoyama, I., Iwama, A., Arai, F., Takubo, K., Mashimo, Y., Oguro, H., Nitta, E., Ito, K., Miyamoto, K., Yoshiwara, H., Hosokawa, K., Nakamura, Y., Gomei, Y., Iwasaki, H., Hayashi, Y., Matsuzaki, Y., Nakayama, K., Ikeda, Y., Hata, A., Chiba, S., Nakayama, K. I., Suda, T. 2008.

Fbxw7 acts as a critical failsafe against premature loss of hematopoietic stem cells and development of T-ALL.

Genes Dev. (in press).

総説

1. Susaki, E., Nakayama, K. I. 2007.

Multiple mechanisms for p27^{Kip1} translocation and degradation.

Cell Cycle 6, 3015-3020.

2. 中山敬一, 中山啓子. 2008.

SCF 型ユビキチンリガーゼによる細胞周期調節と発癌.

実験医学 (増刊)「細胞内の輪廻転生タンパク質の分解機構」 26, 166-174.

著書

1. 東田裕一. 2007.

クロマチン免疫沈降法 (ChIP) .

実験医学別冊「分子間相互作用解析ハンドブック」(磯辺俊明・中山敬一・伊藤隆司 編, 羊土社, 東京) 183-188.

学会発表

1. 中山敬一. (2007, 4/6).

分化における細胞周期停止のメカニズムと発がん. (シンポジウム)

第27回日本医学会総会, 大阪.

2. 中山敬一. (2007, 7/4).

クロマチンリモデリングによる p53 機能の制御. (招待講演)

千里ライフサイエンスセミナー「細胞周期制御異常とがん」, 大阪.

3. 中山敬一. (2007, 7/13).

p53 機能の新しい制御機構: ヒストン H1 によるエピジェネティックコントロール. (招待講演)

Nuclear Signaling Japan 2007, 東京.

4. 中山敬一. (2007, 8/29).

細胞の増殖と分化はいかに制御されているか?. (招待講演)

日本免疫学会免疫サマースクール 2007, 福岡.

5. 中山敬一. (2007, 10/4).

細胞周期の制御に関わるユビキチンリガーゼとがん. (JCA-Mauverney Award 受賞講演)

第66回日本癌学会学術総会, 横浜.

6. 中山啓子, 中山敬一. (2007, 10/4).
発がん と G1-G0 期制御に寄与するユビキチンリガーゼ. (シンポジウム)
第 66 回日本癌学会学術総会, 横浜.
7. Nakayama, K. I. (2007, 10/25).
Ubiquitin ligases: cell-cycle control and cancer. (Invited speaker)
4th International Symposium on Functional molecules linked to neurodegeneration and oncogenesis -Towards
Molecular Targeted Therapy -, Nagoya, Japan.
8. 中山敬一. (2007, 11/20).
細胞周期からの脱出と再進入: 癌治療と組織再生に向けて. (シンポジウム)
「生物の発生・分化・再生」第 6 回公開シンポジウム, 東京.
9. 小野山一郎, 松本有樹修, 中山啓子, 中山敬一. (2007, 11/20).
Fbw7 による G0 期維持とその破綻による発がん.
「生物の発生・分化・再生」第 6 回公開シンポジウム, 東京.
10. 松本雅記, 小山田浩二, 中山敬一. (2007, 11/20).
細胞内リン酸化の大規模定量による M 期制御機構の解析.
「生物の発生・分化・再生」第 6 回公開シンポジウム, 東京.
11. 松本有樹修, 小野山一郎, 松岡佐保子, 尾池雄一, 須田年生, 中山敬一. (2007, 11/20).
種々の臓器における Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスの解析.
「生物の発生・分化・再生」第 6 回公開シンポジウム, 東京.
12. 原賢太郎, 中山敬一, 中山啓子. (2007, 11/20).
Geminin は着床前初期発生に必須である.
「生物の発生・分化・再生」第 6 回公開シンポジウム, 東京.
13. 石川善則, 小野山一郎, 中山敬一, 中山啓子. (2007, 11/20).
ユビキチンリガーゼ Fbw7 はマウス胎仔線維芽細胞において Notch 依存的な細胞増殖障害を抑制する.
「生物の発生・分化・再生」第 6 回公開シンポジウム, 東京.
14. 原賢太郎, 中山敬一, 中山啓子. (2007, 12/11).
Geminin は着床前初期発生に必須である. (一般口演)
第 30 回日本分子生物学会年会, 横浜.
15. 多田敬典, 岡野ジェイムス洋尚, 高木博, 松本雅記, 矢尾育子, 雑賀徹, 中山敬一, 鹿島晴雄, 瀬藤光
利, 岡野栄之. (2007, 12/11).
シナプス活性を制御するユビキチンリガーゼ Kspot.
第 30 回日本分子生物学会年会, 横浜.
16. 白根道子, 細田将太郎, 中山敬一. (2007, 12/12).
Protrudin の脂質結合による神経機能制御機構. (ワークショップ)
第 30 回日本分子生物学会年会, 横浜.
17. 小野山一郎, 松本有樹修, 中山啓子, 中山敬一. (2007, 12/12).
Fbxw7 による G0 期維持機構とその破綻による発がん. (ワークショップ)
第 30 回日本分子生物学会年会, 横浜.
18. 石川善則, 奥山隆平, 小野山一郎, 中山敬一, 中山啓子. (2007, 12/12).

- ユビキチンリガーゼ Fbw7 は表皮角化細胞において増殖と分化を抑制する。(一般口演)
第30回日本分子生物学会年会, 横浜.
19. 石田典子, 畠山鎮次, 中山啓子, 中山敬一. (2007, 12/12).
新規ユビキチン様修飾分子 GdX による cyclin F と細胞周期 M 期の制御.
第30回日本分子生物学会年会, 横浜.
20. 鈴木小由里, 深澤洋敬, 北川恭子, 内田千晴, 服部隆行, 磯部智康, 小田敏明, 三崎太郎, 中山啓子, 中山敬一, 菱田明, 山本龍夫, 北川雅敏. (2007, 12/12).
腎障害進行における Skp2 発現亢進の解析: Skp2KO マウスを用いた検討.
第30回日本分子生物学会年会, 横浜.
21. 中山敬一. (2007, 12/13).
p53 機能の新しい制御機構: ヒストン H1 によるエピジェネティックコントロール. (シンポジウム)
第30回日本分子生物学会年会, 横浜.
22. 束田裕一, ザン, イ., 中山敬一. (2007, 12/13).
JHDM1 によるヒストンの脱メチル化とユビキチン化の制御.
第30回日本分子生物学会年会, 横浜.
23. 洲崎悦生, 山田哲也, 尾池雄一, 片桐秀樹, 中山敬一. (2007, 12/13).
新規ユビキチン化酵素 E4B は摂食中枢の機能維持に関与する。(一般口演)
第30回日本分子生物学会年会, 横浜.
24. 中山敬一. (2007, 12/14).
細胞周期を制御するユビキチンリガーゼと発がん. (シンポジウム)
第30回日本分子生物学会年会, 横浜.
25. 雑賀徹, 多田敬典, 岡野栄之, 中山敬一. (2007, 12/14).
新規ユビキチンリガーゼ Fbox45 はシナプス形成を制御する。(ワークショップ)
第30回日本分子生物学会年会, 横浜.
26. 松本雅記, 小山田浩二, 中山敬一. (2007, 12/14).
M 期特異的リン酸化の大規模定量解析. (ワークショップ)
第30回日本分子生物学会年会, 横浜.
27. 杉本直樹, 中川直, 家村俊一郎, 夏目徹, 中山敬一. (2007, 12/14).
ユビキチン伸長因子 E4B の新規結合タンパク UBL7 についての機能解析.
第30回日本分子生物学会年会, 横浜.
28. 田中佳苗, 松本雅記, 中山敬一. (2007, 12/14).
定量的プロテオミクスによる F-box タンパク質の網羅的基質探索法の開発.
第30回日本分子生物学会年会, 横浜.
29. 松本有樹修, 小野山一郎, 中山敬一. (2007, 12/14).
脳における Fbxw7 アイソフォームの機能解析.
第30回日本分子生物学会年会, 横浜.

