

令和 6 年 5 月 17 日現在

機関番号：33905

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08426

研究課題名(和文) PBKを標的とする抗骨髄腫薬導出に向けた創薬プラットフォームの構築と分子機能解析

研究課題名(英文) Establishment of the platform for a drug discovery of multiple myeloma by targeting PBK-related signaling pathway

研究代表者

太田 明伸(Ota, Akinobu)

金城学院大学・生活環境学部・教授

研究者番号：30438048

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：多発性骨髄腫(以下MM)は、根治不能な形質細胞性の難治性血液腫瘍疾患である。代表者は、MMの悪性化に関わる分子病態の解明を目指し、(1)PBKノックアウトマウスの性状解析、(2)薬剤スクリーニング、(3)1qゲノム増幅領域に位置する新規悪性化因子の機能解析から、PBKやその関連分子の治療標的としての可能性を検証した。その結果、PBKノックアウトマウスには大きな表現型が見られないこと、PBKは免疫調節剤の感受性を変化させること、新規悪性化因子がDNA修復能を高めることを明らかにした。以上より、PBKの阻害はMMの悪性化を抑制する新たな治療薬創成へとつながる可能性が強く示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多発性骨髄腫(Multiple myeloma、以下MM)は、形質細胞性の難治性血液悪性腫瘍である。現在の医療では、MMの再発や悪性化を完全に抑制することは難しく、MM悪性化の克服はMM患者の更なるQOL延伸に向けた喫緊の課題である。本研究は、遺伝子発現解析をもとにMMの悪性化に関わる分子機構の解析を試み、MMの新たな治療標的分子PBKに関する治療応用の可能性を検証したものであり、学術的・社会的意義は極めて高い。解析の結果、PBKの喪失は、マウスに顕著な表現型を示さない一方、一部のMM細胞に対する薬剤感受性に影響を及ぼすことから、PBKを標的とした分子標的薬開発は有望である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Multiple myeloma (MM) is an incurable plasma cell hematological malignancy. This study is aimed to precisely elucidate the molecular pathology related to the malignant transformation of MM. We have identified malignant factors from the gene group induced by Interleukin-6, analyzed the gene functions, and attempted to identify new therapeutic agents. Here, we conducted drug screening, identified novel malignant factors located in the 1q genomic amplification region, and analyzed the properties of PBK knockout mice to verify the potential of PBK and related molecules as therapeutic targets. The results revealed that (1) PBK expression is related to the sensitivity of immunomodulatory drug, (2) a novel malignant factor enhances DNA repair ability in MM cells, and (3) PBK knockout mice do not exhibit any major phenotypes. These results strongly suggest that inhibition of PBK may lead to the development of novel therapeutic agents that suppress the malignant transformation of MM.

研究分野：がんの分子生物学

キーワード：多発性骨髄腫 悪性化 治療標的分子 細胞生物学 薬剤スクリーニング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

多発性骨髄腫 (Multiple myeloma、以下 MM) は、形質細胞性の難治性血液悪性腫瘍である。本疾患は、同種造血幹細胞移植の有効性が示されていない。ゆえに、化学療法とその治療効果は患者の予後を左右する極めて重要な因子である。MM は、軽度の単クローン性 PC 増多症である monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS)、smoldering MM (くすぶり型 MM; SMM) などの前がん病変を経て、MM へと悪性化するものが多く、悪性度の高い形質細胞性白血病 (plasma cell leukemia) へと進展することもある (文献 1-2)。近年、免疫調節剤、プロテアソーム阻害剤、抗体医薬などの新規薬剤によって、MM 患者の治療成績は飛躍的に改善している。しかし、MM の再発や悪性化を完全に抑制することは難しく、MM 発症と悪性化進展の克服は MM 患者の更なる QOL 延伸に向けた喫緊の課題である。代表者は、これまでに MM の増殖因子として知られる Interleukin-6 (IL-6) が MM 細胞の遺伝子発現に与える影響を網羅的に解析し、上方制御される遺伝子の中に MM 患者の予後と密接に関連する PDZ-binding kinase (PBK) を見出した (文献 3)。その後、PBK の分子機能解析や PBK に対するキナーゼ阻害剤を用いた動物実験の結果から、PBK は MM 細胞の造腫瘍性や細胞生存に関わる遺伝子であることが明らかとなり、MM の新規治療標的として臨床応用が期待されている (文献 4-5)。

