

平成 22 年 6 月 28 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2004～2009

課題番号：16060101

研究課題名（和文） がんにおける細胞・組織システムの破綻

研究課題名（英文） Disorganization of cell and tissue systems in cancer

研究代表者

高井 義美 (TAKAI, YOSHIMI)

神戸大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：60093514

研究成果の概要（和文）：がんという疾病により患者が死に至る過程が、遺伝子レベルだけでなく、細胞レベルでも詳細に解析され、「がん」の細胞学的特性は多くの点が明らかにされてきた。本研究領域では、これまで積み重ねられてきたがん細胞の特性に関する膨大な研究成果を最大限に利用し、「がんの発生・悪性化」という現象について、細胞・組織システムの破綻という観点から統合的に解析した。その結果、この破綻にはがん細胞における運動、増殖、接着の異常が重要な役割を果たしていることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：A number of previous studies revealed the properties of cancer cells at the levels of genes and cells, contributing to the elucidation of the mechanisms by which cancer is a life-threatening disease. Based on accumulating lines of evidence concerning cancer cells, it was systematically investigated in this project how “the initiation and progression of cancer” are induced in terms of the disorganization of cell and tissue systems in cancer. It was found that abnormalities of cell movement, proliferation, and adhesion in cancer cells play important roles in this disorganization.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2004年度	3,500,000	0	3,500,000
2005年度	3,400,000	0	3,400,000
2006年度	3,100,000	0	3,100,000
2007年度	3,100,000	0	3,100,000
2008年度	3,800,000	0	3,800,000
2009年度	3,800,000	0	3,800,000
総計	20,700,000	0	20,700,000

研究分野：生化学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医化学

キーワード：がん、細胞運動、細胞増殖、細胞接着、組織

1. 研究開始当初の背景

がんという疾病が患者を死に至らしめる過程が、遺伝子レベルだけでなく、細胞レベルでも詳細に記載され、「がん」の細胞学的

特性が明らかにされてきた。遺伝子レベルでの異常により「がん化」した細胞は、細胞周期の異常、脱分化、細胞死からの脱却等の性質を獲得する。さらに、より悪性度を増すス

チップとして、細胞間の接着が抑制されると同時に運動能が増し、より高い浸潤・転移能を有するようになる。この過程で周囲の間質との相互作用が重要であるし、腫瘍が成長するためには、腫瘍内での血管新生の促進も必要不可欠である。これまでのがん研究では、これらの各ステップが遺伝子レベル・タンパク質レベルで詳細に記載され、また、それによって正常細胞の多くの基本的原理が明らかにされてきた。逆にこのことは、がん研究そのものを大きく発展させる原動力ともなってきた。現代の分子細胞生物学はヒト等の全ゲノム解析の成果によって大きく様変わりしつつあり、DNA チップなどをはじめとする新技術が次々と生み出されている。しかし、これらの研究成果を統合し、がんが個体レベルにおいて細胞・組織システムを破綻させる分子機構の解明についてはまだまだ不十分である。

2. 研究の目的

本研究は、これまで積み重ねられてきたがん細胞の特性に関する膨大な研究成果を最大限に利用して、「がんの発生・悪性化」という現象を、単なる個々のステップの記載ではなく、細胞と組織という統合的システムの破綻として捉えることを目的とするものである。本研究の最大の特色は、ポストゲノムの時代といわれるこの研究の変革期において、これまでに積み上げられてきた細胞や組織レベルでの生命現象の基本原理に関する多くの研究の蓄積の上に新しい学問領域を作り上げようとするところである。急速に進展するがん研究におけるこの領域で、欧米の研究水準をも凌駕するような研究成果を挙げられるよう積極的に取り組んでいく。

3. 研究の方法

次の5項目についての研究を計画し、それぞれの研究内容が進展するように図る。

がん細胞の特性

研究項目A01: がん細胞の増殖・死
(項目長: 秋山)

研究項目A02: がん細胞の分化・極性
(項目長: 大野)

がん組織の特性

研究項目B01: がん細胞の接着・運動
(項目長: 竹縄)

研究項目B02: がん細胞と間質の相互作用
(項目長: 清木)

研究項目B03: がん細胞と血管・リンパ管新生 (項目長: 高倉)

それぞれの研究を円滑かつ積極的に推進するために、重要かつ緊急性のあるテーマと優れた研究者を計画的に支援し(計画研究)、一部公募により自由な発想に基づく研究も推進する(公募研究)。総括班員および研究

項目長による会議を適宜開催し、領域全体の有効な組織運営を図ると共に、「がん克服に向けたがん科学の統合的研究」に属する他の領域との連携を強化する。がん特性研究班員間の情報交換および共同研究促進のため、研究代表者連絡会議を開催する。また、がん特性研究領域の重要な研究テーマを選定し、これについて領域全体のワークショップおよび評価会を開催する。さらに、研究成果のとりまとめや刊行を行う。これらの作業は、総括班員全員と「がん克服に向けたがん科学の統合的研究」に属する他の領域との緊密な連絡を行いつつ進める。本研究のように幅広い研究者・研究分野を包含する総合的研究の場合、その計画遂行のためには、研究を取り巻く時々々の状況に柔軟に対応していく必要がある。そこで、本研究全体の目的達成、共同研究のため、重要な研究テーマや新たに派生してくる萌芽的・独創的研究に対して、必要に応じて研究の支援を行う。一方、本研究の評価については、本研究分野およびその周辺で顕著な業績を持つ研究者5名(田中、成宮、石川、西川、野田)を評価者として迎え、主として研究計画実施の方針に対する助言および各研究項目長と共に研究成果の評価にあたる。

4. 研究成果

(1) 高井義美らは、接着分子ネクチンがインテグリン $\alpha v \beta 3$ と直接結合し、インテグリン $\alpha v \beta 3$ およびその下流の PKC、FAK の活性化がネクチンによる細胞間接着の形成に重要であること、また、ネクチンは細胞極性因子 Par 複合体と協調してアドヘレンスジャンクションおよびタイトジャンクションの形成と極性形成に関与していることを明らかにした。さらに、ネクチン様分子 Nectin-5 がインテグリン $\alpha v \beta 3$ や PDGF 受容体と物理的にも機能的にも相互作用して細胞の運動・増殖を促進する分子機構を明らかにした。

(2) 秋山徹らは、APC によって活性化される低分子量 G タンパク質 Rac の GTP/GDP 交換因子 Asef について、Asef ノックアウトマウスを作製し、変異 APC 断片による腺腫発生と腫瘍血管新生において Asef 活性化が決定的に重要であることを見出した。また、HGF などの増殖因子刺激により、APC/Asef 複合体は PI3-キナーゼ依存的に細胞膜ラフリングの形成を促進し、細胞運動を亢進させた。

(3) 大野茂男らは、Par 複合体の構成分子である aPKC が前立腺がんや乳がんなどにおいて発現が上昇していること、aPKC の乳腺上皮細胞におけるノックアウトマウスの解析から、aPKC が乳腺上皮細胞の組織化に必須であることを見出している。

また、Par-1 はジストログリカン複合体を介して、細胞外基質に作用し、上皮細胞の側基底側部位を規定していた。

- (4) 竹縄忠臣らは、アクチンの重合を促進する N-WASP ががん細胞において、浸潤斑を形成する分子機構を明らかにした。すなわち、PI3-キナーゼによって 3 位がリン酸化されたイノシトールリン脂質により N-WASP が活性化されて、アクチンの重合が生じ、さらに、ダイナミンを介して細胞膜の変形が引き起こされ、細胞突起の形成から浸潤斑形成に至る。
- (5) 清水元治らは、MT1-MMP が低酸素応答を制御する転写因子 HIF-1 の転写活性を正に制御して、解糖系によるエネルギー産生を亢進することをノックアウトマウスを用いて明らかにした。MT1-MMP の細胞内ドメインは、FIH-1 という HIF-1 の転写活性を負に制御する因子を抑制することにより HIF-1 を活性化した。MT1-MMP 依存性に FIH-1 の活性を抑制する仲介分子として、新たに iFIH も同定した。この仕組みは、昔からワールブルグ効果として名高い、癌細胞によるグルコース消費の亢進にも関係しており、この新たな制御系の発見は新しい治療法の開発に役立つ可能性がある。
- (6) 高倉伸幸らは、腫瘍の発生初期より造血幹細胞は腫瘍周囲の壁細胞化していない未熟な血管周囲に集積して、この部位で造血幹細胞は CD11b を弱く発現する骨髓球系前駆細胞に分化し、この細胞分画から血管壁細胞が分化すること未熟な血管の成熟化を誘導すること、すなわち、腫瘍血管の成熟化の機序に造血幹細胞が関わることを明らかにした。そこで、腫瘍周囲への造血幹細胞の集積を c-Kit 中和抗体で抑制すると、腫瘍周囲の血管の成熟化が抑制され、腫瘍の増大が抑制された。

これらの研究成果については、国際的に見てもいずれも高い評価を受けた。平成 19 年 6 月には総括班員および研究協力者の評価委員による評価会を開催した。このような厳しい外部評価および内部評価が国際的にも高く評価される研究成果を多く生み出すことにつながった。ところで、本研究成果をより素早く臨床展開できるように、各項目長のもとトランスレーショナルリサーチにつながる研究を積極的に推進させた。また、次世代を支える優れた若手がん研究者の育成・支援を積極的に行ってきた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

1. Nagahama Y, Ueno M, Miyamoto S, Morii E, Minami T, Mochizuki N, Saya H, Takakura N. PSF1, a DNA replication factor expressed widely in stem and progenitor cells, drives tumorigenic and metastatic properties. *Cancer Res.* 2010; 70(3): 1215-1224. 査読有
2. Miyata M, Rikitake Y, Takahashi M, Nagamatsu Y, Yamauchi Y, Ogita H, Hirata K, Takai Y. Regulation by afadin of cyclical activation and inactivation of Rap1, Rac1, and RhoA small G proteins at leading edges of moving NIH3T3 cells. *J Biol Chem.* 2009; 284(36): 24595-24609. 査読有
3. Kawasaki Y, Tsuji S, Muroya K, Furukawa S, Shibata Y, Okuno M, Ohwada S, Akiyama T. The adenomatous polyposis coli-associated exchange factors Asef and Asef2 are required for adenoma formation in Apc^{Min/+} mice. *EMBO Rep.* 2009;10(12): 1355-1362. 査読有
4. Ishiguro H, Akimoto K, Nagashima Y, Kojima Y, Sasaki T, Ishiguro-Imagawa Y, Nakaigawa N, Ohno S, Kubota Y, Uemura H. aPKC λ/ι promotes growth of prostate cancer cells in an autocrine manner through transcriptional activation of interleukin-6. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009; 106(38): 16369-16374. 査読有
5. Itoh T, Hasegawa J, Tsujita K, Kanaho Y, Takenawa T. The tyrosine kinase Fer is a downstream target of the PLD-PA pathway that regulates cell migration. *Sci Signal.* 2009; 2(87): ra52. 査読有
6. Hirose T, Satoh D, Kurihara H, Kusaka C, Hirose H, Akimoto K, Matsusaka T, Ichikawa I, Noda T, Ohno S. An essential role of the universal polarity protein, aPKC λ , on the maintenance of podocyte slit diaphragms. *PLoS One.* 2009; 4(1): e4194. 査読有
7. Hoshino D, Tomari T, Nagano M, Koshikawa N, Seiki M. A novel protein associated with membrane-type 1 matrix metalloproteinase binds p27^{kip1} and regulates RhoA activation, actin remodeling, and Matrigel invasion. *J Biol Chem.* 2009; 284(40): 27315-27326. 査読有
8. Ueno M, Itoh M, Sugihara K, Asano M, Takakura N. Both alleles of PSF1 are required for maintenance of pool size of immature hematopoietic cells and

- acute bone marrow regeneration. *Blood* 2009; 113(3): 555-562. 査読有
9. Takai Y, Miyoshi J, Ikeda W, Ogita H. Nectins and nectin-like molecules: roles in contact inhibition of cell movement and proliferation. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008; 9(8): 603-615. 査読有
 10. Nakamura T, Hayashi T, Nasu- Nishimura Y, Sakaue F, Morishita Y, Okabe T, Ohwada S, Matsuura K, Akiyama T. PX-RICS mediates ER-to-Golgi transport of the N-cadherin/ β -catenin complex. *Genes Dev*. 2008; 22(9): 1244-1256. 査読有
 11. Oikawa T, Itoh T, Takenawa T. Sequential signals toward podosome formation in NIH-src cells. *J Cell Biol*. 2008; 182(1): 157-169. 査読有
 12. Itoh Y, Ito N, Nagase H, Seiki M. The second dimer interface of MT1-MMP, the transmembrane domain, is essential for ProMMP-2 activation on the cell surface. *J Biol Chem*. 2008; 283(19): 13053-13062. 査読有

[学会発表] (計5件)

1. Takenawa T. Phospholipid-binding proteins that induce membrane deformation. Second International Conference on F-Bar proteins. 2009年10月3日 Stockholm, Sweden
2. 高倉伸幸 Endogenous negative feedback regulation of angiogenesis by micro-RNA. 第68回日本癌学会学術総会 2009年10月2日 パシフィコ横浜 (神奈川県)
3. 大野茂男 細胞シグナリングと疾患モデルのプロテオミクス 日本ヒトプロテオーム機構第7回大会 2009年7月27日 北里大学薬学部 (東京都)
4. 秋山徹 癌抑制遺伝子APCの機能 第67回日本癌学会学術総会 2008年10月28日 名古屋
5. Takai Y. Roles of nectin and nectin-like molecule in contact inhibition of cell movement. 6th Abercrombie Meeting on Cell Migration: from molecules to organisms. 2007年9月9日 Oxford, UK.

[図書] (計1件)

1. Togashi H, Ogita H, Takai Y. Springer. The Sticky Synapse: Cell Adhesion Molecules and Their Role in Synapse Formation and Maintenance. 2009; 185-206.

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計1件)

名称: アポトーシス誘導遺伝子およびその利用

発明者: 秋山徹、廣子貴俊

権利者: 大正製薬株式会社、秋山徹

種類: 特許

番号: 第4429269号

取得年月日: 2004年2月10日

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.kobe-u.ac.jp/mcb/index.html>

<http://www-user.yokohama-cu.ac.jp/~ohno/s/Japanese/indexJ.html>

<http://www.med.kobe-u.ac.jp/lipid/>

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/cancercell/index.html>

<http://st.biken.osaka-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高井 義美 (TAKAI, YOSHIMI)

神戸大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号: 60093514

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

秋山 徹 (AKIYAMA, TETSU)

東京大学・分子細胞生物学研究所・教授

研究者番号: 70150745

大野 茂男 (OHNO, SHIGEO)

横浜市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号: 10142027

月田 承一郎 (TSUKITA, SHOICHIRO)

京都大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号: 50155347

竹縄 忠臣 (TAKENAWA, TADAOMI)

神戸大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号: 40101315

清木 元治 (SEIKI, MOTOHARU)

東京大学・医科学研究所・教授

研究者番号: 10154634

高倉 伸幸 (TAKAKURA, NOBUYUKI)

大阪大学・微生物病研究所・教授

研究者番号: 80291954