増殖分化制御学分野

Division of Biochemistry and Molecular Biology

細胞内において多様な情報の受け渡しを担う蛋白質は、基本的な幾つかのモジュールからなっている。これらのモジュールを介した分子間相互作用が蛋白質上で統合されることが、情報伝達機構の複雑な制御を可能にしていると考えられる。

このような観点から、増殖分化制御学分野では、細胞内情報伝達機構解明の良いモデルとして、食細胞 NADPH オキシダーゼの活性化機構の研究を生化学的・分子生物学的・細胞生物学的手法を用いて行うとともに、構造生物学研究を構造生物学者とのコラボレーションにより進めている。更に、特に蛋白質のドメイン構造とその分子間相互作用の視点から、細胞の極性形成や細胞骨格の制御を担う細胞内情報伝達の研究にも取り組んでいる。

A. 食細胞 NADPH オキシダーゼ活性化の分子機構

食細胞 NADPH オキシダーゼは、病原性微生物の貪食時などにスーパーオキシド（高殺菌能をもつ種々の活性酸素の前駆物質）を生成する酵素系である。その酵素本体は細胞膜に存在する gp91^{nox} であり、同様に膜蛋白質である p22^{nox} と複合体を形成している（このヘテロダイマーはシトクロム *b*₅₅₈ と呼ばれている）。gp91^{nox} は細胞休止時には不活性型であり、その活性化には、特異的アダプター蛋白質（p47^{nox}、p67^{nox} と p40^{nox}：それぞれ SH3 ドメインをもつ）と低分子量 G 蛋白質 Rac が刺激依存性に細胞質から細胞膜に移行してシトクロム *b*₅₅₈ と相互作用する必要がある。p40^{nox} は、C 末の PB1 ドメインを用いて p67^{nox} と恒常的に結合しているが、一方、N 末の PX ドメインはホスファチジルイノシトール 3-リン酸 (PI (3)P) と強く特異的に強く結合できる。PI (3)P は、食細胞が微生物などを貪食した時に形成される食胞（ファゴソーム）に豊富に存在している膜リン脂質である。2007 年に、私達は、ファゴソームへの細胞質因子の集積が p40^{nox} の PI (3)P 結合能により調節されていること、PX ドメインの PI (3)P 結合能は PB1 ドメインとの分子内結合により制御されていること等を示すと同時に、全長 p40^{nox} の立体構造を解明した [Honbou *et al.*, 2007]。

B. 新規 NADPH オキシダーゼの活性制御機構

gp91^{nox} は、N 末の 6 つの膜貫通領域（ヘム結合部位を含む）と、C 末の FAD 結合ドメイン及び NADPH 結合ドメインからなる。現在、ヒトでは、私達が新規にクローニングした Nox4 を含め 5 つの gp91^{nox} ホモログが存在することが知られており、Nox（NADPH オキシダーゼ）ファミリーと呼ばれている。2007 年は、Nox3 の活性化において、Rac が直接関与すること、Rac は p67^{nox} の膜移行と活性型への構造変化を促進することで働くことを明らかにした [Miyano *et al.*, 2007]。更に Rac の insert helix（低分子量 G 蛋白質の中で Rho ファミリーにだけ存在する構造）は、Nox1 ー Nox3 の活性化において不必要なことを明らかにした [Miyano *et al.*, in preparation]。

C. 細胞極性決定の分子機構

線虫から哺乳類に至る動物細胞の極性決定には、3種の蛋白質からなる Par3-Par6-aPKC 複合体が重要な役割を果たす。この中で Par6 と aPKC の結合は、私達が見出した新規な蛋白質間相互作用「PB1-PB1 相互作用」によるものであること等を明らかにし、aPKC の1つである PKC ϵ / λ の PB1 ドメインと Par6 α の PB1 ドメインとの複合体の立体構造を解明した。さらに私達は、Par3 の新規ホモログをクローニングし (Par3 β と命名) それが細胞極性決定に関与することを示し、Par3 と Par3 β の両者がリン酸化依存性に 14-3-3 蛋白質 (β , ϵ , θ , ζ 等の分子種) に結合することなどを明らかにしてきた。更に、ショウジョウバエの極性蛋白質 Inscuteable (Insc) のヒトホモログを同定・クローニングした。ヒト Insc は、アミノ酸配列上はショウジョウバエ Insc と極めて弱い相同性しか示さないが、ヒト Par3 およびヒト LGN (あるいは LGN の paralogue であるヒト AGS3 ; LGN や AGS3 は 3 量体 G タンパク質 Gi の α サブユニットと複合体を形成する) に同時に結合できることを見出した。これは、ヒト Insc が、Par3-Par6-aPKC 複合体と LGN/G α i 複合体を繋ぐ分子であることを示している。2007 年度、私達は Insc と Par3、Insc と LGN の結合様式をそれぞれ明らかにした [未発表]。一方、酵母 two-hybrid スクリーニングにより、Par3 結合蛋白質として新規分子 Par3BMP1 (Par3-binding membrane protein 1) を単離した。Par3BMP1 は、タイトジャンクションに局在し、哺乳類上皮細胞の極性決定とタイトジャンクション形成に重要であることを示した [未発表]。また、酵母 two-hybrid スクリーニングにより単離した新規な Par6 結合蛋白質、Par6BP (Par3-binding membrane protein 1) についても、上皮細胞の極性形成に必要であることを見出した [未発表]。

D. formin 関連蛋白質 Fhod の機能解析

細胞内のアクチンは、単量体と重合体である繊維の2つの状態で存在し、その状態間を行き来するが、その動態は多様なアクチン調節因子により厳密に制御されている。特に近年、非筋細胞では異なるアクチン重合因子により形態的に異なるアクチン構造物、すなわち分枝状あるいは直線状のアクチン繊維が形成され、葉状仮足や糸状仮足といった高次アクチン構造物の構築に関わることが明らかになってきた。そのなかでも formin 相同蛋白質は、アクチン重合活性を介してアクチンストレスファイバー(SF)や収縮輪といった直線状のアクチン繊維形成を担う。これまで我々は、formin 相同蛋白質 Fhod を単離しその機能解析を行ってきたが、その活性化経路ならびに生理的役割は不明であった。2007 年度は、Rho 結合キナーゼ ROCK が Fhod1 の DAD (Diaphanous autoregulatory domain) と呼ばれる活性制御領域内の Ser1131, Ser1137 及び Thr1141 をリン酸化することを見出した。Fhod1 のアクチン繊維形成能は、Fhod1-N 末領域と Fhod1-DAD 間の自己分子内結合により活性が制御されており、DAD を欠いた C 末欠変異体の強制発現により著明な SF 形成を誘導するが、野生型全長では自己阻害作用のために SF 形成能がない。ROCK による DAD 領域内 3 残基のリン酸化により Fhod1-N 末領域と Fhod1-DAD 間の分子内結合が消失し、これら 3 残基のリン酸化を模倣した全長変異体 Fhod1 (S1131D/S1137D/T1141D)

は、C 末欠失変異体と同様に著明な SF 形成を誘導した。さらに、実際に血管内皮細胞においてトロンビンなどの血管作動性物質により Rho-ROCK 経路を介して Fhod1 がリン酸化され SF 形成を誘導した。また、RNAi により Fhod1 をノックダウンするとトロンビンによる SF 形成は抑制された。以上より、ROCK 依存的リン酸化により活性化されるという新しい formin 相同蛋白質の活性化機構を明らかにすると同時に、血管内皮細胞での SF 形成に Fhod1 が必須の役割を果たすことを明らかにした [Takeya *et al.*, 2008]。血管内皮細胞でのアクチン細胞骨格の再構築は、血管透過性の制御などの内皮機能に深く関わっており、Fhod は血管内皮障害の新たな治療標的分子となりうると期待される。

業績目録

原著論文

1. Yamamoto, A., Kami, K., Takeya, R., and Sumimoto, H. 2007.
Interaction between the SH3 domains and C-terminal proline-rich region in NADPH oxidase organizer 1 (Noxo1).
Biochem. Biophys. Res. Commun. 352, 560–565.
2. Honbou, K., Minakami, R., Yuzawa, S., Takeya, R., Suzuki, N. N., Kamakura, S., Sumimoto, H. (co-corresponding author), and Inagaki, F. (co-corresponding author) 2007.
Full-length p40^{phox} structure suggests a basis for regulation mechanism of its membrane binding.
EMBO J. 26, 1176–1186.
3. Satoh, S., Tanaka, H., Ueda, Y., Oyama, J. I., Sugano, M., Sumimoto, H., Mori, Y., Makino, N. 2007.
Transient receptor potential (TRP) protein 7 acts as a G protein-activated Ca²⁺ channel mediating angiotensin II-induced myocardial apoptosis.
Mol. Cell. Biochem. 294, 205–215.
4. Ueyama, T., Tatsuno, T., Kawasaki, T., Tsujibe, S., Shirai, Y., Sumimoto, H., Leto, T. L., and Saito, N. 2007.
A regulated adaptor function of p40^{phox}: distinct p67^{phox} membrane targeting by p40^{phox} and by p47^{phox}.
Mol. Biol. Cell 18, 441–454.
5. Shinohara, M., Shang, W. H., Kubodera, M., Harada, S., Mitsushita, J., Kato, M., Miyazaki, H., Sumimoto, H., and Kamata, T. 2007.
Nox1 redox-signaling mediates oncogenic Ras-induced disruption of stress fibers and focal adhesions by down-regulating Rho.
J. Biol. Chem. 282, 17640–17648.
6. Fujii, M., Inoguchi, T., Maeda, Y., Sasaki, S., Sawada, F., Saito, R., Kobayashi, K., Sumimoto, H., and Takayanagi, R. 2007.

- Pitavastatin ameliorates albuminuria and renal mesangial expansion via down-regulation of NOX4 in db/db mice.
Kidney Int. 72, 473–480.
7. Miyano, K., and Sumimoto, H. 2007.
Role of the small GTPase Rac in p22^{phox}-dependent NADPH oxidases.
Biochimie 89, 1133–1144.
 8. Mayumi, M., Takeda, Y., Hoshiko, M., Serada, K., Murata, M., Moritomo, T., Takizawa, F., Kobayashi, I., Araki, K., Nakanishi, T., and Sumimoto, H. 2008.
Characterization of teleost phagocyte NADPH oxidase: molecular cloning and expression analysis of carp (*Cyprinus carpio*) phagocyte NADPH oxidase.
Mol. Immunol. 45, 1720–1731.
 9. Takeya, R., Taniguchi, K., Narumiya, S., and Sumimoto, H. 2008.
The mammalian formin FHOD1 is activated via phosphorylation by ROCK and mediates thrombin-induced stress fibre formation in endothelial cells.
EMBO J. 27, 618–628.
 10. Shono, T., Yokoyama, N., Uesaka, T., Kuroda, J., Takeya, R., Yamasaki, T., Amano, T., Mizoguchi, M., Suzuki, S. O., Niino, H., Miyamoto, K., Akashi, K., Iwaki, T., Sumimoto, H., and Sasaki, T. 2008.
Enhanced expression of NADPH oxidase Nox4 in human gliomas and its roles in cell proliferation and survival.
Int. J. Cancer, in press.

総説

1. Sumimoto, H., Kamakura, S., and Ito, T. 2007.
Structure and function of the PB1 domain, a protein-interaction module conserved in animals, fungi, amoebas, and plants.
Sci. STKE 2007, re6.
2. 宮野佳, 水上令子, 住本英樹. 2007.
Nox ファミリーの調節機構.
臨床検査 51, 1111–1115.
3. 前原 優一, 宮野 佳, 住本英樹. 2008.
Nox ファミリーメンバーの活性調節機構.
G. I. Research 16, 印刷中.

著書

1. 住本 英樹. 2007.
活性酸素産生系活性化の分子機構.
生体防御医学事典 (鈴木和男 監修) pp. 206–211

朝倉書店, 東京.

2. 住本 英樹, 前原 優一, 宮野 佳. 2008.
活性酸素生成酵素 Nox/Duox の調節機構と酸化ストレス.
酸化ストレスの医学 (吉川敏一 監修)
診断と治療社, 東京. 印刷中.

学会発表

1. Hideki Sumimoto (2007, 5/27- 5/30)
シンポジウム「NO/ROS in Cell Signaling」
Molecular mechanism for activation of the phagocyte NADPH oxidase.
19th FAOBMB Seoul Conference, Seoul, Republic of Korea.
2. Hideki Sumimoto (2007, 10/30- 11/2)
Mechanism for activation of superoxide-producing NADPH oxidases.
The 4th Meeting of International Redox Network, Jeju Island, Republic of Korea.
3. 住本 英樹 (2007, 5/25-5/27)
ワークショップ「酸化ストレスの評価方法と腎障害への応用」
活性酸素生成酵素 NADPH オキシダーゼ (Nox) ファミリーの機能と調節機構.
第 50 回日本腎臓学会学術総会, 浜松.
4. 武谷 立, 住本 英樹. (2007, 5/28-5/30)
ワークショップ「細胞骨格・細胞運動・細胞移動」
formin 相同タンパク質 Fhos1/FHOD1 のリン酸化依存的活性化機構.
第 40 回日本発生生物学会 第 50 回日本細胞生物学会合同大会, 福岡.
5. 水上 令子, 本坊 和也, 湯澤 聡, 武谷 立, 鈴木 展生, 鎌倉 幸子, 稲垣 冬彦, 住本 英樹. (2007, 7/26-7/28)
食細胞 NADPH オキシダーゼ細胞質因子 p40^{nox} の膜移行の制御機構.
第 18 回日本生体防御学会学術総会, 福岡.
6. 宮野 佳, 住本 英樹. (2007, 7/26-7/28)
スーパーオキシド生成酵素 Nox1-Nox3 の活性化における低分子量 G タンパク質 Rac の役割.
第 18 回日本生体防御学会学術総会, 福岡.
7. 山本 麻太郎, 武谷 立, 住本 英樹. (2007, 7/26-7/28)
NADPH オキシダーゼ活性化蛋白質 Noxo1 のリン酸化による制御.
第 18 回日本生体防御学会学術総会, 福岡.
8. 宮野 佳, 住本 英樹. (2007, 10/26-10/27)
スーパーオキシド生成酵素 NADPH オキシダーゼ (Nox) 1-3 の活性化における低分子量 G タンパク質 Rac の役割.

第13回MPO研究会, 広島.

9. 山本 麻太郎, 武谷 立, 住本 英樹. (2007, 12/11-12/15)
スーパーオキシド生成酵素 Nox1 の活性化における細胞質因子 Noxo1 のリン酸化.
第30回日本分子生物学会年会第80回日本生化学会大会合同大会 BMB2007, 横浜.
10. 水上 令子, 本坊 和也, 湯澤 聡, 武谷 立, 鈴木 展生, 鎌倉 幸子, 稲垣 冬彦, 住本 英樹. (2007, 12/11-12/15)
 $p40^{nox}$ の PX ドメインと PtdIns(3)P との結合は $p40^{nox}$ の PB1 ドメインによって負に制御されている.
第30回日本分子生物学会年会第80回日本生化学会大会合同大会 BMB2700, 横浜.
11. 宮野 佳, 住本 英樹. (2007, 12/11-12/15)
スーパーオキシド生成型 NADPH オキシダーゼ Nox1~Nox3 の活性化における低分子量 G タンパク質 Rac の役割.
第30回日本分子生物学会年会第80回日本生化学会大会合同大会 BMB2700, 横浜.
12. 武谷 立, 谷口 賢一郎, 成宮 周, 住本 英樹. (2007, 12/11-12/15)
formin 相同蛋白質 Fhos1/FHOD1 のリン酸化による活性制御機構.
第30回日本分子生物学会年会第80回日本生化学会大会合同大会 BMB2007, 横浜.
13. 紀藤 圭治, 加藤 光伯, 岡田 悟, 川口 典子, 太田 一寿, 武谷 立, 住本 英樹, 伊藤 隆司. (2007, 12/11-12/15)
ペプチド連結型標準物質と質量分析 (PCS-MS 法) を用いたタンパク質の化学量論的定量解析.
第30回日本分子生物学会年会第80回日本生化学会大会合同大会 BMB2007, 横浜.
14. 住本 英樹, 宮野 佳, 水上 令子. (2008, 3/17-3/19)
シンポジウム「生体内ラジカル/活性酸素種による生理応答機構と病態形成」
活性酸素生成型 NADPH オキシダーゼの活性化の分子機構.
第81回日本薬理学会年会, 横浜.

分子腫瘍学分野

Division of Molecular and Surgical Oncology

細胞機能制御学部門（分子腫瘍学分野）では、(A) 癌の基礎研究、(B) 癌の遺伝子診断法の確立、(C) 新しい治療の開発、を研究の3つの柱と位置づけ研究を推進している。人事面では、平成19年3月に講師・松本敏文が独立法人国立病院機構別府医療センター外科へ転出した。また平成18年12月には中村能人が東京慈恵会大学外科、張翔が大阪市立大学外科、横江 毅が三重大学外科へ、平成19年3月には小坂愉賢が北里大学外科、家田敬輔が群馬大学外科、平崎重雄が東京医科歯科大学外科へそれぞれ転出した。一方、平成18年4月より坂下博之（東京医科歯科大学・大学院）、喜多芳昭（鹿児島大学・大学院）、坂下克也（大阪市立大学・大学院）、佐伯泰慎（九州大学・大学院）が、7月からは高角康志（東京医科歯科大学・大学院）および修士課程大学院生として、松崎信治、川本 恵、福吉由起が、平成19年1月には大熊誠尚（医員）がそれぞれ着任した。平成19年4月より蒲原行雄（講師）が長崎大学外科より、岩槻政晃（医員）、横堀武彦（群馬大学外科・共同研究員）が着任し、現在総員19名で臨床・研究を進めている。研究室で取り組んでいる研究の内容と、その歩みについてご紹介いたします。

A. 癌の基礎的研究

a) 疾患関連遺伝子のマイクロアレイによる包括的解析

1. DNA microarray 法を用いた遺伝子解析

DNA マイクロアレイ法は多数（一数万）の遺伝子の発現を一度に解析できる方法である。教室では胃癌・食道癌・大腸癌・肝臓癌検体を用いて癌関連遺伝子マイクロアレイ解析を行ったところ、癌の悪性度のクラスタリングを行う過程で、遺伝子によって加重を変えて解析をすることで、リンパ節転移・進行度・予後を反映する遺伝子群の抽出に成功した。更に術前生検標本を用いたマイクロアレイ解析も可能となった。18年度はCREST 大腸癌研究の一環として大腸癌のLMD 標本を用いた詳細な検討を行い、大腸癌発癌に関連する70 遺伝子(FABP6: Ohmachi et al. *Clin Cancer Res*, 2006, TRIM29 : Kosaka et al. *Ann Surg Oncol*, 2007, Yokoe et al, *Int J Oncol*, 2007) を抽出した。また肝臓癌でも発癌を規定する遺伝子群を見いだした (Ustunomiya et al. *World J Gastroenterol*, 2007, Ieta et al, *Int J Cancer*, 2007) .

2. aCGH法による包括的ゲノム解析

これまでのマイクロアレイによる遺伝子発現解析に加え、平成17年度からはゲノムDNA の欠失・増幅を全ゲノムレベルで行えるaCGH法（アレイ comparative genomic hybridization 法）

を導入して、消化器癌の微細なゲノム変化を検討している。LMD法と組み合わせることで、食道癌、大腸癌の多段階病変を詳細に検討している(Hirasaki et al. *Oncologist*, 2007)。また同じ病変のmRNA発現プロファイルとDNAゲノム変異を同時に検索し、全ゲノム上におけるマッピングを開始した。更に18年度からは幹細胞に注目しマウス化学発癌モデルによる多段階変化とゲノム変異について検討している。

3. miRNAの癌における意義の解明

最近、蛋白をコードしない領域の機能性RNA異常(miRNA)の存在が明らかになってきており、これを介した癌化のメカニズムが注目を浴びるようになってきている。そこで我々はmiRNAの変化と共にそれらの病変における既存のゲノム変化、遺伝子発現レベルの変化を包括的・統合的に解明し新しい視点からがん病態を捉えると共に、新規治療法の開発を目指すことを目的とした研究を開始した。18年度は(1)miRNAを400種類搭載したアレイチップ(2)RT-PCR法による検索を行い、大腸癌ではmir19, 20, 21が増加しており、臨床病理学的因子との関連がうかがえることを明らかにした(Motoyama et al, *Clin Cancer Res*, in press)。

b) 消化器癌における癌幹細胞の研究

血球細胞のように腫瘍にも幹細胞という分化能と自己複製能をもった細胞が存在し、これらの細胞が分化増殖して腫瘍を形成すると考えられている。腫瘍幹細胞の同定とその機能の解明を目的として、肝臓癌細胞株の中に幹細胞の資格を持つ細胞群を同定することに成功した。これらの細胞は全細胞中1-2%しか存在しないが、肝臓と胆管に共通する未分化な遺伝子群、あるいは薬剤耐性遺伝子を強く発現していることが示された(Haraguchi et al, *Stem Cells*, 2006, Haraguchi et al, *Hum Cell*, 2006)。現在、胃癌、食道癌、大腸癌、膵臓癌についても同様の癌幹細胞候補を見いだした(Ieta et al, *Ann Surg Oncol*, 2007)。これらについては細胞生物学的機能解明とともに、共通する幹細胞マーカーの検索を精力的に進めているところである。また癌の転移形成あるいは薬剤抵抗性に癌幹細胞が関与する可能性を詳細に検討している。

c) 癌の治療を困難にしている癌の多様性の解析

1. 動物多段階発癌モデルによる発癌機構と癌多様性のメカニズム解明

癌の多様性は癌治療を困難にしている。われわれの作成したラット多段階発癌モデルを用い、それらの腫瘍(パピローマ→進行食道癌)組織における遺伝子発現パターンを、特にLCM(Laser Captured Microdissection)法とDNA microarray法を応用して解析し、多段階発癌過程における遺伝子発現プロファイルを明らかにした(Nishida et al. *Cancer Res*, 2005)。平成18年度にはマ

ウス発癌モデル (AOM) を導入し (1) 健常上皮 (2) 腺腫様変化 (3) 早期癌 (4) 進行癌における遺伝子変化 (ゲノム変異、発現変異、蛋白変異) について特に消化管幹細胞との関連について研究を開始した。

2. LMD と DNA マイクロアレイを用いた消化器癌多様性のメカニズム解明

癌における腫瘍内の癌多様性, あるいは原発巣と転移巣の違いを明らかにする目的でLMD法、T7遺伝子増幅法, DNA microarrayを応用した解析を行っている。現在, 消化器癌および乳癌において新規癌関連遺伝子や癌抗原の同定を行っており、その一つとして乳癌原発巣と転移リンパ節腫瘍における遺伝子変異を詳細に検討し転移相関連遺伝子群を見いだした。現在その詳細を検討中である。

d) 腫瘍における各種癌関連遺伝子の解析と新しい癌関連遺伝子の同定

1. 消化器癌における EGFR 遺伝子突然変異

分子標的薬剤イレッサはEGFR遺伝子突然変異がある症例ではより有効であることが肺癌で報告されたが, 我々は大腸癌症例においてLMD法を加味したEGFR遺伝子検索を行ったところ, 33例中4例 (12%) に突然変異を見つけ報告した (Nagahara et al, *Clin Cancer Res*, 2005). 従来大腸癌には使用が認めれないイレッサの適応拡大の可能性が示された。次いで胃癌におけるEGFR遺伝子突然変異を検索したところ大腸癌と異なり胃癌では変異を認めなかった (Mimori et al, *J Surg Oncol*, 2006). 食道癌での検索を行い頻度は低いものの変異を認めた (Sudo et al, *Eur J Surg Oncol*, 2007).

2. FHIT/FRA3B領域におけるゲノム解析と癌における遺伝子欠失機序の解明

我々はヒト3番染色体 3p14.2 領域から癌関連遺伝子FHITを単離し, 癌組織でFHITが欠落していることを明らかにした (Inoue H et al, *PNAS* 1998, Mimori K et al. *PNAS* 1999, Shiraishi T et al *PNAS* 2001). 一方, 機能面に介してFhitはcaspaseの亢進を介してapoptosisに関連することがわかってきた。またFhitが遺伝子修復酵素Msh2と密に関連することを明らかにした (Mori M. et al. *Cancer Res*, 2001). 更に炎症 (特にプロスタグランジン系) と癌という観点から検索したところ, FHIT遺伝子発現は反復する炎症に影響を受けること, またNSAID系の抗炎症薬がその作用を押さえることを見いだした (Mimori et al, *Cancer Res*, 2006).

e) プロテインチップを用いた癌の包括的蛋白発現解析

当科ではこれまでDNA・RNAを対象とした癌の遺伝子解析を行ってきたが, 腫瘍マーカーや分

子標的薬剤の検索を今後より多角的に検討するために、昨年度プロテインチップによる包括的蛋白ペプチド解析装置を導入した。LMD を利用した微細病変による蛋白発現の違いを現在検索中である。この装置の導入により今後、DNA・RNA・蛋白と3位一体型の研究が可能となった。

B. 癌の遺伝子診断法の確立

a) 癌の微小転移の検出

病理診断で転移陰性のリンパ節に対し遺伝子診断（CEAとMAGE遺伝子のRT-PCR法）を用い微小転移を検出してきた。n0症例の術後再発予測に遺伝子診断が有用であった。当研究は厚生省科学研究費の対象となり平成17年3月時点で全国多施設共同研究として1500例の末梢血・骨髓液を収集しており、精力的に解析が進んでいる（Masuda et al, *Int J Oncol*, 2005, Kosaka et al, *Br J Cancer*, 2007, Mimori et al, *Clin Cancer Res*, in press）。

b) 疾患感受性遺伝子の同定・検索

われわれは消化器癌を対象として、環境中の発癌物質の代謝酵素遺伝子を含め、様々な癌関連遺伝子（L-myc, NAT2, COMT, DH3, ALDH2, p53 など）の多型性検索に取り組んでいる。癌へのかかり易さを遺伝子多型の観点から予測できるようになれば、発癌のハイリスク群をより客観的に評価することが可能となり、将来発癌に対する予防策を講じる一助となることが期待される。

c) 大腸癌の発生、進展および治療感受性に関わる生活習慣および遺伝子多型の解析

平成16年度10月からは全国7施設共同によるクレスト（科学技術振興機構）研究が5年計画で始まり大腸癌2000例、健常者3000例の大規模スタディーを開始したが、平成19年度3月時点で総計4300例の症例を収集し、食事を中心とする疫学的観点、DNA多型、遺伝子発現マイクロアレイ解析を同時に進めているところである。当科が主任研究施設である。大腸癌300例を対象に機能的遺伝子多型15種類を検討したところ、SMYD3が日本人大腸癌発癌に関連することを見いだした。

d) 食道癌の発生、進展および治療感受性に関わる生活習慣および遺伝子多型の解析

平成18年度4月からは全国5施設共同による基盤研究S（文部科学省）研究が5年計画で始まり食道癌1000例、健常者2000例の大規模スタディーを開始した。当科が主任研究施設である。19年度中に食道癌850例の症例を集積し、プロジェクトは順調に推移している。

C. 新しい治療法の開発

a) 腫瘍拒絶抗原を用いた癌特異的免疫療法

1. MAGE ペプチドと樹状細胞を用いた癌ペプチドワクチン療法

腫瘍拒絶抗原 MAGE ペプチドを用いた DC ワクチン療法を世界に先駆けて臨床応用し、進行再発消化器癌 13 症例に行ったところ副作用は全く認めず高い評価を受けた (Sadanaga et al, *Clin Cancer Res*, 2001). 治療効果については転移性肺癌の縮小, 再発リンパ節の縮小した症例も認められた. 平成 17 年 2 月に本治療は厚生労働省より高度先進医療の認可を受けることができ、現在 30 例に治療を行っている。

2. 新規腫瘍拒絶抗原の検討とペプチドワクチン療法対象症例の拡大

腫瘍拒絶抗原としてこれまで報告してきた NY-ESO-1, LAGE-1, SSX, SCP-1 に加え、新たに胃癌における候補抗原として OIP5 を見いだした (Nakamura et al, *Ann Surg Oncol*, 2006). また、マイクロアレイ解析による遺伝子発現解析を 3 度組み合わせる新規手法によって候補遺伝子を同定し、そのなかから STK31 が有望な癌抗原遺伝子であり、HLA-A2 拘束性ペプチドを同定した (Yokoe et al, *Cancer Res*, 2008). ペプチドワクチン治療については平成 16 年度よりがんトランスレーショナル・リサーチ (代表: 三重大学玖珠教授) に参加し全国規模の治療研究を展開継続中である。

3. 効果的な DC・ペプチドワクチン療法の開発

担癌患者では免疫能が低下しているため、よりよい治療効果が望めない. Balb/c マウスの大腸癌担癌モデルを用いた解析の結果、担癌マウス由来の DC では健常マウス由来の DC に比較して機能低下していたが、OK-432 の投与により DC の抗原提示能の増強、腫瘍内 T リンパ球の増加を伴う抗腫瘍効果が得られることがわかった (Mashino et al, *Mol Cancer Ther*, 2002、Tanaka et al *Int J Oncol*, 2006). DC ワクチン OK432 の併用を加えた臨床的検討をおこなっていきたい。

b) 脂肪幹細胞を用いた再生医療

近年細胞工学の進展、各種増殖因子の同定などにより様々な組織のもとになる細胞、すなわち「幹細胞」の存在が明らかにされてきた。私たちは乳癌術後の乳房の変形、欠如あるいは炎症性腸疾患 (潰瘍性大腸炎、クローン病) 治療のために脂肪幹細胞を用いた再生医療の可能性を検討し、脂肪幹細胞の分離・臨床応用を精力的に進めている米国 Cytori 社との共同研究を開始した平成 18 年度には学内倫理委員会の承認のもと臨床応用を開始し、現在までに 9 例の治療を行い、その結果は良好である。脂肪幹細胞は心筋細胞への分化も報告されており、この点に関しては当

病院・循環器内科との共同研究を行う予定にしている。

業績目録

原著論文

1. Utsunomiya T, Okamoto M, Wakiyama S, Hashimoto M, Fukuzawa K, Ezaki T, Aishima S, Yoshikawa Y, Hanai T, Inoue H, Barnard GF, Mori M. 2007.
A specific gene-expression signature quantifies the degree of hepatic fibrosis in patients with chronic liver disease.
World J Gastroenterol 13(3), 383-390.
2. Mimori K, Kosaka Y, Hirasaki S, Kita Y, Moriyama N, Mori M 2007.
Disseminated isolated tumor cells in bone marrow of esophageal cancer cases.
Esophagus 4(1):29-33.
3. Nakamura Y, Tanaka F, Nagahara H, Ieta K, Harauchi N, Mimori K, Sasaki A, Inoue H, Yanaga K, Mori M. 2007
Opa interacting protein 5 (OIP5) is a novel cancer-testis Specific gene in gastric cancer.
Ann Surg Oncol 14(2): 885-892.
4. Sudo T, Mimori K, Nagahara H, Mori M. 2007.
Identification of EGFR mutations in esophageal cancer.
Eur J Surg Oncol 33(1): 44-48.
5. Shiozaki H, Fujiwara Y, Hirai T, Matsubara H, Mori M, Nakamura T, Nakanishi Y, Natsugoe S, Noguchi T, Ozawa S, Shimada Y, Udagawa S, Yamana H, Yano M, Yasuda T, Yanagisawa A. 2007.
Clinical significance of immunohistochemically detected lymph node micrometastasis in patients with histologically node-negative esophageal carcinoma: a multi-institutional study.
Esophagus 4: 35-39.
6. Tanaka F, Sonoda H, Okamoto M, Mimori K, Utsunomiya T, Inoue H, Hanai T, Mori M. 2007.
TIMP-3 and phosphatidylinositol 3-kinase genes were found to be related to the progression of colon cancer in a comparison of pneumoperitoneum and laparotomy in a murine model.
Surg Today 37(3): 220-225.
7. Ieta K, Ojima E, Tanaka F, Nakamura Y, Harauchi N, Mimori K, Inoue H, Kuwano H, Mori M. 2007.
Identification of overexpressed genes in hepatocellular carcinoma, with special reference to ubiquitin-conjugating enzyme E2C gene expression.
Int J Cancer 121(1):2787-2792.
8. Hirasaki S, Noguchi T, Mimori K, Onuki J, Morita K, Inoue H, Sugihara K, Mori M, Hirano T. 2007.

- BAC clones related to prognosis in patients with esophageal squamous carcinoma: an array comparative genomic hybridization study.
Oncologist 12(4):406-417.
9. Ishikawa K, Ishii H, Murakumo Y, Mimori K, Yamamoto K, Mori M, Nishino H, Furukawa Y, Ichimura K. 2007. Rad9 modulates the P21WAF1 pathway by direct association with p53.
BMC Mol Biol 8: 37.
10. Kosaka Y, Mimori K, Fukagawa T, Ishikawa K, Etoh T, Katai H, Sano T, Watanabe M, Sasako M, Mori M. 2007. Identification of the high-risk group for metastasis of gastric cancer cases by vascular endothelial growth factor receptor-1 overexpression in peripheral blood.
Br J Cancer 96: 1723-1728.
11. Kosaka Y, Mimori K, Tanaka F, Inoue H, Watanabe M, Mori M. 2007. Clinical significance of the loss of MATS1 mRNA expression in colorectal cancer.
Int J Oncol 31: 333-338.
12. Yokoe T, Ohmachi T, Inoue H, Mimori K, Tanaka F, Kusunoki M, Mori M. 2007. Clinical significance of growth differentiation factor 11 in colorectal cancer.
Int J Oncol 31: 1097-1101.
13. Ogawa K, Murayama S, Mori M. 2007. Predicting the tumor response to radiotherapy using microarray analysis (Review)
Oncol Rep 18: 1243-1248.
14. Mimori K, Nishida K, Nakamura Y, Ieta K, Yoshikawa Y, Sasaki A, Ishii H, Alonso MA, Mori M. 2007. Loss of MAL expression in precancerous lesions of the esophagus.
Ann Surg Oncol 14 (5): 1670-1677.
15. Kosaka Y, Inoue H, Ohmachi T, Yokoe T, Matsumoto T, Mimori K, Tanaka F, Watanabe M, Mori M. 2007. Tripartite motif-containing 29 (TRIM29) is a novel marker for lymph node metastasis in gastric cancer
Ann Surg Oncol 14 (9): 2543-2549.
16. Nakamura Y, Tanaka F, Haraguchi N, Mimori K, Matsumoto T, Inoue H, Yanaga K, Mori M. 2007. Clinicopathological and biological significance of mitotic centromere-associated kinesin overexpression in human gastric cancer.
Br J Cancer 97 (4): 543-549.
17. Liu JW, Kim MS, Liu JW, Kim MS, Nagpal J, Yamashita K, Poeta L, Chang XF, Lee J, Park HL, Jeronimo C, Westra WH, Mori M, Moon C, Trink B, Sidransky D. 2007. Quantitative hypermethylation of NMDAR2B in human gastric cancer.

Int J Cancer 121 (9): 1994-2000.

18. Ojima E, Inoue Y, Miki C, Mori M, Kusunoki M. 2007.

Effectiveness of gene expression profiling for response prediction of rectal cancer to preoperative radiotherapy.

J Gastroenterol 42 (9): 730-736.

19. Mimori K, Fukagawa T, Kosaka Y, Ishikawa K, Ftoh T, Sasako M, Mori M. 2007.

A large-scale study of MT1MMP as a marker for isolated tumor cells in peripheral blood and bone marrow in gastric cancer cases.

Ann Surg Oncol 14(2): 64-64.

20. Motoyama K, Tanaka T, Mimori K, Matsumoto T, Inoue H, Sugihara K, Mori M. 2007.

Clinical significance of BMP7 in human colorectal cancer.

Ann Surg Oncol 14(2): 99-99.

21. Sasaki A, Tanaka F, Mimori K, Inoue H, Kai S, Shibata K, Ohta M, Kitano S, Mori M. 2008.

Prognostic value of tumor-infiltrating FOXP3+ regulatory T cells in patients with hepatocellular carcinoma.

Eur J Surg Oncol 34:173-179.

22. Yoshinaga K, Yamashita K, Mimori K, Tanaka F, Inoue H, Mori M. 2008.

Activin a causes cancer cell aggressiveness in esophageal squamous cell carcinoma cells.

Ann Surg Oncol 15(1):96-103.

23. Yokoe T, Tanaka F, Miori K, Inoue H, Ohmachi T, Kusunoki M, Mori M. 2008.

Efficient identification of a novel cancer testis antigen as a candidate of cancer immunotherapy using three-step microarray analysis.

Cancer Res 68(4):1074-1082.

24. Mimori K, Fukagawa T, Kosaka Y, Kita Y, Ishikawa K, Etoh T, Iinuma H, Sasako M, Mori M. 2008.

Hematogenous metastasis in gastric cancer requires isolated tumor cells and expression of vascular endothelial growth factor receptor-1

Clin Cancer Res (in press)

25. Ohta M, Mimori K, Fukuyoshi Y, Kita Y, Motoyama K, Yamashita K, Ishii H, Inoue H, Mori M. 2008.

Clinical significance of the reduced expression of G protein gamma 7 (GNG7) in esophageal cancer

Br J Cancer (in press)

総説

1. 佐々木淳、井上 裕、森 正樹 2007.

九州大学病院別府先進医療センター外科専門診療科

- 肝臓病の最新治療 1, 378-379.
2. 森 正樹 2007.
- C. 腫瘍免疫
新臨床外科学 4, 136-140.
3. 横江 毅、楠 正人、森 正樹 2007.
アポトーシス
Surgery Frontier 14, 78-81.
4. 井上 裕、森 正樹 2007.
進行大腸癌に対する分子標的治療の最前線
Frontiers in Gastroenterology 12(1), 48-55.
5. 高角康志、森 正樹 2007.
遺伝子検査
からだの科学 253, 123-127.
6. 原口直紹、森 正樹 2007.
腸管システムにおける癌幹細胞と大腸癌
細胞工学 26(5), 527-531.
7. Natsugoe S, Mori M 2007.
Isolated tumor cells in esophageal cancer
Esophagus 4(1), 1-5.
8. 小坂愉賢、三森功士、森山紀之、渡邊昌彦、森 正樹 2007.
微小転移
日本臨床 65(6), 47-53.
9. 井上 裕、森 正樹 2007.
NAG-1 (NSAID 活性化遺伝子-1) の過剰発現は腸管腫瘍の発生を抑制する
Review of Clinical Gastroenterology and Hepatology 2(1), 47-54.
10. 松本敏文、森 正樹 2007.
食事が摂りにくいと訴える十二指腸潰瘍治療中の患者
Medical Practice 24(6), 1091.
11. 三森功士、森 正樹 2007.
癌転移の新しい考え 「固型癌転移における癌幹細胞および骨髄 由来細胞の役割」
GI Research 誌 15(4), 44-49.
12. 森 正樹 2007.
消化器癌と幹細胞研究 「序」
GI Research 誌 15(4), 1-2.
13. 原口直紹、森 正樹 2007.
消化器癌と幹細胞研究 「大腸癌における癌幹細胞研究の最新の知見」
GI Research 誌 15(4), 24-30.
14. 家田敬輔、原口直紹、石川健二、坂下博之、桑野博行、森 正樹 2007.
がん幹細胞
がん分子標的治療 5(3), 23-30.

15. 井上 裕、森 正樹 2007.
癌と転座：前立腺癌にみる新展開
Cancer Frontier 9, 78-82.
16. 小坂愉賢、三森功士、渡邊昌彦、森 正樹 2007.
癌転移形成に関わる骨髄由来細胞
Cancer Frontier 9, 35-42.
17. 井上 裕、森 正樹 2007.
分子生物学的アプローチ
コンセンサス癌治療 6(3), 154-156.
18. 井上 裕、坂下博之、原口直紹、森 正樹 2007.
がん幹細胞の概念にもとづく治療戦略
分子細胞治療 6(5), 42-48.
19. 岩槻政晃、三森功士、馬場秀夫、森 正樹 2007.
骨髄中上皮細胞の予後マーカーとしての活用
実験医学 25(17), 108-114.
20. 喜多芳昭、森 正樹 2007.
遺伝子変異、遺伝子多型による癌化学療法の効果予測
オンコロジー臨床ガイド・消化器癌化学療法 食道・胃・大腸 1, 241-245.
21. 坂下博之、家田敬輔、原口直紹、井上 裕、吉澤靖之、森 正樹 2007.
癌幹細胞
癌と化学療法 34(11), 1721-1729.
22. 森 正樹 2007.
特集によせて
Surgery Frontier 14(4), 5-6.
23. 森 正樹 2007.
編集後記
Surgery Frontier 14(4), 121.
24. 井上 裕、福吉由起、森 正樹 2007.
マイクロアレイ解析による転移予測
Surgery Frontier 14(4), 74-79.
25. 原口直紹、石川健二、蒲原行雄、三森功士、田中文明、井上 裕、森 正樹 2007.
癌幹細胞と転移
Surgery Frontier 14(4), 60-66.
26. 森 正樹、坂下博之、三森功士 2008.
DIF と抗癌剤耐性—癌幹細胞と EMT (epithelial-to-mesenchymal transition) の観点から
コンセンサス癌治療 7(1), 48-50.

学会発表

1. 原口直紹、家田敬輔、田中文明、三森功士、松本敏文、井上 裕、森 正樹(2007.4.11)
肝臓癌幹細胞の同定と検証

- 第 107 回日本外科学会定期学術集会 大阪
2. 坂下克也、喜多芳昭、原口直紹、三森功士、松本敏文、平川弘聖、森 正樹(2007. 4. 11)
胃癌における TNS4 遺伝子の臨床病理学的意義
- 第 107 回日本外科学会定期学術集会 大阪
3. 喜多芳昭、三森功士、中村能人、坂下克也、井上 裕、夏越祥次、愛甲 孝、森 正樹(2007. 4. 11)
食道扁平上皮癌における LAMB3 と COL7A1 の発言意義
- 第 107 回日本外科学会定期学術集会 大阪
4. 三森功士、深川剛生、小坂愉賢、平崎重雄、喜多芳昭、増田隆明、石川健二、衛藤 剛、片岡明美、飯沼久恵、大野真司、笹子三津留、森 正樹(2007. 4. 11)
癌患者の骨髄および末血中の遺伝子発現よりみた癌転移機構の解明
- 第 107 回日本外科学会定期学術集会 大阪
5. 山下継史、森 正樹、渡邊昌彦(2007. 4. 11)
消化器癌の転移形成能のメカニズムと治療戦略
- 第 107 回日本外科学会定期学術集会 大阪
6. 山口博志、平崎重雄、片岡明美、三森功士、井上 裕、大野真司、森 正樹(2007. 4. 11)
乳癌における骨髄中または末梢血液中 MMP14 (MT1-MMP)mRNA の発現に関する検討
- 第 107 回日本外科学会定期学術集会 大阪
7. 田中洋一、張 翔、永原 央、三森功士、西村洋治、八岡利昌、浅岡晋一、平川弘聖、森 正樹(2007. 4. 11)
大腸癌における EGFR チロシンキナーゼドメインの変異とゲフィチニブ感受性
- 第 107 回日本外科学会定期学術集会 大阪
8. 家田敬輔、田中文明、原口直紹、松本敏文、井上 裕、桑野博行、森 正樹(2007. 4. 12)
大腸癌における STC2 遺伝子発現の臨床病理的意義
- 第 107 回日本外科学会定期学術集会 大阪
9. 高角康志、坂下克也、杉原健一、森 正樹(2007. 4. 12)
大腸癌における CKAP2 遺伝子発現の検討
- 第 107 回日本外科学会定期学術集会 大阪
10. 横江 毅、大町貴弘、小坂愉賢、家田敬輔、三森功士、楠 正人、森 正樹(2007. 4. 12)
大腸癌における growth differentiation factor 11 発現と臨床的意義
- 第 107 回日本外科学会定期学術集会 大阪
11. 佐伯泰慎、小坂愉賢、中村能人、横江 毅、原口直紹、田中文明、井上 裕、渡邊昌彦、森 正樹(2007. 4. 12)
大腸癌における MATS1 遺伝子発現の検討
- 第 107 回日本外科学会定期学術集会 大阪
12. 真船健一、三森功士、久保田啓介、黒田純子、加藤亜裕、西田康二郎、森 正樹(2007. 4. 12)
食道発癌課程における MAL 遺伝子発現消失の意義について
- 第 107 回日本外科学会定期学術集会 大阪
13. 松本敏文、柴田浩平、太田正之、森 正樹、北野正剛(2007. 4. 13)
腹腔鏡下尾側臍切除術の有用性—開腹術との比較的検討
- 第 107 回日本外科学会定期学術集会 大阪
14. 田中文明、原口直紹、石川健二、小坂愉賢、張 翔、松本敏文、井上 裕、森 正樹 (2007. 4. 13)
消化器癌に対する樹状細胞を用いた癌特異的免疫治療：これまでの成果と今後の工夫

第107回日本外科学会定期学術集会 大阪

15. 平崎重雄、小坂愉賢、三森功士、杉原健一、森 正樹(2007. 4. 13)

マイクロアレイを用いた大腸癌の癌細胞と癌間質細胞における gene expression profile の検討

第107回日本外科学会定期学術集会 大阪

16. 本山一夫、田中文明、三森功士、松本敏文、井上 裕、杉原健一、森 正樹(2007. 4. 13)

大腸癌における BMP7 の臨床病理学的意義

第107回日本外科学会定期学術集会 大阪

17. 小坂愉賢、三森功士、田中文明、松本敏文、井上 裕、渡邊昌彦、森 正樹(2007. 4. 13)

胃癌患者における骨髄・末梢血中の VEGFR 1 mRNA 発現の検討

第107回日本外科学会定期学術集会 大阪

18. 井上 裕、小澤平太、渡邊昌彦、森谷宣皓、嶋田安博、下田忠和、田中淳一、工藤進英、植竹宏之、杉原健一、橋口陽二郎、望月英隆、井上靖治、楠 正人、緒方俊二、山田一隆、西村洋治、森 正樹 (2007. 4. 13)

大腸癌の発生および進展に関わる因子の解析：遺伝子多型とアレイ発現解析

第107回日本外科学会定期学術集会 大阪

19. 中村能人、本山一夫、三森功士、石川健二、矢永勝彦、森 正樹(2007. 4. 13)

胃癌における新規治療ターゲット遺伝子 PRAME (OIP 4)

第107回日本外科学会定期学術集会 大阪

20. Mimori K, Ishii H, Inoue H, Mori M(2007. 4. 28)

FHIT is associated with the inflammation related cancers of esophagus and colon

The 12th Taishotoyama International Symposium on Gastroenterology 下田

21. 川本 恵、中村能人、田中文明、三森功士、原口直紹、松本敏文、井上 裕、森 正樹(2007. 5. 24)

胃癌における新規治療ターゲット MCAK

第28回癌免疫外科研究会 東京都

22. 田中文明、川本 恵、原口直紹、石川健二、三森功士、松本敏文、井上 裕、森 正樹(2007. 5. 25)

癌幹細胞を標的とした新規癌免疫治療の意義

第28回癌免疫外科研究会 東京都

23. 松崎信治、家田敬輔、原口直紹、石川健二、大熊誠尚、坂下博之、田中文明、三森功士、蒲原行雄、井上 裕、森 正樹(2007. 6. 18)

大腸癌の癌幹細胞研究

第12回癌と遺伝子・大分外科フォーラム 大分

24. 喜多芳昭、三森功士、田中文明、家田敬輔、夏越祥次、井上 裕、愛甲 孝、森 正樹(2007. 6. 22)

食道扁平上皮癌における STC2 (Stanniocalcin2) の高発現とその意義

第61回日本食道学会学術集会 横浜

25. 平崎重雄、高角康志、三森功士、田中文明、松本敏文、井上 裕、杉原健一、森 正樹(2007. 6. 22)

超高密度アレイ CGH を用いた食道癌におけるゲノム変化の検索

第61回日本食道学会学術集会 横浜

26. 三森功士、深川剛生、小坂愉賢、喜多芳昭、平崎重雄、石川健二、衛藤 剛、笹子三津留、森 正樹(2007. 7. 18) 胃癌の ITC に関する長期的予後および大規模症例数の解析結果からみた治療

応用への提言 第62回日本消化器外科学会定期学術総会 東京

27. 坂下克也、三森功士、田中文明、松本敏文、井上 裕、澤田鉄二、平川弘聖、森 正樹(2007. 7. 18)

大腸癌における Ckap2 遺伝子発現の臨床病理学的意義

第 62 回日本消化器外科学会定期学術総会 東京

28. 田中文明、原口直紹、石川健二、三森功士、松本敏文、井上 裕、森 正樹(2007. 7. 19)

肝癌の発生機序から見た治療戦略：癌幹細胞を標的とした新規癌治療の開発

第 62 回日本消化器外科学会定期学術総会 東京

29. 小坂愉賢、三森功士、平崎重雄、喜多芳昭、石川健二、井上 裕、渡邊昌彦、深川剛生、
笹子三津留、森 正樹(2007. 7. 19)

胃癌患者の骨髄・末梢血液における MMP1mRNA 発現の検討

第 62 回日本消化器外科学会定期学術総会 東京

30. 横江 毅、田中文明、大町貴弘、井上 裕、楠 正人、森 正樹(2007. 7. 19)

新規癌精巢抗原の同定と特異的細胞障害性 T 細胞の導入

第 62 回日本消化器外科学会定期学術総会 東京

31. 喜多芳昭、三森功士、田中文明、原口直紹、石川健二、松本敏文、井上 裕、夏越祥次、愛甲 孝、
森 正樹(2007. 7. 20)

食道扁平上皮癌におけるリンパ節転移関連遺伝子の同定

第 62 回日本消化器外科学会定期学術総会 東京

32. 喜多芳昭、三森功士、田中文明、蒲原行雄、井上 裕、夏越祥次、森 正樹(2007. 7. 26)

食道における STC2 の高発現とその意義 第 40 回日本胸部外科学会 九州地方会総会 久留米

33. 坂下博之、原口直紹、石川健二、三森功士、田中文明、蒲原行雄、井上 裕、森 正樹(2007. 7. 26)

食道癌における幹細胞様集団の同定と解析 第 40 回日本胸部外科学会 九州地方会総会 久留米

34. 森 正樹(2007. 8. 2) 大腸癌の発生、進展および治療感受性に関わる因子の解析

第 3 回公開シンポジウム「テーラーメイド医療を目指したゲノム情報活用基盤技術」 東京

35. 原口直紹、三森功士、井上 裕、森 正樹(2007. 10. 3) 大腸癌における G0 期の細胞の意義

第 66 回 日本癌学会学術総会 横浜

36. 喜多芳昭、深川剛生、石川健二、三森功士、夏越祥次、愛甲 孝、笹子三津留、森 正樹) 2007. 10. 30

胃癌患者の骨髄、末梢血における urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR)mRNA の発現意
義 第 66 回 日本癌学会学術総会 横浜

37. 本山一夫、井上 裕、高角康志、田中文明、三森功士、蒲原行雄、樋口哲郎、植竹宏之、杉原健一、
森 正樹(2007. 10. 4) ヒト大腸癌における microRNA の発現解析

第 66 回 日本癌学会学術総会 横浜

38. 福吉由起、喜多芳昭、田中文明、三森功士、原口直紹、石川健二、蒲原行雄、井上 裕、
森 正樹(2007. 10. 4) 食道扁平上皮癌における STC2 遺伝子の発現意義

第 66 回 日本癌学会学術総会 横浜

39. 平野 隆、平崎重雄、井上 裕、杉原健一、佐々木功典、森 正樹(2007. 10. 4)

4K BAC アレイの CGH 法による食道癌の包括的ゲノム解析 第 66 回 日本癌学会学術総会 横浜

40. 松崎信治、原口直紹、田中文明、三森功士、蒲原行雄、井上 裕、森 正樹(2007. 10. 5)

Clinicopathologic significance of CKS2 expression in human gastric cancer

第 66 回 日本癌学会学術総会 横浜

41. 田中文明、三森功士、蒲原行雄、鶴丸昌彦、加藤抱一、藤田博正、田中洋一、愛甲 孝、徳留信寛、
山本 健、井上 裕、森 正樹(2007. 10. 5)

食道癌の発生・進展に関わる因子の解析 第66回 日本癌学会学術総会 横浜

42. 三森功士、石井秀始、原口直紹、大熊誠尚、坂下博之、井上 裕、森 正樹(2007. 11. 8)

炎症応答に関わる食道発癌機構と癌抑制遺伝子FHITの役割の解明

第18回 日本消化器癌発生学会総会 札幌

43. 家田敬輔、田中文明、加藤広行、喜多芳昭、原口直紹、三森功士、浅尾高行、井上 裕、桑野博行、森 正樹(2007. 11. 9)

Laser Microdissection・Microarrayを用いて検出した遺伝子Stanniocarin2の大腸癌における臨床病理学的意義について

第18回 日本消化器癌発生学会総会 札幌

44. 坂下克也、三森功士、田中文明、蒲原行雄、井上 裕、澤田鉄二、平川弘聖、森 正樹(2007. 11. 9)

胃癌患者におけるFhl1遺伝子の臨床病理学的意義 第18回 日本消化器癌発生学会総会 札幌

45. 小松由明、宇藤満昭、山元英崇、黒木祥司、徳永えり子、森 正樹、吉河康二、恒吉正澄(2007. 11. 30)

乳腺metaplastic carcinomaの3例 第46回 日本臨床細胞学会 仙台

46. 小松由明、吉河康二、田中文明、森 正樹(2008. 2. 17)

横紋筋肉腫様胃癌の1例とその細胞像について

第23回 日本臨床細胞学会大分県支部総会 大分市

47. 森 正樹、三森功士、深川剛生、飯沼久恵、片井 均、佐野 武、笹子三津留(2008. 2. 28)

血中・骨髄中のがん細胞検出とその意義 第80回 日本胃癌学会総会 横浜

48. 原口直紹、石川健二、田中文明、三森功士、蒲原行雄、井上 裕、森 正樹(2008. 3. 13)

消化器癌における癌幹細胞研究 第7回 日本再生医療学会総会 名古屋

老化制御学分野

Division of Molecular and Clinical Gerontology

当部門は生活習慣病および老年病を中心に診療する科であり、診療分野として循環器、呼吸器、老年病（神経疾患）を対象としている。研究面では、生活習慣病に対する治療への応用を目指して、以下のような遺伝子治療の基盤となる研究を推進している。まず、虚血性動脈疾患への治療の基盤として、抗サイトカイン遺伝子導入による血管新生の研究を行いその有効性を確認した。また、冠動脈再狭窄における内膜障害に対する抗サイトカイン遺伝子治療を試みている。

老年病へのアプローチとして、各種生活習慣病もしくは老年病患者集団における末梢血球のテロメア構造を解析し、種々の疾病状態における老化促進をゲノムレベルで評価している。臨床面では非侵襲的検査にて動脈硬化の程度を評価する試みを行っている。このことは生活習慣の改善や治療評価に重要であるだけでなく、各個人の老化の程度を客観的に知ることが可能となる。

人事面では、准教授 菅野 公浩が、平成20年3月31日付けで退職した。

A. 動脈硬化の成因・治療に関する研究

a. サイトカインと血管新生

末梢虚血性疾患に対する血管新生の遺伝子治療。- チロシンフォスファターゼの一種である SHP-1 に対する siRNA を血管内皮細胞に導入させることにより、血管内皮細胞が増殖することを明らかにした。ラット下肢虚血モデルにおいては SHP-1 が増加し、血管内皮細胞増殖因子の受容体の KDR 不活化されていることを証明し、SHP-1 に対する siRNA の発現プラスミドにより、KDR が活性化し、血管新生を起こす事を *in vivo* で証明した。これらの結果は、将来の虚血性血管病の遺伝子治療に役立つものと考えられる。最近では、チロシンリン酸化に関し、インスリンレセプターに対する遺伝子治療に関する研究にも取り組んでいる。

b. 動脈硬化進展に対する非侵襲的評価

糖尿病、高血圧、高脂血症などの疾患は生活習慣病として知られており、これらの疾患は病状の進行に従い動脈硬化は促進し、心血管病、脳血管病、認知症などを併発する危険性が高い。また、加齢に伴い血管は老化が進み上記の疾患に罹患する割

合も高くなる。非侵襲的検査にて動脈硬化の程度を評価することは生活習慣の改善や治療の評価に重要であるのみならず、各個人の老化の程度を客観的に知ることが可能となる。このため、頸動脈エコー、脈波伝播速度や Ankle-Brachial index を非侵襲的に検査し、血液中の炎症性パラメーター、各種サイトカイン、血糖値、脂質値などの関係を明らかにしている。

B. 心不全の成因および治療に関する研究

a. 心筋梗塞における抗サイトカイン遺伝子療法の開発

SHP-1siRNA 1 による心筋梗塞の遺伝子治療 - 急性心筋梗塞において、アポトーシスが梗塞範囲の増加の要因の一つであり、Akt のリン酸化は梗塞範囲の減少をもたらす。一方、SHP-1 は細胞のアポトーシスを起こすこと、Akt のリン酸化を抑制することが知られている。急性心筋梗塞における SHP-1 の影響について、RNA 干渉 (RNAi) を用い、検討した。SHP-1 の抑制における心筋梗塞への影響を SHP-1 に対する siRNA の発現プラスミドをラット心筋梗塞モデルに投与したところ、SHP-1siRNA 1 の発現プラスミドは、心筋のアポトーシスを抑制し、有意に梗塞サイズを減少させた。これらの結果は、将来の心筋梗塞の遺伝子治療に役立つものと考えられる。

b. 不全心における Toll-like receptor (TLR) 4 の役割

心筋梗塞及び心不全患者において血中及び心筋中の炎症性サイトカイン濃度が上昇していることが報告され、これらのサイトカインは自身が心筋収縮抑制作用を持ち、さらに誘導性一酸化窒素またはパーオキシナイトライドを産生し心筋収縮力を低下させることが明らかにされてきたがその機序については依然不明であった。共同研究者である Harvard Univ. Ralph Kelly 準教授らは梗塞心や不全心においてグラム陰性菌菌体成分リポポリサッカライド (LPS) の受容体である TLR が正常心に比較し過剰に発現している事が報告している。この受容体は単にグラム陰性菌感染時における宿主側の免疫応答を司るだけではなく、壊死心筋を直接認識する Pattern Recognition Receptor (PRR) としての役割が示唆されている。

c. マウス心筋梗塞モデル及び心不全モデルを用いた解析

TLR-4 欠損マウスを用いて実験的心筋梗塞モデルを作成し、通常マウスと比較し

炎症免疫細胞の浸潤が減弱し最終的に梗塞サイズが減少する事を報告した。現在、そのシグナル伝達において下流にある転写因子 NF- κ B 及び AP-1 の転写活性、さらにはさらなる下流にあるこれらの炎症性サイトカイン及びケモカインの発現の差異について検討中である。

d. 培養心筋細胞を用いた TLR-4 受容体発現機構の解析

TLR-4 が低酸素下にて培養心筋細胞にて通常と比べて過剰に発現する事を突き止めており、この事はさらに不全心における免疫反応を増幅させる役割を示唆し炎症性サイトカインの発現の機序に迫る知見と考えられる。以上の事は、現在まで不明であった不全心における増悪因子である炎症性サイトカインの発現の機序を明らかにする初めての研究であり、従来の心不全治療とは全く異なる新しい免疫学的見地からの治療法を提供する臨床的にも重要視される研究と考えられる。

e. 心不全患者における温熱療法の効果について

温熱療法は、末梢血管を拡張させる事により、血管抵抗を減少させ、心負荷を軽減する事が期待されている。そこで我々は慢性心不全でかつ運動が困難な症例を対象に、単純泉（40 度）に週 5 日、10 分間入浴してもらい、心不全の程度、心機能、末梢血管の状態を治療開始前後で比較検討したところ、現在までに、血管内皮細胞機能の改善を示唆する所見が得られている。この事は、温熱効果により末梢血管血流が反復的に増加する事により血管内皮細胞から放出される一酸化窒素が増加することで不全心に対し有益な効果をもたらす事が考察される。

C. 個体の発達、老化の機序に関する分子遺伝学的研究

a. 末梢血白血球のテロメア長とテロメア修飾の解析による生活習慣病における老化促進の評価

老化に伴う体細胞レベルでのテロメア短縮は、生活習慣病において、その短小化が促進される例が報告されている。動脈硬化による虚血性心疾患患者では、その短小化が促進され、その原因として酸化ストレスの蓄積による影響が示唆されている。しかし、インスリン非依存型糖尿病では、見解が分かれるなど、生活習慣病全般にわたって一定の見解が得られているわけではない。我々は、このテロメア長の分布を解析して、従来よりも詳細な検討を加えることで、より正確に生活習慣病の加齢

に対する影響をゲノムレベルで追跡している。これまで、九州大学別府先進医療センター循環・呼吸・老年病内科に受診する生活習慣病患者を対象として、パーキンソン病やサルコイドーシスにおいてテロメアの短縮傾向の促進を新規に確認し報告した。さらにテロメア周辺のエピジェネティックな変化が、老化促進の予測因子になる可能性を追求している。

業績目録

原著論文

1. Satoh S, Tanaka H, Ueda Y, Oyama J, Sugano M, Sumimoto H, Mori Y, Makino N. 2007.
Transient receptor potential (TRP) protein 7 acts as a G protein-activated Ca(2+) channel mediating angiotensin II-induced myocardial apoptosis.
Mol Cell Biochem. 294 (1-2), 205-15
2. Sugano M, Tsuchida K, Maeda T, Makino N. 2007.
SiRNA targeting SHP-1 accelerates angiogenesis in a rat model of hindlimb ischemia.
Atherosclerosis. 191 (1), 33-9.
3. Nakayama M, Muta H, Somada S, Maeda T, Muiyoh T, Shimizu K, Suehiro Y, Hisano T, Kurita R, Shiraishi T, Mori M, Yoshikawa Y, Tsunetomi N, Uchida A, Tani K. 2007.
Cronkhite-Canada syndrome associated with schizophrenia.
Intern Med. Feb 46, 175-80.
4. Maeda T, Hatakenaka M, Sugano M, Guan JZ, Oyama J, Higuchi Y, Muta H, Nakayama M, Nakazaki Y, Kurita R, Hiroshima T, Suzuki T, Tani K, Makino N. 2007.
Familial Turner mosaicism 46XX/45XO with brain calcification.
J.Neuropsychiat. Clin. Neurosci. 19, 342-3.
5. Guan JZ, Maeda T, Sugano M, Oyama J, Higuchi Y, Makino N. 2007
Change in the telomere length distribution with age in the Japanese population.
Mol Cell Biochem. 304, 353-60.
6. Guan JZ, Maeda T, Sugano M, Oyama J, Higuchi Y, Suzuki T, Makino N. 2007
An analysis of telomere length in sarcoidosis.
J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci. 62, 1199-203.
7. Funakoshi H, Zacharia LC, Tang Z, Zhang J, Lee LL, Good JG, Hermann DE, Higuchi Y,

Koch WJ, Jackson EK, Chan TO, Feldman AM. 2007

AI adenosine receptor upregulation accompanies decreasing myocardial adenosine levels in mice with left ventricular dysfunction.

Circulation.115,2307-15.

8. Guan JZ, Maeda T, Sugano M, Oyama J, Higuchi Y, Suzuki T, Makino N. (in press)
An analysis of telomere length distribution in Parkinson's disease patients.
J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.
9. Maeda T, Mizuno R, Sakoda S, Suzuki T, Makino N. (in press)
Tissue, period and site-specificity of somatic DNA recombination in the genomic region, BC-1.
Brain Res. J.
10. Makino, N., Maeda, T., Sugano, M., Satoh, S., Watanabe, R. and Abe, N. (in press)
Statin Therapy Reduces Pulse Wave Velocity, but Not Alters Carotid Intima-Media Thickness in Type 2 Diabetic Patients with Normal Cholesterol Levels
J.Diabetes Complications

総 説

1. 牧野直樹 2007
高齢者における循環器疾患の予防と対策 - 総論 -
循環器科 62, 105-108.
2. 前田豊樹 2007
心血管病と老化遺伝子
循環器科 62, 117-123.
3. 尾山純一 牧野直樹 (印刷中)
心拍変動
増刊号「新時代の糖尿病学(2)」日本臨床社

著 書

1. Maeda T
Genomic Rearrangement in Brain
In: Genetic Recombination Research Progress (eds.) Jacob H. Schulz, pp299-313.

Nova Science Publishers, Inc. Hauppauge, NY, USA. 2008.

学会発表

1. 前田豊樹, 牧野直樹 (2007, 6/22)
加齢に伴うパーキンソン病患者末梢白血球テロメア長変化の解析
第 49 回日本老年医学会学術集会, 札幌.
2. Makino N, Sugano M.(2007, 6/22-25)
SiRNA targeting SHP-1 accelerates angiogenesis in hindlimb ischemia
XIX World Congress of the ISHR, Bologna, Italy.
3. Sugano M, Hata T, Tsuchida K, Makino N (2007, 7/15)
In vivo gene transfer of SHP-1 siRNA alleviates infarct size following ischemia-reperfusion injury.
30th Annual Meeting of the Japanese Working Group “Cardiac Structure and Metabolism”,
Kyoto.
4. Sugano M, T. Hata T, Tsuchida K, Maeda T, Higuchi Y, Oyama J, Makino N (2007, 9/5)
SiRNA-mediated inhibition of SHP-1 alleviates infarct size following ischemia-reperfusion injury.
European Society of Cardiology Congress 2007, Vienna, Austria
5. Sugano M. (2007, 11/7)
In vivo gene transfer of SHP-1 SiRNA alleviates infarct size following ischemia-reperfusion injury
American Heart Association Scientific Sessions 2007, Orland, Florida, USA
6. 尾山純一, 佐藤真司, 門上俊明, 樋口義洋, 前田豊樹, 菅野公浩, 牧野直樹 (2007, 12/1)
フリーラジカルスカベンジャーによる冠動脈内皮機能の改善効果について
第 103 回日本循環器学会九州地方会, 大分.
7. 前田豊樹, 牧野直樹 (2008, 2/23)
九州大学病院別府先進医療センター療養病床の現状について
別府市医師会学術講演会, 別府
8. 前田豊樹, 牧野直樹 (2008, 3/1)
サブテロメア領域のメチル化の加齢性変化について
第 18 回日本老年医学会九州地方会, 福岡

研究助成金

1. 尾山純一，前田豊樹，五十嵐淳介，牧野直樹.

「慢性心不全患者に対する温熱療法の効果」 (100 万円)

2007 年度花王健康科学研究助成金