2. 研究の目的

本研究では、MM における PBK の治療標的としての可能性を検証し、PBK を介した MM 悪性化の分子機構を解明するために、(1) PBK ノックアウト (-KO) マウスの作出と機能性解析、(2) 悪性形質を示す PBK 高発現株とアイソジェニック PBK-KO クローンを用いた薬剤スクリーニング、(3) PBK と同様に遺伝子発現量が MM 患者の予後と連関する、1q ゲノム増幅領域の新規遺伝子の機能解析を行う方針とした。

3. 研究の方法

(1) 細胞培養

ヒト骨髄腫細胞株 (KMS-11、RPMI8226、KMM1、FLAM-76) は国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 JCRB 細胞バンクより入手した。また、IL-6 依存性細胞株である ANBL-6 は、Dr. Diane F. Jelinek 氏 (Mayo Clinic、USA) より供与された。ANBL-6 および FLAM-76 は 20% 血清、抗生物質 (ペニシリン・ストレプトマイシン、和光純薬) および IL-6 (5 ng/mL、R&D systems) を含む RPMI 1640 培地を用いて維持・継代した。その他の細胞株の維持・継代には、10% 血清と抗生物質を含む RPMI 1640 培地を用いた。

(2) PBK-KO マウスの解析

Pbk-KO マウス樹立のために、CRISPR-Cas9 法を用いた。マウス染色体 14 番長腕 D1 領域に位置する Pbk のエクソン 3 (5' - GAAGCTTGCGCTTTGGGACTGGGG、下線部がプロトスペーサー隣接配列) を標的として single guide RNA (以下ガイド RNA) の配列を設計した。in vitro RNA 合成を行い、ガイド RNA と Cas9 による DNA 切断効率を確認した後、分担研究者の武井則雄博士に依頼して、北海道大学医学研究院動物実験施設において Pbk-KO マウスを樹立した。その後、愛知医科大学の動物実験委員会で実験計画の承諾を得て、同大学の動物実験施設において通常の条件で飼育・繁殖を行った。マウス組織における Pbk 発現を解析するために、Pbk が高発現する精巣を摘出し、免疫染色に供した。また、Pbk 発現細胞同定のため、マウス骨髄より骨髄細胞 (Bone

marrow derived cells、以下 BMDCs) を採取して、フローサイトメトリー解析を行った。

(3) フローサイトメトリー解析

マウス表面抗原に対する蛍光標識抗体 Lin-FITC(22-7770-72)、Ki-67-eFluor450(48-5698-80)、CD45-eFluor450(48-0451-82)、CD11b-PE-Cy7(25-0112-81)、CD138-PE(MA523527)を Invitrogen 社から購入した。はじめに、FcR ブロッキング試薬(ミルテニー社)で処理した BMDCs を所定の抗体により染色した。その後、細胞膜透過処理を行い、Anti-PBK/SPK 抗体 [EPR21983 (ab236872)] を用いて細胞内染色を行った。細胞の解析には LSRFortessaX-20 (BD Biosciences 社) を用いた。

(4) 薬剤スクリーニング (MTT アッセイ)

Selleck Chemicals 社より入手した約 500 個の化合物ライブラリーと、KMS-11、ANBL-6 を用いて薬剤スクリーニングを行った。代表者が樹立した PBK-WT または PBK-KO KMS-11 株、PBK-WT または PBK-KO ANBL-6 株を 1×10^4 cells/well となるように 96 穴プレートに巻き込み、一晚静置した。翌日、薬剤を添加し 72 時間のインキュベーションを行った後、Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide (MTT) 試薬 (SIGMA) を加えた。SpectraMAX M5 分光光度計 (Molecular Devices、Sunnyvale、CA、USA) を用いて 575 nm の吸光度を測定した。細胞生存率 (%) は薬剤未添加のウェルの吸光度 (A_0) と薬剤添加した各ウェルの吸光度 (A_N) の割合から算出した ($A_N/A_0 \times 100$)。

(5) ゲノム編集

組み換え DNA 実験については、愛知医科大学の組換え DNA 実験安全委員会において 2016 年度に承認を得た (承認番号: 16-2-2)。Addgene 社をとおして、Dr. Feng Zhang より、pSpCas9(BB)-2A-GFP (PX458) および lentiCRISPR v2 ベクターを入手した。CRISPR/Cas9 システムは、過去の論文のとおり標的配列をデザインし、以前の報告のとおりベクターを構築した (文献 5-7)。C1orf112 に対する single guide RNA (以下 sgRNA) の候補配列は、Optimized CRISPR Design (<http://crispr.mit.edu/>) に標的配列を入力し、オフターゲット作用の低い配列 (5'-GATGAAATGCATGGTCCATAC) を選抜し、各プラスミドに挿入した。KMS-11 細胞に対しては、レンチウイルスを用いて、ANBL-6 に対しては Nucleofection 法 (Lonza Japan) を用いて遺伝子導入をおこなった。その後、シングルセルクローニング法を用いて KO クローンを樹立した。

(6) 軟寒天培地コロニー形成能試験

KMS-11 または ANBL-6 細胞を 1000 個/well となるように上層ゲルに混和し 6-well plate に巻き込んだ。およそ 14 日間培養した後、MTT 試薬を加えて染色した。顕微鏡下 (IX-73、Olympus 社) を用いてコロニーを撮影し体積を測定した ($[長径]^2 \times 短径/2$)。

(7) 統計解析

実験結果は、平均値 \pm SE (標準誤差) で表した。統計学的有意差の検定には、Student の t test を用いた。統計解析は、EZR を用いた (文献 8)。

4. 研究成果と考察

(1) PBK-KO マウスの樹立と性状解析

本研究では、CRISPR-Cas9 法により Pbk-KO マウスの樹立を試みた。マウス染色体 14 番長腕 D1 領域に位置する Pbk のエクソン 3 を標的として、ガイド RNA 配列を設計した (図 1A)。PCR とシーケンスによる解析の結果、標的配列近傍に 8 塩基対の欠損を伴うフレームシフト変異 (5'-TTGGGACT) を示す個体を見出した (図 1A)。バッククロスを行った後、PBK の発現を確認するた

めに野生型とホモ欠損型の雄マウスから精巣を摘出して免疫染色に供した。結果を図 1B に示す。野生型で見られる Pbk の発現が KO マウスで焼失していることから、Pbk-KO マウスでは Pbk の発現が欠損していることが確認された。

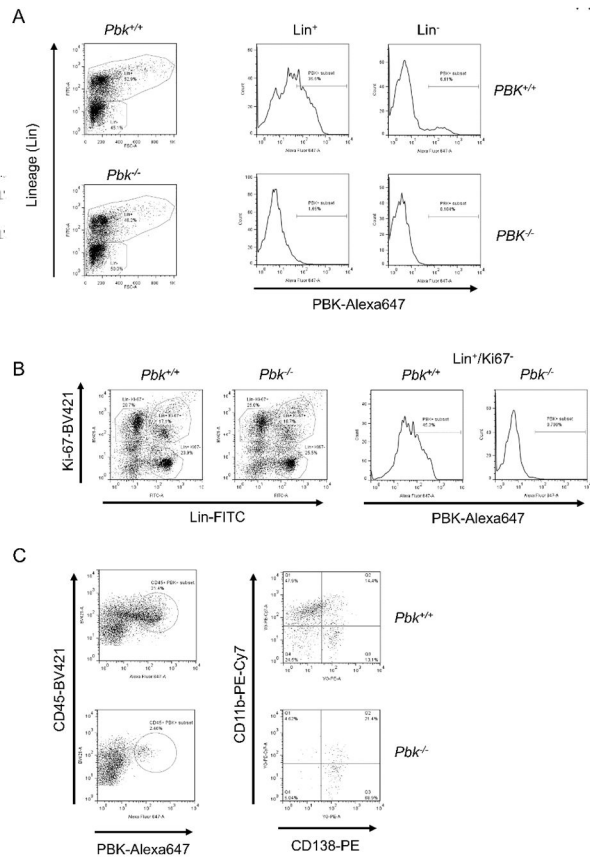
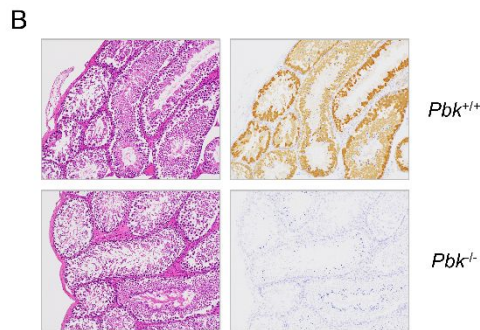
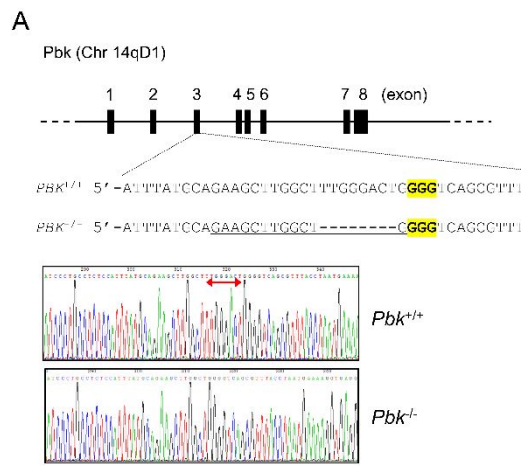


図 1. Pbk-KO マウスの樹立

図 2. Pbk 発現細胞の解析

そこで、血液細胞中の Pbk 発現細胞を同定するために骨髓由来細胞を採取してフローサイトメトリー解析を行った。結果を図 2 に示す。Lin+細胞の CD11b 陽性細胞において、Pbk 発現細胞が多く見られた。骨髓に存在する単球・マクロファージ系の細胞が Pbk 発現細胞である可能性が示唆された。

(2) 薬剤スクリーニングについて

次に、PBK-KO ヒト MM 細胞株と選択的阻害剤を含む化合物 500 個からなる化合物ライブラリーを用いて、薬剤スクリーニングアッセイを行い、PBK 発現が薬剤感受性に及ぼす影響を解析した。MTT アッセイの結果を図 3 に示す。PBK-KO/KMS-11 細胞では化合物 1-6 に対して感受性が低下する一方、PBK-KO/ANBL-6 細胞では化合物 7-12 に対して感受性が低下した (図 3A、図 3B)。以上の結果から、Pbk 発現が薬剤感受性に及ぼす影響は細胞株によって大きく異なる可能性が示唆された。

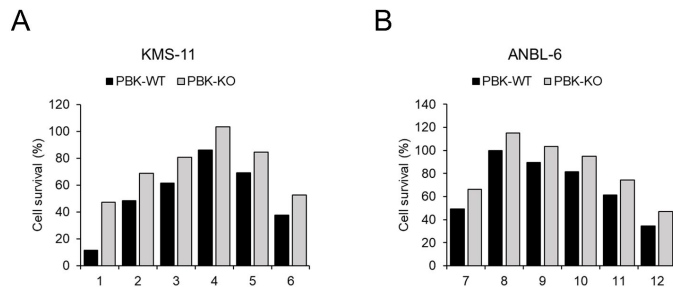


図3. 薬剤スクリーニング結果

(3) MM 細胞株における *C1orf112* の性状解析について

CRISPR-Cas9 法により、KMS-11 および ANBL-6 の *C1orf112* 遺伝子を破壊した後、軟寒天培地を用いたコロニー形成能試験にて造腫瘍性の解析を行った。その結果、コントロールの細胞に比して、*C1orf112*-KO 株では造腫瘍性が有意に低下した (図 4A、図 4B)。以上より、*C1orf112* は MM の造腫瘍性に関与する可能性が示唆された。

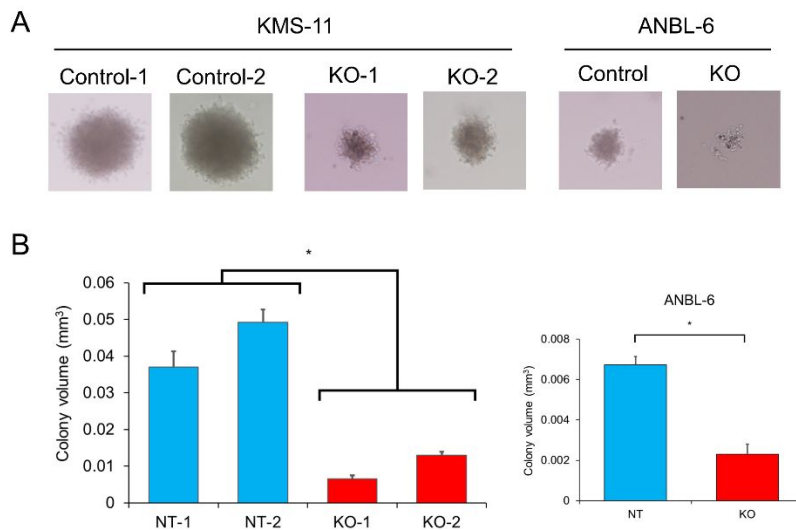


図4. MM 細胞株における造腫瘍性の解析 (*in vitro*)

5. 結語

本研究によって、マウス骨髄中 Pbk 発現細胞、ヒト MM 細胞における PBK 高発現と薬剤感受性の関連性、*C1orf112* の MM 悪性化への関与が明らかとなった。今後、PBK や *C1orf112* による悪性化機構の分子機序がさらに解明されることにより、その働きを選択的に阻害する化合物の同定ひいては新規抗骨髄腫薬の開発へと発展することが期待される。

[引用文献]

1. Kuehl W, et al. *Nat Rev Cancer*. 2:175-187. 2002.
2. Bergsagel P, et al. *J Clin Oncol*. 23:6333-8, 2005.
3. 太田明伸、他. *BioClinica*. 34:648-54, 2019.
4. 太田明伸、他. *Precision Medicine*. 4:76-80 2021.
5. Ota A, et al. *J Interferon Cytokine Res*. 40:389-405, 2020.
6. Sanjana NE, et al. *Nat Methods*. 11:783-84, 2014.
7. Ran FA, et al. *Nat Protoc*. 8:2281-308, 2013.
8. Kanda Y. 2013. *BM Transplant*. 48:452-58, 2013.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 19件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 13件）

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Hyodo Toshinori, Asano Inami Eri, Ito Satoko, Sugiyama Mai, Nawa Akihiro, Rahman Md Lutfur, Hasan Muhammad Nazmul, Mihara Yuko, Lam Vu Quang, Karnan Sivasundaram, Ota Akinobu, Tsuzuki Shinobu, Hamaguchi Michinari, Hosokawa Yoshitaka, Konishi Hiroyuki | 4. 巻 291 |
| 2. 論文標題 Leucine zipper protein 1 (<sc>LUZP1</sc>) regulates the constriction velocity of the contractile ring during cytokinesis | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 The FEBS Journal | 6. 最初と最後の頁 927 ~ 944 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.17017 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|----------------------|
| 1. 著者名 Hasan Muhammad Nazmul, Hyodo Toshinori, Biswas Mrityunjoy, Rahman Md. Lutfur, Mihara Yuko, Karnan Sivasundaram, Ota Akinobu, Tsuzuki Shinobu, Hosokawa Yoshitaka, Konishi Hiroyuki | 4. 巻 18 |
| 2. 論文標題 Flow cytometry-based quantification of genome editing efficiency in human cell lines using the L1CAM gene | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 PLOS ONE | 6. 最初と最後の頁 294146 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0294146 | 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 Karnan Sivasundaram, Ota Akinobu, Murakami Hideki, Rahman Md. Lutfur, Wahiduzzaman Md, Hasan Muhammad Nazmul, Vu Lam Quang, Hanamura Ichiro, Inoko Akihito, Riku Miho, Ito Hideaki, Kaneko Yoshifumi, Hyodo Toshinori, Konishi Hiroyuki, Tsuzuki Shinobu, Hosokawa Yoshitaka | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 CAMK2D: a novel molecular target for BAP1-deficient malignant mesothelioma | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Cell Death Discovery | 6. 最初と最後の頁 257 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41420-023-01552-5 | 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 Onda Maho, Ota Akinobu, Ito Kunihiro, Ono Takayuki, Karnan Sivasundaram, Kato Mikako, Kondo Sayuri, Furuhashi Akifumi, Hayashi Tomio, Hosokawa Yoshitaka, Kazaoka Yoshiaki | 4. 巻 12 |
| 2. 論文標題 Inhibition of <sc>VEGFR2</sc> and <sc>EGFR</sc> signaling cooperatively suppresses the proliferation of oral squamous cell carcinoma | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Cancer Medicine | 6. 最初と最後の頁 16416 ~ 16430 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.6282 | 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 Kato Mikako, Ota Akinobu, Ono Takayuki, Karnan Sivasundaram, Hyodo Toshinori, Rahman Md Lutfur, Hasan Muhammad Nazmul, Onda Maho, Kondo Sayuri, Ito Kunihiro, Furuhashi Akifumi, Hayashi Tomio, Konishi Hiroyuki, Tsuzuki Shinobu, Hosokawa Yoshitaka, Kazaoka Yoshiaki | 4. 巻 30 |
| 2. 論文標題 <scp>PDZ</scp> binding kinase inhibitor <scp>OTS514</scp> suppresses the proliferation of oral squamous carcinoma cells | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Oral Diseases | 6. 最初と最後の頁 223-234 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/odi.14533 | 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 Karnan S, Hanamura I, Ota A, Vu LQ, Uchino K, Horio T, Murakami S, Mizuno S, Rahman ML, Wahiduzzaman M, Hasan MN, Biswas M, Hyodo T, