

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K08614

研究課題名(和文) 進行癌におけるArf6経路を介した免疫チェックポイントPD-L1の制御機構の解明

研究課題名(英文) Regulatory mechanisms of immune checkpoint PD-L1 via the Arf6 pathway in progressive cancer

研究代表者

橋本 あり (Hashimoto, Ari)

北海道大学・医学研究院・助教

研究者番号：60390803

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究において、膵癌のドライバー遺伝子KRAS変異とTP53変異が協調してArf6-AMAP1経路を高発現させ活性化することにより浸潤・転移等の悪性度進展に関与すること、さらに当該経路が免疫回避に関与し、その機序の一つとして当該経路が免疫チェックポイント分子PD-L1の細胞膜表面へのリサイクリングの亢進に関与する新規作用機序を見出した。また、エピジェネティック因子EZH2がArf6及びPD-L1の発現制御に関与することを見出し、その制御候補分子の同定を行った。引き続き、Arf6経路阻害により、抗PD-1抗体を用いた免疫チェックポイント阻害療法に対する抵抗性を改善出来ることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、膵癌のドライバー変異がArf6-AMAP1経路を高発現活性化することにより、膵癌の悪性度進展を促進し、悪性予後因子となる重要な知見を得た。さらに、エピジェネティック因子EZH2はArf6経路因子及びPD-L1の遺伝子発現に関わること、Arf6-AMAP1経路はPD-L1の細胞内動態制御にも関わり、免疫回避を駆動していることを見出した。実際、Arf6-AMAP1経路阻害は免疫チェックポイント阻害療法に対する抵抗性を改善し、奏功性を相乗的に高めることを実証した。本研究成果により、Arf6-AMAP1の高発現は膵癌の適用バイオマーカーとして有効であり、新規治療戦略の創出が期待出来る。

研究成果の概要(英文)：We previously showed that the small GTPase Arf6 and its downstream effector AMAP1 constitute the core signaling machinery that drives cancer malignancy and therapeutic resistance in breast and renal cancers. In this project, we showed that mutations in KRAS/TP53, the major driver oncogenes of pancreatic cancer, cooperatively cause the overexpression of Arf6 and AMAP1 proteins and activation of the Arf6-AMAP1 pathway to promote PDAC invasion, metastasis, fibrosis, and immune evasion. Mechanistically, the Arf6-AMAP1 pathway promoted recycling of the immune checkpoint molecule PD-L1 to the cell membrane surface. We also found that the epigenetic factor EZH2 is involved in the regulation of Arf6 and PD-L1 expression, and identified candidate molecules for its regulation. Moreover, we demonstrated that inhibition of the Arf6-AMAP1 pathway in cancer cells results in therapeutic synergy with an anti-PD-1 antibody, and is hence a novel method for improving the efficacy of anti-PD-1 therapies.

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：Arf6 PD-L1 免疫チェックポイント 免疫回避 癌免疫

1. 研究開始当初の背景

癌の最大の脅威は転移性及び治療抵抗性にある。癌悪性化に伴う治療抵抗性の誘導はゲノム変異とエピゲノムの変化と共に腫瘍組織内の微小環境の多様な変化に起因する。個体発生や創傷治癒の過程で見られる上皮-間充織形質転換 (Epithelial-mesenchymal transition; EMT) に類似した現象により誘導される間充織形質が、癌細胞の転移性、癌幹細胞性、放射線療法や抗癌剤療法に対する抵抗性の誘導に関連することが明らかになっている(1)。腫瘍組織内の微小環境においては、低酸素環境等の変化に加え、さまざまな免疫システム及び代謝プログラムにより、免疫エフェクター細胞の機能が抑制されていることが知られている。免疫チェックポイント分子 PD-1/PD-L1 は免疫細胞の抑制シグナルとして機能し、阻害抗体を用いた免疫治療法が癌治療に新たなパラダイムシフトを起こしている。

免疫チェックポイント阻害による治療法は、悪性リンパ腫や、肺がん、悪性黒色腫など様々な癌種において顕著な治療効果を示し、特に、転移を伴った末期の患者においてもしばしば高い奏功性を示すことが明らかとなっている(2)。さらに、癌に対する免疫監視機構が癌の悪性度進展に伴って抑制されており、治療戦略としてその抑制機構を解除することにより、従来の治療法では困難であった末期のがん患者を救うことができる可能性が強く示唆された。しかしながら、免疫チェックポイント阻害による治療法は、約 70%で治療抵抗性を示すことが明らかとなっている。最近の解析により、そのような癌細胞の特徴の1つに、間充織形質を獲得していることが指摘されている(3)。さらに、乳癌細胞において EMT 誘導に伴い、MHC クラス I と細胞障害性 T 細胞 (CD8 陽性 T 細胞, CTL) 受容体との細胞膜表面上での免疫シナプス形成能及び CTL の細胞傷害活性が減弱する現象が報告されている(4)。しかしながら、癌細胞の間充織形質獲得と CTL の機能障害に関する分子機序や治療抵抗性の分子機序は不明である。

申請者は、これまでに、低分子量 G 蛋白質 Arf6 を基軸としたシグナル経路 (Arf6 経路) が乳癌、非小細胞肺癌、頭頸部癌の浸潤・転移性に根幹的役割を果たしていることを明らかにしてきた(5-9)。最近、乳癌や腎癌において、Arf6 経路が EMT に伴い誘導される間充織特異的分子 EPB41L5 を必須因子として含み、Arf6 のエフェクター分子 AMAP1 と複合体を形成すること、EPB41L5 の発現抑制により浸潤・転移性や薬剤抵抗性が顕著に抑制されることを見出した(10,11)。さらに、乳癌において癌幹細胞誘導に関わる EMT 制御転写因子 ZEB1 が EPB41L5 の遺伝子発現に関与することを見出した(12)。従って、Arf6 経路が進行癌特異的な間充織形質を担うシグナル経路であることが強く示唆された。また、機能獲得型変異 p53 による細胞内メバロン酸代謝経路の亢進が Arf6 経路の活性化、メバロン酸経路阻害剤であるスタチンが Arf6 経路による乳癌の浸潤・転移及び薬剤抵抗性を減弱出来ることを明らかにした(11)。

最近、転移性及び薬剤抵抗性の高い種々の癌種において Arf6 経路を構成する分子群の発現亢進と PD-L1 の発現亢進が相関していること、幹細胞性制御に関わるエピジェネティック因子 EZH2 が関与する知見を得た。EZH2 は、乳癌において TGF β による EMT 誘導を介した間充織形質の維持に関与することが報告されている(13)。一方、Arf6 は形質膜及びリサイクリングエンドソームに局在し、MHC クラス I や接着分子インテグリンなどの細胞表面レセプター分子のリサイクリングを担う因子である(14)。故に、EZH2 は間充織形質を有する癌細胞において、PD-L1 と Arf6 経路構成因子の発現誘導に関わり、Arf6 が PD-L1 の細胞内動態を制御することにより、免疫回避を誘導している可能性が推察され、検証を進めた。

2. 研究の目的

本研究は、Arf6-AMAP1 経路が間充織形質獲得に関わる膵癌を研究対象とし、膵癌における Arf6-AMAP1 経路の機能、悪性膵癌において Arf6-AMAP1 経路を高発現する分子機序、エピジェネティック因子 EZH2 による PD-L1 及び Arf6 経路因子の遺伝子発現機序、Arf6-AMAP1 経路による PD-L1 の細胞内動態制御機構、さらに Arf6 経路阻害による免疫チェックポイント阻害療法の改善効果を検討することにより、進行癌の免疫チェックポイント分子の作動機序の解明、免疫チェックポイント分子治療抵抗性の理解、並びに癌治療向上に繋がる基礎的知見を提示することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 膵癌における Arf6 経路の機能及び高発現する分子機序の解析

ヒト膵癌細胞株及び膵癌モデルマウス由来の細胞を用いて、Arf6-AMAP1 経路因子の発現及び浸潤転移性の解析、ヒト膵癌組織を用いた組織染色により予後との関連について解析を行った。また、ヒト膵癌細胞株 MIAPaCa-2 を用いたショ糖密度勾配遠心法による分画法、in vitro translation による translation に関する評価、TCGA 及び RNA-seq 解析による Arf6 の発現に関わる転写因子の同定を行った。

(2) EZH2 による PD-L1 及び Arf6 経路因子の遺伝子発現機序の解析

遺伝子発現の負の制御に関わるヒストンメチル化酵素 EZH2 の発現をレンチウイルスベクターを用いた shRNA を発現させることにより抑制した細胞株を樹立し、RNA-Seq による網羅的解析を行い、変動の見られた候補転写因子のリストアップを行った。候補分子について、遺伝子プロモーター上(転写開始点から約 5kbp 上流)に結合配列を有するか否か、解析ソフト JASPAR 及び MEME を用いて査定を行い、続いて、EZH2 抑制で 2 倍以上の発現減少を示し、TCGA database 解析により遺伝子発現と正の相関が見られるものを活性化候補、その逆パターンを示すものを抑制候補として絞り込みを行った。

(3) Arf6 経路による PD-L1 の細胞内動態制御の解析

Arf6 経路が PD-L1 の細胞内へのインターナリゼーション、あるいは細胞膜へのリサイクリングプロセスに関与しているか解析を行った。具体的には、PD-L1 の細胞外領域を認識する抗体を用い、冷温にて PD-L1 と結合させた後、37°C で培養することにより PD-L1 を細胞内にインターナリゼーションさせ、固定する。蛍光色素が付加した 2 次抗体と反応後、イメージングシステム機器 ODESSEY にて細胞内の取り込みを評価する。リサイクリングに関しては、インターナリゼーションを冷却により停止させた後、細胞表面に残存している PD-L1 に結合した抗体を酸性溶液にて解離し、細胞内の PD-L1 を 37°C で培養することにより細胞膜にリサイクリングさせ、上記と同様の方法により、細胞表面の蛍光色素の割合を評価する。さらに、PD-L1 の細胞内動態に Rab が関与しているか siRNA を導入して解析を行った。

(4) Arf6 経路阻害による免疫チェックポイント阻害療法効果の検討

ヒト膵癌に対する代表的モデルマウス (*Pdx-Cre*, *LSL-KrasG12D/+*, *LSL-p53R172H/+*) から樹立した KPC 細胞を、同系野生型マウスに移植する実験系を用いた。Arf6-AMAP1 経路阻害法としてまず *shAMAP1* を用い、KPC 細胞における本経路阻害が PD-1 抗体に対して相乗効果を発揮するか否かを検討した。続いて、Arf6 の発現を抑制する eIF4A 阻害剤 Silvestrol を用いて、同様な相乗効果が見られるか検討した。

4. 研究成果

ヒト膵癌細胞株及び膵癌モデルマウス由来の細胞において Arf6-AMAP1 経路因子が高発現し、浸潤転移性等、膵癌の悪性度に関与していることを見出した。病理標本解析からも、Arf6-AMAP1 経路因子群の発現が高くなることにより膵癌悪性予後因子となることを見出している。Arf6-AMAP1 経路因子と膵癌の悪性度に関する分子メカニズムを解析した結果、膵癌のドライバー遺伝子 *KRAS* 変異と *TP53* 変異が協調して Arf6-AMAP1 経路の発現を高くさせ活性化することを新たに見出した。即ち、膵癌細胞株 MIAPaCa-2 を用いたショ糖密度勾配遠心法による分画により、*KRAS* 変異は Arf6 及び AMAP1 の翻訳制御に関与していることを見出した。その制御機構を解析するために、Arf6 及び AMAP1 の 5'-非翻訳領域 (5'-UTR) を調べると、Arf6 の 5'-UTR には eIF4A 依存的ながん遺伝子の翻訳に関与していることが知られている G-quadruplex 構造が存在すること、一方、AMAP1 の 5'-UTR には、mTORC1 依存的な翻訳に関わる mRNA に共通する配列 5'TOP モチーフが存在することが分かった。そこで、eIF4A 阻害剤 Silvestrol 処理を行うと、Arf6 蛋白質発現が減少すること、その抑制効果は *KRAS* 変異を有する膵癌細胞で顕著であることを見出した。一方、mTORC1 複合体のサブユニット Raptor の発現抑制、mTOR 阻害剤 Rapamycin 及び Torin1 処理を行うと、AMAP1 蛋白質の発現が減少した。これらのことから、*KRAS* 変異は翻訳開始因子 eIF4A 依存的に Arf6 の発現を促進すること、また、mTORC1 の下流では 4EBP のリン酸化を介し翻訳開始因子 eIF4E が機能していることから、eIF4E 依存的に AMAP1 の発現を促進することが明らかとなった。一方、*TP53* 変異は膵癌においてもメバロン酸代謝経路を介

して Arf6 経路を活性化することを見出している。

次に、遺伝子発現の負の制御に関わるヒストンメチル化酵素 EZH2 による PD-L1 遺伝子発現制御の分子機序について解析を進めた。EZH2 の発現をレンチウイルスベクターを用いた shRNA を発現させることにより抑制した細胞株を樹立し、RNA-Seq による網羅的解析を行い、変動の見られた候補転写因子をリストアップした。また、候補分子について、PD-L1 遺伝子プロモーター上 (転写開始点から約 5kbp 上流) に結合配列を有するか否かに関して、解析ソフト JASPAR 及び MEME を用いて査定を行い、EZH2 抑制で 2 倍以上の発現減少を示し、TCGA database 解析により PD-L1 との発現と正の相関が見られるものを活性化候補、その逆パターンを示すものを抑制候補として絞り込みを行った。引き続き、PD-L1 の遺伝子発現に与える影響を生化学的に解析し、抑制因子の候補を同定した。Arf6 に関しても同様の方法により解析を進め、候補分子の絞り込みを進めている。膀胱癌ドライバー遺伝子との関連等の詳細な分子機序は今後の課題である。

引き続き、膀胱癌モデルマウス (*Pdx-Cre, LSL-KrasG12D/+*, *LSL-p53R172H/+*) 由来の KPC 細胞を用いた動物実験において、Arf6-AMAP1 経路が膀胱癌の免疫回避に重要であることを示す結果を得た。そこで、免疫回避に関わる免疫チェックポイント分子 PD-L1 の細胞内動態と Arf6-AMAP1 経路との関連について解析を行った。膀胱癌細胞株 MIAPaCa-2 を用い IFN γ 刺激を行うと、PD-L1 の発現が誘導されるが、Arf6 シグナル因子の発現を抑制しても、IFN γ 刺激依存的な PD-L1 の発現量に大きな変化は見られなかった。一方、PD-L1 の局在を調べると、Arf6 及び AMAP1 の発現抑制において、細胞表面の PD-L1 が減少しているのが観察された (図 1)。次に、PD-L1 のインターナリゼーション/リサイクリングについて解析を行った。PD-L1 の細胞外領域を認識する抗体を用い、冷温にて PD-L1 と結合させた後、37°C で培養することにより PD-L1 を細胞内にインターナリゼーションさせ、固定し、蛍光色素が付加した 2 次抗体と反応後、イメージングシステム機器 ODESSEY にて細胞内の取り込みを評価した。その結果、インターナリゼーションに関して有意な差は見られなかった。続いて、PD-L1 のリサイクリングについて解析を行った。インターナリゼーションした PD-L1 を冷却により停止させた後、細胞表面に残存している PD-L1 に結合した抗体を酸性溶液にて解離し、細胞内の PD-L1 を 37°C で培養することにより細胞膜にリサイクリングさせ、上記と同様の方法により、細胞表面の蛍光色素の割合を評価した。その結果、Arf6, AMAP1 の発現を抑制すると、PDGF 刺激依存的な PD-L1 のリサイクルが阻害されることが分かった (図 2)。さらに、PD-L1 の細胞内動態の分子機序を解析する目的で Rab の関与について解析を行った。その結果、PD-L1 のリサイクリングに関わる複数種の Rab を見出し、その分子機序について解析を進めている。

図 1. Arf6-AMAP1 経路は PD-L1 ダイナミクスに重要 (2019 PNAS より引用、改変)

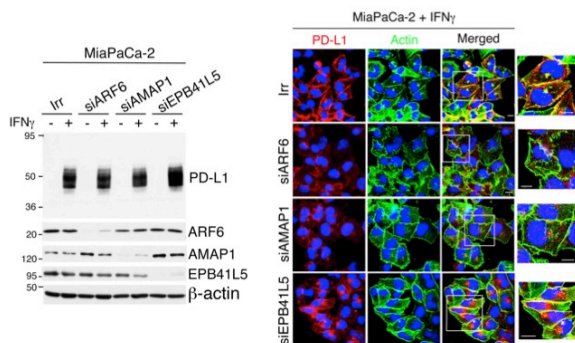
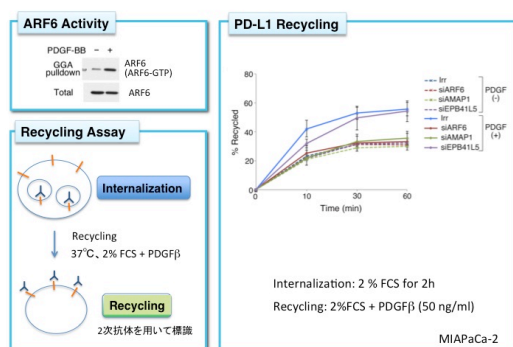


図 2. Arf6-AMAP1 経路は PD-L1 リサイクリングに重要 (2019 PNAS より引用、改変)



Arf6-AMAP1 経路阻害により、免疫チェックポイント阻害療法に対する抵抗性を改善出来るかについて膀胱癌モデルマウスを用いて検討を行った。膀胱癌モデルマウス由来 KPC 細胞を用い、Arf6-AMAP1 経路阻害として、まず *shAMAP1* 細胞をシンジェニックマウスの皮下に移植し、抗 PD-1 抗体を投与した際の腫瘍抑制効果に与える影響を検討した。その結果、AMAP1 発現阻害と抗 PD-1 抗体との併用によって腫瘍増殖に対する著しい抑制効果を示すことが観察された (図 3)。さらに、Arf6 の発現抑制効果を見出した eIF4A 阻害剤 Silvestrol と抗 PD-1 抗体の併用によっても、同様の相乗的な抗腫瘍効果が観察された (図 4)。

図3. AMAP1発現阻害と抗PD-1抗体の併用は著しい抗腫瘍効果を示す
(2021 Cell Commun Signalより引用、改変)

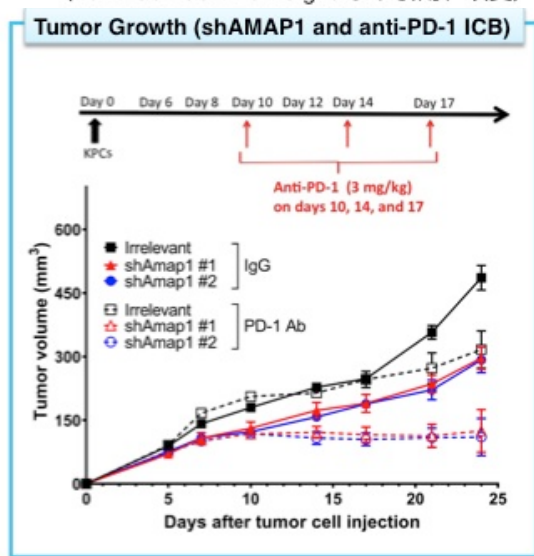
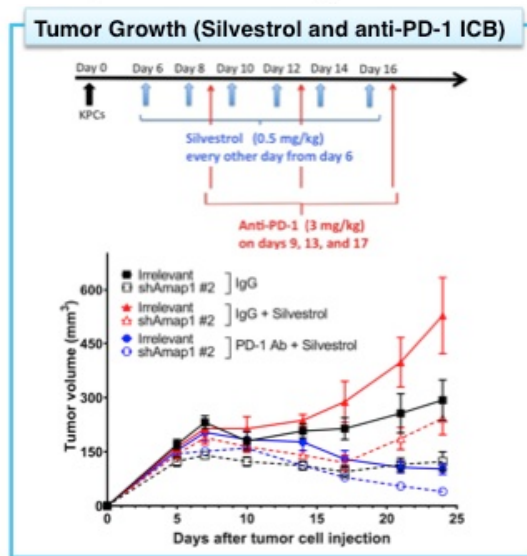


図4. eIF4A阻害剤Silvestrolと抗PD-1抗体の併用は相乗的な抗腫瘍効果を示す
(2021 Cell Commun Signalより引用、改変)



本研究により、膀胱癌のドライバー変異 *KRAS* 変異と *TP53* 変異が Arf6-AMAP1 経路を高発現活性化することにより、浸潤転移等の膀胱癌の悪性度進展を促進すること、エピジェネティック因子 EZH2 は PD-L1 及び Arf6 経路因子の遺伝子発現制御に関わり間充織形質の獲得に関与している可能性を見出した。さらに、Arf6-AMAP1 経路は PDGF 刺激に依存した PD-L1 の細胞膜表面へのリサイクリングの亢進に関わり、免疫回避を駆動していることが明らかとなった。また、Arf6-AMAP1 経路阻害との併用により抗 PD-1 抗体による免疫チェックポイント阻害療法の奏功性を相乗的に高めることを実証し、その際、Arf6-AMAP1 の高発現が適用バイオマーカーとして有効である可能性を示した。

<引用文献>

1. Ye, X. & Weinberg RA. Epithelial-Mesenchymal Plasticity: A central regulator of cancer progression. *Trends Cell Biol* 25:675-686, 2015.
2. Zou, W., Wolchok, JD., & Chen, L. PD-L1 (B7-H1) and PD-1 Pathway Blockade for Cancer Therapy: Mechanisms, Response Biomarkers and Combinations. *Sci Transl Med* 8:328rv4, 2016.
3. Hugo, W., et al. Genomic and Transcriptomic Features of Response to Anti-PD-1 Therapy in Metastatic Melanoma. *Cell* 165:35-44, 2016.
4. Akalay, I., et al. Epithelial-Mesenchymal Transition and Autophagy Induction in Breast Carcinoma Promote Escape from T-cell-Mediated Lysis. *Cancer Res* 73, 2418-2427, 2013.
5. Hashimoto, S., et al. Requirement for Arf6 in Breast Cancer Invasive Activities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101:6647-6652, 2004.
6. Onodera, Y., et al. Expression of AMAP1 Provides Novel Targets to Inhibit Breast Cancer Invasive Activities. *EMBO J.* 24:963-97, 2005.
7. Morishige, M., et al. GEP100 links EGFR signaling to Arf6 activation to induce breast cancer invasion. *Nat Cell Biol.* 10:85-92, 2008.
8. Menju, T., et al. Engagement of overexpressed Her2 with GEP100 induces autonomous invasive activities and provides a biomarker for metastases of lung adenocarcinoma. *PLoS One* 6:e25301, 2011.
9. Sato, H., et al. High Level Expression of AMAP1 Protein Correlates with Poor Prognosis and Survival after Surgery of HNSCC Patients. *Cell Commun. Signal.* 12:17, 2014.
10. Hashimoto, S., et al. Lysophosphatidic Acid Activates Arf6 to Promote The Mesenchymal Malignancy of Renal Cancer. *Nat. Commun.* 7:10656, 2016.
11. Hashimoto, A., et al. P53- and Mevalonate Pathway-driven Malignancies Require Arf6 for Metastasis and Drug Resistance. *J. Cell Biol.* 213:81-95, 2016.
12. Hashimoto, A., et al. ZEB1 Induces EPB41L5 in The Cancer Mesenchymal Program That Drives ARF6-based Invasion, Metastasis and Drug Resistance. *Oncogenesis* 5:e259, 2016.
13. Tiwari et al. Sox4 Is a Master Regulator of Epithelial-Mesenchymal Transition by Controlling Ezh2 Expression and Epigenetic Reprogramming. *Cancer Cell* 23:768-783, 2013.
14. Grant, BD., & Donaldson, JG. Pathways and Mechanisms of Endocytic Recycling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 10:597-608, 2009.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Hashimoto, A., Handa, H., Hata, S., Tsutaho, A., Yoshida, T., Hirano, S., Hashimoto, S., and Sabe, H.	4. 巻 19
2. 論文標題 Inhibition of mutant KRAS-driven overexpression of ARF6 and MYC by an eIF4A inhibitor drug improves the effects of anti-PD-1 immunotherapy for pancreatic cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Communication and Signaling	6. 最初と最後の頁 54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12964-021-00733-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Parajuli, G., Tekguc, M., Wing J. B., Hashimoto, A., Okuzaki, D., Hirata, T., Sasaki, A., Itokazu, T., Handa, H., Sugino, H., Nishikawa, Y., Metwally, H., Kodama, Y., Tanaka, S., Sabe, H., Yamashita, T., Sakaguchi, S., Kishimoto, T., and Hashimoto, S.	4. 巻 9
2. 論文標題 Arid5a Promotes Immune Evasion by Augmenting Tryptophan Metabolism and Chemokine Expression	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Immunology Research	6. 最初と最後の頁 862 ~ 876
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/2326-6066.CIR-21-0014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Tsutaho, A., Hashimoto, A., Hashimoto, S., Hata, S., Kachi, S., Hirano, S., and Sabe, H.	4. 巻 18(1)
2. 論文標題 High expression of AMAP1, an ARF6 effector, is associated with elevated levels of PD-L1 and fibrosis of pancreatic cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Communication and Signaling	6. 最初と最後の頁 101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12964-020-00608-8.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hashimoto, S*, Furukawa, S*, Hashimoto, A*, Tsutaho, A., Fukao, A., Sakamura, Y., Parajuli, G., Onodera, Y., Otsuka, Y., Handa, H., Oikawa, T., Hata, S., Nishikawa Y., Mizukami, Y., Kodama, Y., Murakami M., Fujiwara, T., Hirano, S., and Sabe, H. (*Equally contributed)	4. 巻 116
2. 論文標題 ARF6 and AMAP1 are major targets of KRAS and TP53 mutations to promote invasion, PD-L1 dynamics and immune evasion of pancreatic cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of the Sciences of the United States of America	6. 最初と最後の頁 17450-17459
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1901765116	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mazaki, Y., Higashi, T., Onodera, Y., Nam, J.-M., Hashimoto, A., Hashimoto, S., Horinouchi, T., and Miwa, S.	4. 巻 593
2. 論文標題 Endothelin type B receptor interacts with the 78-kDa glucose-regulated protein	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 644 ~ 651
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.13347	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Handa, H*., Hashimoto, A*., Hashimoto S., Sugino, S., Oikawa, T., and Sabe, H. (*Equally contributed)	4. 巻 16(1)
2. 論文標題 Epithelial-specific histone modification of the miR-96/182 locus targeting AMAP1 mRNA predisposes p53 to suppress cell invasion in epithelial cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Communication and Signaling	6. 最初と最後の頁 94
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12964-018-0302-6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Otsuka, Y., Oikawa, T., Yoshino, H., Hashimoto, S., Handa, H., Yamamoto, H., Hashimoto, A., and Sabe, H.	4. 巻 16
2. 論文標題 Frequent overexpression of AMAP1, an Arf6 effector in cell invasion, is character of the MMTV-PyMT rather than the MMTV-Neu human breast cancer model	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Communication and Signaling	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12964-017-0212-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Handa, H., Hashimoto, A., Hashimoto, S., and Sabe, H.	4. 巻 9
2. 論文標題 Arf6 and its ZEB1-EPB41L5 mesenchymal axis are required for both mesenchymal- and amoeboid-type invasion of cancer cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Small GTPases	6. 最初と最後の頁 420 ~ 426
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/21541248.2016.1249043	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Daimon, T., Kosaka, T., Kikuchi, E., Mikami, S., Miyazaki, Y., Hashimoto A, Hashimoto, S., Mizuno, R., Miyajima A, Okada, Y., Sabe, H., and Oya, M.	4. 巻 547
2. 論文標題 Prognostic significance of erythrocyte protein band 4.1-like5 expression in upper urinary tract urothelial carcinoma	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Urologic Oncology	6. 最初と最後の頁 543.e17-543.e24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.urolonc.2017.04.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件(うち招待講演 0件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Ari Hashimoto, Haruka Handa, Soichiro Hata, Akio Tsutaho, Takao Yoshida, Satoshi Hirano, Shigeru Hashimoto, and Hisataka Sabe.
2. 発表標題 Blocking the ARF6-AMAP1 pathway cooperatively improves anti-PD-1 immunotherapy for pancreatic cancer
3. 学会等名 第94回日本生化学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shigeru Hashimoto, Ari Hashimoto, Shotaro Furukawa, Akio Tsutaho, Yasuhito Onnoder, Yutaro Otsuka, Haruka Handa, Tsukasa Oikawa, Soichiro Hata, Akira Fukao, Yusuke Mizukami, Masaaki Murakami, Toshinobu Fujiwara, Satoshi Hirano, and Hisataka Sabe.
2. 発表標題 Pancreatic KRAS/TP53 mutations promote ARF6-based immune evasion via activating mRNA translation and protein prenylation
3. 学会等名 第7回北大部局横断シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 橋本あり、橋本茂、古川聖太郎、蔦保暁生、半田 悠、畑宗一郎、小野寺康仁、及川司、水上裕輔、平野聡、佐邊壽孝
2. 発表標題 膵癌におけるARF6-AMAP1経路亢進は浸潤転移制及び免疫抑制的微小環境の誘導に關与する
3. 学会等名 第100回北海道医学大会腫瘍系分科会・第122回北海道癌談話会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名	Ari Hashimoto, Akio Tsutaho, Shigeru Hashimoto, Soichiro Hata, Shion Kachi, Satoshi Hirano, and Hisataka Sabe
2. 発表標題	High expression of AMAP1, an ARF6 effector, relates to elevated levels of PD-L1 and fibrosis of pancreatic cancer
3. 学会等名	第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	Hashimoto A., Hashimoto S., Furukawa S., Tsutaho A., Fukao A., Onodera Y., Handa H., Oikawa T., Hata S., Nishikawa Y., Mizukami Y., Kodama Y., Murakami M., Fujiwara T., Hirano S., and Sabe H.
2. 発表標題	Upregulation of eIF4A/4E-dependent mRNA translation is the major target of KRAS signaling
3. 学会等名	第19回蛋白質科学・第71回日本細胞生物合同年次大会(オーガナイザー)
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	Hashimoto A., Hashimoto S., Furukawa S., Tsutaho A., Fukao A., Onodera Y., Handa H., Oikawa T., Hata S., Nishikawa Y., Mizukami Y., Kodama Y., Murakami M., Fujiwara T., Hirano S., and Sabe H.
2. 発表標題	Pancreatic KRAS/TP53 mutations promote ARF6-based immune evasion via activating mRNA translation and protein prenylation
3. 学会等名	第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	Oikawa T., Ohnishi N., Onodera Y., Hashimoto A., Hashimoto A., Ueda K., and Sabe H.
2. 発表標題	P53 excludes EZH2 from H3.1 interactome during S phase to maintain histone code
3. 学会等名	The 38th Sapporo International Cancer Symposium(国際学会)
4. 発表年	2019年

1. 発表者名 Oikawa T., Ohnishi N., Onodera Y., Hashimoto A., Hashimoto A., Ueda K., and Sabe H.
2. 発表標題 Requirement for p53 in intra-nuclear dynamics of the K27-trimethylated histone H3 during DNA replication
3. 学会等名 第92回日本生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ari Hashimoto, Shigeru Hashimoto, Shotaro Furukawa, Akio Tsutaho, Yasuhito Onodera, Yutaro Otsuka, Haruka Handa, Tsukasa Oikawa, Yusuke Mizukami, Masaaki Murakami, Satoshi Hirano, and Hisataka Sabe
2. 発表標題 Pancreatic KRAS and TP53 oncogenes cooperatively activate ARF6-AMAP1 pathway to drive malignancy and immune evasion
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tsukasa Oikawa, Yuki Shino, Suguru Kurosawa, Yasuhito Onodera, Yutaro Otsuka, Ari Hashimoto, Hisataka Sabe
2. 発表標題 Requirement for p53 in intra-nuclear dynamics of the K27-trimethylated histone H3 during DNA replication
3. 学会等名 Gordon Research Conference 2018 Genomic Instability (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tsukasa Oikawa, Yuki Shino, Suguru Kurosawa, Yasuhito Onodera, Yutaro Otsuka, Ari Hashimoto, Hisataka Sabe
2. 発表標題 Requirement for p53 in intra-nuclear dynamics of the K27-trimethylated histone H3 during DNA replication
3. 学会等名 第70回日本細胞生物学会 (日本発生物学会合同大会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 橋本あり
2. 発表標題 癌悪性度の代謝側面と癌免疫との関連
3. 学会等名 第9回シグナルネットワーク研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 橋本あり、橋本茂、及川司、大塚勇太郎、半田悠、小野寺康仁、佐邊壽孝
2. 発表標題 メバロン酸代謝活性とAr f6による癌悪性度進展の分子機序並びにスタチン有効性の解析
3. 学会等名 第116回北海道癌談話会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 橋本あり、橋本茂、古川聖太郎、薦保暁生、大塚勇太郎、半田悠、小野寺康仁、及川司、平野聡、佐邊壽孝
2. 発表標題 膀胱ドライバ変異はARF6経路を介して癌悪性度とPD-L1発現を促進する
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 癌免疫療法併用剤	発明者 佐邊壽孝、平野聡、 橋本あり、橋本茂	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2019/010925	出願年 2019年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 癌免疫療法併用剤	発明者 佐邊壽孝、平野聡、 橋本あり、橋本茂	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-48179	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

北海道大学大学院医学研究院 生化学分野 分子生物学教室
<http://g21001.med.hokudai.ac.jp/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------