

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：12601

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2010～2014

課題番号：22112002

研究課題名(和文) TGF-ファミリーのがん微小環境に及ぼす作用とがん治療戦略

研究課題名(英文) Effects of TGF-beta family on cancer microenvironment and strategies for cancer therapy

研究代表者

宮園 浩平(MIYAZONO, Kohei)

東京大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：90209908

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 333,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではTGF- β やTGF- α と類縁の構造をもつ骨形成因子(BMP)のがん微小環境における役割を、分子細胞生物学的及び最新のゲノム科学的手法、バイオマテリアルなどを用いて研究した。我々はTGF- β によって上皮細胞が間葉系細胞に誘導される分子機構を研究し、がん細胞とがん微小環境が相互に作用しあってがんが進展する機構を明らかにした。また、骨形成因子の一つであるBMP-9がリンパ管内皮細胞に作用してリンパ管新生を抑制するという結果を得た。がん微小環境を標的とした薬剤は従来の抗がん剤と比較して副作用が少ないなどの特徴があることから、本研究の成果はがんの新たな診断治療法の開発のために重要と考えられた。

研究成果の概要(英文)：We have studied the roles of transforming growth factor (TGF)-beta and its related proteins (bone morphogenetic proteins, BMPs) on cancer microenvironment, by using molecular and cellular biological methods as well as recent genome biological techniques and biomaterials. We have investigated the molecular mechanisms involved in the induction of epithelial-mesenchymal transition (EMT) induced by TGF-beta, and found that functional interaction between cancer cells and cancer microenvironment plays important roles in the progression of cancer. We have also found that BMP-9 acts on lymphatic endothelial cells and inhibits lymphangiogenesis in vivo. Since anti-cancer drugs targeting cancer microenvironment are often less toxic than conventional anti-cancer drugs, our findings may be important for future development of new strategies for cancer diagnosis and treatment.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：がん微小環境 シグナル伝達 生体材料 生体イメージング ゲノム科学

1. 研究開始当初の背景

がんの微小環境は間質の線維芽細胞をはじめ、炎症細胞、免疫担当細胞、血管・リンパ管に加えて結合組織が存在し、それぞれのがんに特徴的な微小環境を構築している。がんの増殖・浸潤・転移のしやすさは、がん細胞自体のもつ特性によってのみで決定されるのではなく、がん細胞とがん微小環境との相互関係が深く関わっている。また、がんの進展に伴い、がん細胞と同様に、がん微小環境もがんの進展に伴ってダイナミックに変化して行くと考えられる。このようにがん研究が進歩するに従い、がん微小環境の重要性がますます注目されるようになってきた。

TGF- β はがん細胞の増殖を強力に抑制するだけでなく、がん微小環境に作用して、上皮—間葉移行(epithelial-mesenchymal transition, EMT)の促進、炎症の制御、血管・リンパ管新生の制御、骨などの遠隔組織への転移などに重要な働きを持つことが明らかとなってきた。TGF- β は増殖抑制因子であるため、早期のがんでは細胞増殖を抑制してがんの進展を抑える働きがある。しかし、多くのがんはTGF- β による増殖抑制作用を受けなくなっており、一方で腫瘍組織はTGF- β を豊富に産生している場合が多い。この結果、腫瘍組織で作られたTGF- β はがんの微小環境に作用し、しばしばがんの進行を促進する働きを示すことが知られている。このため進行したがんではTGF- β の作用を阻害することによってがんの進展を抑えることができると考えられ、TGF- β 阻害剤の臨床応用が進められている。しかし、TGF- β の作用は多彩でいくつかの副作用も懸念されることから、臨床的にはより下流のシグナルを特異的に制御する方法が治療の標的として有望と考えられるようになってきている。

TGF- β ファミリーの因子である BMP (bone morphogenetic protein)のがんとの関わりも近年注目されている。BMP は骨形成の促進だけでなく血管のホメオスタシスの維持にも重要であると考えられ、血管新生など、がん微小環境における役割が明らかとなってきた。

このように TGF- β ファミリー因子や種々の転写因子はがん微小環境の構築に様々な側面で極めて重要な関わりを持っている。がん微小環境を標的とした薬剤は、従来の抗がん剤と比較して副作用が少ないなどの特徴があり、がん微小環境の総合的理解はがんの新たな診断・治療法の開発のために極めて重要であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、1) TGF- β によって誘導される EMT の制御、2) CAF (cancer-associated fibroblast)

の誘導とその働きに関する研究、3) 血管・リンパ管新生の制御に関する研究、4) BMP のがん微小環境に対する作用の研究、5) 人工がん微小環境の創成、に焦点を当て、多角的に TGF- β ファミリーのがん微小環境に与える影響について研究を行い、新たな治療法の開発の基礎的知見を得ることを目指している。

3. 研究の方法

本研究では分子生物学的手法、細胞生物学的手法、遺伝学的手法を駆使して研究を行った。とくに ChIP-seq をはじめとした最新のゲノム科学的手法や生体イメージングの手法を取り入れつつ、総括班や他の計画班員と連携を取りながら研究を遂行した。

(1) 肺腺がんで高頻度に発現している TTF-1 と Smad の結合パターンの相違による標的遺伝子転写調節機構を分子レベルで明らかにし、TTF-1 による EMT 制御機構を明らかにする。

(2) EMT で誘導された細胞の中には α SMA 陰性の活性化線維芽細胞が存在する。 α SMA 陰性の活性化線維芽細胞に特異的なマーカータンパクを探索し、この細胞の特質を明らかにする。EMT では mRNA のスプライシングが制御されており、その分子メカニズムを明らかにする。

(3) BMP は血管新生やリンパ管新生に重要な役割を持つことが示唆されているが、その分子メカニズムについては不明な点が多い。BMP-9 は最近、血管内皮細胞に特異的な作用を発揮する因子として注目されている。本研究では BMP-9 のリンパ管内皮細胞に対する作用とその下流分子を明らかにし、BMP のがんの微小環境に関わる役割を明らかにする。

(4) 前立腺がんは骨に造骨性の転移を起こすことで知られる。BMP の前立腺がん細胞と骨ストローマ細胞の相互作用における役割についてヒト前立腺がん LNCaP 細胞と MC3T3-E1 細胞を用いて、Sonic hedgehog (SHH)シグナルとの関連を中心に明らかにする。

(5) BMP などのサイトカインを内包し骨組織をミミックしたバイオマテリアルを作成し、がんの生体内での効率の良い移植や増殖・浸潤を制御するモデルを作成する。

4. 研究成果

(1) 転写因子 TTF-1 の TGF- β -Smad シグナルとの拮抗/協調作用の発見：我々は TTF-1 が Smad3 と Smad4 の複合体形成を抑制すること、多くの TGF- β -Smad 標的遺伝子に対して TTF-1 は Smad2/3 の近傍に結合すること、さらに TTF-1 の存在は Smad2/3/4 複合体の DNA に対する結合性を全般的に抑えることを明らかにした。一方で TTF-1 はある種の遺伝子のプロモーター領域では Smad3 とともに (Smad4 は共存しない) DNA

に結合して極めてユニークな様式で転写を調節し、肺腺がん細胞の生存などを制御していることが明らかとなった。TTF-1 は多くの肺腺がん細胞でがん抑制因子として知られているが、ある種の条件ではがん促進作用を発揮する。TTF-1 の有するがん促進作用の一部は Smad3 との協調作用による可能性が本研究で示唆され、TGF- β -Smad による全く新しい転写調節機構として Cell Research 誌に発表した(引用文献)。

さらに肺腺がん で新たに同定した TGF- β と TTF-1 の標的遺伝子として Tuft1 と RBM47 (RNA-binding motif protein 47) の機能解析を行った。Tuft1 は TGF- β によって誘導される因子で、mTOR シグナルを制御する分子であることが明らかとなった。RNA 結合タンパク質 RBM47 は TGF- β によって発現抑制される分子で、KEAP1 や CUL3 の発現を制御することで Nrf2 の活性化を抑制することが明らかとなった。RBM47 は Nrf2 経路を含むシグナル経路を介して、酸素消費量やがん幹細胞の割合、腫瘍増大速度を制御していることが示唆された(引用文献)。

(2) TGF- β で誘導される EMT に対する FGF の効果と RNA の選択的スプライシングの重要性の発見: TGF- β -Smad シグナルは EMT を制御する。がん細胞由来の TGF- β が正常上皮細胞に作用すると EMT が起こり α SMA 陽性の間葉系細胞へと分化する。一方で、がん細胞が TGF- β に加えて FGF-2 を産生すると、正常上皮細胞が α SMA 陰性の活性化された間葉系細胞となることを我々は見出した。活性化された間葉系細胞は運動能・浸潤能の亢進が見られ、さらに MMP など産生することでがん細胞に作用してその浸潤能を亢進させることから、がん細胞と微小環境の正常上皮細胞が相互に作用し合っ てがんの悪性化に寄与することを明らかにした。

TGF- β によって EMT が誘導されるさいには FGF 受容体のアイソフォームのスイッチングが起こる。我々はシングルエクソンレベルでの解析により、TGF- β で誘導される EMT におけるスプライシングの変化を調べ、TGF- β が ESRP を介して、広汎にスプライシングパターンに影響を与えることを見出した。ESRP の発現変化は δ EF1 ファミリーの転写因子 ZEB1 と ZEB2 を介して起こることが明らかとなった。ZEB1 と ZEB2 はマウス乳腺上皮細胞 NMuMG では ESRP2 プロモーターに結合して ESRP2 の発現を低下させた。ヒト乳がん組織では ESRP1 と ESRP2 の発現パターンは ZEB1 と ZEB2 の発現と逆相関していることが確認された。このことから δ EF1 ファミリーのタンパク質は ESRP の発現を低下させ、FGF 受容体をはじめとする多くのタンパク質のスプライシングパターンを変動させることで EMT のプロセスや乳がんの進展

に影響を与えていると考えられた。

さらに我々は α SMA 陰性の活性化された間葉系細胞は Integrin α 3 を発現することから免疫組織染色などで同定することが可能であることを見出した(引用文献 ~)。引用文献 は 2016 年 4 月までに 76 回、引用文献 は 41 回引用されている。

(3) BMP-9 のリンパ管内皮細胞に対するユニークな作用の発見: BMP-9 は ALK-1 という血管内皮細胞やリンパ管内皮細胞に特異的に発現している受容体を介して細胞内へシグナルを伝達する。我々は BMP-9 が 1-5 ng/ml の低濃度で血管内皮細胞の増殖を in vitro と in vivo の両方で促進することを見出し、その作用は ALK-1 を介することを明らかにした。BMP-4 など他の BMP ファミリーの因子はその作用の発現に 30 ng/ml 以上の濃度が必要とされることから、BMP-9 は極めて活性の高い生理活性物質であると言える。興味深いことに、BMP-9 はリンパ管内皮細胞の増殖を in vitro、in vivo の両方において顕著に抑制することが明らかとなった。我々は BMP-9 のリンパ管内皮細胞の増殖抑制には、リンパ管内皮細胞分化のマスター転写因子である Prox1 の発現が ALK-1 シグナルを介して強く抑えられることが重要であることを明らかにした。

ALK-1 は遺伝性出血性毛細血管拡張症(HHT)の原因遺伝子の一つとして知られているが、ALK-1 のリンパ管の機能に関する役割は明らかとなっていなかった。我々は ALK-1 のシグナルがリンパ管の形成を抑制することを見出した。ALK-1 欠損マウスでは種々の臓器でリンパ管が拡大していることが明らかとなった。これらの結果は、BMP-9/ALK-1 シグナルのリンパ管形成における新たな役割を明らかにしたものと考えられる。近年、BMP-9 とその受容体 ALK-1 の拮抗剤を用いた腫瘍血管新生療法の臨床試験が欧米で行われているが、本研究の成果は BMP-9/ALK1 シグナルの制御の臨床応用に関して重要な知見を示したものと考えられる。本研究の成果は PNAS 誌に発表した が、PNAS の Commentary で解説された(引用文献)。

(4) 前立腺がん細胞とストローマ細胞の BMP を介した相互作用: がん細胞と骨における微小環境との関係はがんの骨転移の成立に重要な役割を果たしている。前立腺がんの骨転移では造骨型の骨転移が見られるのが特徴であるが、その分子メカニズムについてはほとんど明らかとなっていない。我々は BMP の前立腺がん細胞と骨ストローマ細胞の相互作用における役割について研究を行った。ヒト前立腺がん LNCaP 細胞では BMP-4 は Smad 依存性に SHH の産生を誘導する。BMP-4 は MC3T3-E1 細胞の骨芽細胞への

分化を誘導する。MC3T3-E1 細胞を BMP-4 と SHH で共刺激するとアルカリホスファターゼや骨シアロタンパクなどの骨芽細胞のマーカーとなるタンパク質の発現がさらに誘導された。MC3T3-E1 細胞と LNCaP 細胞を共培養すると、BMP-4 の MC3T3-E1 細胞に対する作用は LNCaP 細胞由来の SHH によって増強された。さらに LNCaP 細胞の存在下では、BMP-4 は MC3T3-E1 細胞における FGF などの増殖因子の産生を促進し、この結果、LNCaP 細胞の増殖が促進されると考えられた。このように BMP は前立腺がん細胞が生存・増殖し、ストローマ細胞が骨芽細胞に分化するのに適した環境を作ることにも貢献し、これによって前立腺がんの造骨性転移が形成されることが示唆された（引用文献）

(5) 人工バイオマテリアルの創成：体内において、通常、細胞は3次元的な集合体を形成することによって、その生物機能を維持、発揮させている。しかしながら、単なる細胞が集まった細胞集合体では、集合体内部の細胞に対する栄養、酸素の供給が悪く、細胞の生存と機能が損なわれる。この1つの解決法として、細胞接着性と物質拡散性とを併せもつゼラチンハイドロゲル粒子を用いて細胞集合体を形成させることにより、細胞の生存を高め、生物機能を維持するバイオマテリアル技術を完成させた。ゼラチンハイドロゲル粒子を均一に含む細胞集合体内部の骨芽前駆細胞は、単層培養法と比較して、有意にその生物機能と骨芽細胞への分化効率が高いことがわかった。粒子から BMP の徐放化により骨再生はさらに増強された。

一方、BMP-4 による胃がん細胞の増殖をバイオマテリアルを用いることによって in vivo で効率よく抑制することも明らかにした。これらのバイオマテリアル技術の組み合わせは、人工がん微小環境の創製に繋がると期待できた。

<引用文献>

- Isogaya et al. Cell Res. (2014)
 Sakurai et al. Oncogene in press.
 Shirakihara et al. EMBO J (2011)
 Horiguchi et al. Oncogene (2012)
 Shirakihara et al. Cancer Sci (2013)
 Yoshimatsu et al. Proc Natl Acad Sci USA (2013)
 Nishimori et al. J Biol Chem (2012)

5 . 主な発表論文

[雑誌論文] (計 59 件) (研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線、*は責任著者、全て査読あり、IF は 2014 年インパクトファクター)

- 1) Sakurai T, Isogaya K, Sakai S, Morikawa M, Morishita Y, Ehata S, *Miyazono K, Koinuma D. RNA-binding motif protein 47 inhibits Nrf2 activity to suppress tumor growth in lung adenocarcinoma. **Oncogene**. 2016, in press. doi: 10.1038/onc.2016.35. (IF = 8.459)
- 2) Murai F, Koinuma D, Shinozaki-Ushiku A, Fukayama M, *Miyazono K, Ehata S. EZH2 promotes progression of small cell lung cancer by suppressing the TGF- β -Smad-ASCL1 pathway. **Cell Discovery**. 2015, 15026. doi:10.1038/celldisc.2015.26.
- 3) Mizutani A, Koinuma D, Seimiya H, *Miyazono K. The Arkadia-ESRP2 axis suppresses tumor progression: Analyses in clear cell renal cell carcinoma. **Oncogene**. 2016, in press. doi: 10.1038/onc.2015.412.
- 4) *Suzuki HI, Katsura A, Yasuda T, Ueno T, Mano H, Sugimoto K, *Miyazono K. Small RNA asymmetry is directly driven by mammalian Argonautes. **Nat Struct Mol Biol**. 2015; 22 (7): 512-21. (IF = 13.309)
- 5) Suzuki HI, Katsura A, Matsuyama H, *Miyazono K. MicroRNA regulons in tumor microenvironment. **Oncogene**. 2015; 34 (24): 3085-94. doi: 10.1038/onc.2014.254.
- 6) Hoshino Y, Nishida J, Katsuno Y, Koinuma D, Aoki T, Kokudo N, *Miyazono K, Ehata S. Smad4 decreases the population of pancreatic cancer-initiating cells through transcriptional repression of ALDH1A1. **Am J Pathol**. 2015; 185 (5): 1457-70. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.01.011.
- 7) Isogaya K, *Koinuma D, Tsutsumi S, Saito RA, Miyazawa K, Aburatani H, Miyazono K. A Smad3 and TTF-1/NKX2-1 complex regulates Smad4-independent gene expression. **Cell Res**. 2014; 24 (8): 994-1008. doi: 10.1038/cr.2014.97. (IF = 12.413)
- 8) Miyazaki H, Yoshimatsu Y, Akatsu Y, Mishima K, Fukayama M, *Watabe T, Miyazono K. Expression of platelet-derived growth factor receptor β is maintained by Prox1 in lymphatic endothelial cells and is required for tumor lymphangiogenesis. **Cancer Sci**. 2014; 105 (9): 1116-23. doi: 10.1111/cas.12476.
- 9) Arase M, Horiguchi K, Ehata S, Morikawa M, Tsutsumi S, Aburatani H, *Miyazono K, Koinuma D. Transforming growth factor- β -induced lncRNA-Smad7 inhibits apoptosis of mouse breast cancer JygMC(A) cells. **Cancer Sci**. 2014; 105 (8): 974-82. doi: 10.1111/cas.12454.
- 10) *Itoh F, Watabe T, Miyazono K. Roles of TGF- β family signals in the fate determination of pluripotent stem cells. **Semin Cell Dev Biol**. 2014; 32: 98-106. doi: 10.1016/j.semdb.2014.05.017. (IF = 6.265)

- 11) Matsuzaki T, *Matsushita T, Tabata Y, Saito T, Matsumoto T, Nagai K, Kuroda R, Kurosaka M. Intra-articular administration of gelatin hydrogels incorporating rapamycin-micelles reduces the development of experimental osteoarthritis in a murine model. **Biomaterials**. 2014; 35 (37): 9904-11. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.08.041. (IF = 8.557)
- 12) Lam J, Lu S, Meretoja VV, Tabata Y, *Mikos AG, *Kasper FK. Generation of osteochondral tissue constructs with chondrogenically and osteogenically predifferentiated mesenchymal stem cells encapsulated in bilayered hydrogels. **Acta Biomater**. 2014; 10 (3): 1112-23. doi: 10.1016/j.actbio.2013.11.020. (IF = 6.025)
- 13) Ehata S, Yokoyama Y, Takahashi K, *Miyazono K. Bi-directional roles of bone morphogenetic proteins in cancer: another molecular Jekyll and Hyde? **Pathol Int**. 2013; 63 (6): 287-96. doi: 10.1111/pin.12067.
- 14) Yoshimatsu Y, Lee YG, Akatsu Y, Taguchi L, Suzuki HI, Cunha SI, Maruyama K, Suzuki Y, Yamazaki T, Katsura A, Oh SP, Zimmers TA, Lee SJ, Pietras K, Koh GY, *Miyazono K, Watabe T. Bone morphogenetic protein-9 inhibits lymphatic vessel formation via activin receptor-like kinase 1 during development and cancer progression. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2013; 110 (47): 18940-5. doi: 10.1073/pnas.1310479110. (IF = 9.674)
- 15) Shirakihara T, Kawasaki T, Fukagawa A, Semba K, Sakai R, Miyazono K, Miyazawa K, *Saitoh M. Identification of integrin $\alpha 3$ as a molecular marker of cells undergoing epithelial-mesenchymal transition and of cancer cells with aggressive phenotypes. **Cancer Sci**. 2013; 104 (9): 1189-97. doi: 10.1111/cas.12220.
- 16) Yamazaki T, Suehiro J, Miyazaki H, Minami T, Kodama T, Miyazono K, *Watabe T. The COUP-TFII variant lacking a DNA-binding domain inhibits the activation of the Cyp7a1 promoter through physical interaction with COUP-TFII. **Biochem J**. 2013; 452 (2): 345-57. doi: 10.1042/BJ20121200.
- 17) Morikawa M, Koinuma D, *Miyazono K, Heldin CH. Genome-wide mechanisms of Smad binding. **Oncogene**. 2013; 32 (13): 1609-15. doi: 10.1038/onc.2012.191.
- 18) Kawabata KC, Ehata S, Komuro A, Takeuchi K, Miyazono K. TGF- β -induced apoptosis of B-cell lymphoma Ramos cells through reduction of MS4A1/CD20. **Oncogene**. 2013; 32 (16): 2096-106. doi: 10.1038/onc.2012.219.
- 19) *Suzuki HI, Mihira H, Watabe T, Sugimoto K, *Miyazono K. Widespread inference of weighted microRNA-mediated gene regulation in cancer transcriptome analysis. **Nucleic Acids Res**. 2013; 41 (5): e62. doi: 10.1093/nar/gks1439. (IF = 9.112)
- 20) Tajima S, *Tabata Y. Preparation and functional evaluation of cell aggregates incorporating gelatin microspheres with different degradabilities. **J Tissue Eng Regen Med**. 2013; 7 (10): 801-11. doi: 10.1002/term.1469.
- 21) Ishimoto T, *Nakano T, Umakoshi Y, Yamamoto M, Tabata Y. Degree of biological apatite c-axis orientation rather than bone mineral density controls mechanical function in bone regenerated using recombinant bone morphogenetic protein-2. **J Bone Miner Res**. 2013; 28 (5): 1170-9. doi: 10.1002/jbmr.1825. (IF = 6.832)
- 22) Fukui T, *Ii M, Shoji T, Matsumoto T, Mifune Y, Kawakami Y, Akimaru H, Kawamoto A, Kuroda T, Saito T, Tabata Y, Kuroda R, Kurosaka M, Asahara T. Therapeutic effect of local administration of low-dose simvastatin-conjugated gelatin hydrogel for fracture healing. **J Bone Miner Res**. 2012; 27 (5): 1118-31. doi: 10.1002/jbmr.1558.
- 23) Nishimori H, *Ehata S, Suzuki HI, Katsuno Y, *Miyazono K. Prostate cancer cells and bone stromal cells mutually interact with each other through bone morphogenetic protein-mediated signals. **J Biol Chem**. 2012; 287 (24): 20037-46. doi: 10.1074/jbc.M112.353094.
- 24) Ishii R, Isogaya K, Seto A, Koinuma D, Watanabe Y, Arisaka F, Yaguchi S, Ikushima H, Dohmae N, Miyazono K, *Miyazawa K, Ishitani R, *Nureki O. Structure of a dominant-negative helix-loop-helix transcriptional regulator suggests mechanisms of autoinhibition. **EMBO J**. 2012; 31 (11): 2541-52. doi: 10.1038/emboj.2012.77. (IF = 10.434)
- 25) Horiguchi K, Sakamoto K, Koinuma D, Semba K, Inoue A, Inoue S, Fujii H, Yamaguchi A, Miyazawa K, *Miyazono K, *Saitoh M. TGF- β drives epithelial-mesenchymal transition through δ EF1-mediated downregulation of ESRP. **Oncogene**. 2012; 31 (26): 3190-201. doi: 10.1038/onc.2011.493.
- 26) Katsuno Y, Ehata S, Yashiro M, Yanagihara K, Hirakawa K, *Miyazono K. Coordinated expression of REG4 and aldehyde dehydrogenase 1 regulating tumourigenic capacity of diffuse-type gastric carcinoma-initiating cells is inhibited by TGF- β . **J Pathol**. 2012; 228 (3): 391-404. doi: 10.1002/path.4020. (IF = 7.429)
- 27) Morikawa M, Koinuma D, Tsutsumi S, Vasilaki E, Kanki Y, Heldin CH, Aburatani H, *Miyazono K. ChIP-seq reveals cell type-specific binding patterns of BMP-specific Smads and a novel binding motif. **Nucleic Acids Res**. 2011; 39 (20): 8712-27. doi: 10.1093/nar/gkr572.

- 28) Shirai YT, Ehata S, Yashiro M, Yanagihara K, Hirakawa K, *Miyazono K. Bone morphogenetic protein-2 and -4 play tumor suppressive roles in human diffuse-type gastric carcinoma. **Am J Pathol**. 2011; 179 (6): 2920-30. doi: 10.1016/j.ajpath.2011.08.022.
- 29) Suzuki HI, Arase M, Matsuyama H, Choi YL, Ueno T, Mano H, Sugimoto K, *Miyazono K. MCP1P1 ribonuclease antagonizes dicer and terminates microRNA biogenesis through precursor microRNA degradation. **Mol Cell**. 2011; 44 (3): 424-36. doi: 10.1016/j.molcel.2011.09.012. (IF = 14.018)
- 30) Mizutani A, Koinuma D, Tsutsumi S, Kamimura N, Morikawa M, Suzuki HI, Imamura T, *Miyazono K, Aburatani H. Cell type-specific target selection by combinatorial binding of Smad2/3 proteins and hepatocyte nuclear factor 4alpha in HepG2 cells. **J Biol Chem**. 2011; 286 (34): 29848-60. doi: 10.1074/jbc.M110.217745. (J. Biol. Chem. 286 巻34号のPapers of the Weekと表紙に採用)
- 31) Ratanavaraporn J, Furuya H, Kohara H, *Tabata Y. Synergistic effects of the dual release of stromal cell-derived factor-1 and bone morphogenetic protein-2 from hydrogels on bone regeneration. **Biomaterials**. 2011; 32 (11): 2797-811. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.12.052.
- 32) Kohara H, *Tabata Y. Enhancement of ectopic osteoid formation following the dual release of bone morphogenetic protein 2 and Wnt1 inducible signaling pathway protein 1 from gelatin sponges. **Biomaterials**. 2011; 32 (24): 5726-32. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.04.035.
- 33) Ehata S, Johansson E, Katayama R, Koike S, Watanabe A, Hoshino Y, Katsuno Y, Komuro A, Koinuma D, Kano MR, Yashiro M, Hirakawa K, Aburatani H, Fujita N, *Miyazono K. Transforming growth factor- β decreases the cancer-initiating cell population within diffuse-type gastric carcinoma cells. **Oncogene**. 2011; 30 (14): 1693-705. doi: 10.1038/onc.2010.546.
- 34) Shirakihara T, Horiguchi K, Miyazawa K, Ehata S, Shibata T, Morita I, *Miyazono K, *Saitoh M. TGF- β regulates isoform switching of FGF receptors and epithelial-mesenchymal transition. **EMBO J**. 2011; 30 (4): 783-95. doi: 10.1038/emboj.2010.351
- 35) Ikushima H, *Miyazono K. (2010) TGF β signalling: a complex web in cancer progression. **Nat Rev Cancer**. 2010; 10 (6): 415-24. doi: 10.1038/nrc2853. (2016年4月までの被引用数368回) (IF = 37.400)
- 36) *Leeuwenburgh SC1, Jo J, Wang H, Yamamoto M, Jansen JA, Tabata Y. Mineralization, biodegradation, and drug release behavior of gelatin/apatite composite

microspheres for bone regeneration. **Biomacromolecules**. 2010; 11 (10): 2653-9. doi: 10.1021/bm1006344. (IF = 5.750)

[学会発表] (計 49 件、うち 18 件は招待講演)

- 1) Miyazono K. TGF- β signaling in cancer stem cells and EMT. **FASEB Summer Research Conference: TGF- β superfamily: Signaling in Development and Disease**. 2013年7月28日～8月2日 Steamboat Spring (Colorado, U.S.A.)
- 2) Miyazono K. TGF- β , EMT, and TGF- β signaling inhibitors in cancer progression. **Keystone Symposia: epithelial plasticity and epithelial to mesenchymal transition**. 2011年1月21日～26日 Fairmont Waterfront (Vancouver, Canada)

[産業財産権] (計 3 件)

出願状況 (合計 3 件)、取得状況 (合計 0 件)

[その他] (ホームページ)

<http://cancer-microenvironment.jp/>

<http://beta-lab.umin.ac.jp/>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

宮園 浩平 (MIYAZONO, Kohei)
 東京大学・大学院医学系研究科・教授
 研究者番号：9 0 2 0 9 9 0 8

(2) 研究分担者

田畑 泰彦 (TABATA, Yasuhiko)
 京都大学・再生医科学研究所・教授
 研究者番号：5 0 2 1 1 3 7 1
 (平成 23 年度～26 年度)

城 潤一郎 (JO, Jun-ichiro)
 独立行政法人放射線医学総合研究所・分子イメージング研究センター・研究員
 研究者番号：6 0 5 1 1 2 4 3
 (平成 22 年度～23 年度)

(3) 連携研究者

渡部 徹郎 (WATABE, Tetsuro)
 東京医科歯科大学・医歯学総合研究科・教授
 研究者番号：0 0 3 3 4 2 3 5

鯉沼 代造 (KOINUMA, Daizo)
 東京大学・大学院医学系研究科・准教授
 研究者番号：8 0 3 7 5 0 7 1

江幡 正悟 (EHATA, Shogo)
 東京大学・大学院医学系研究科・特任講師
 研究者番号：9 0 5 0 6 7 2 6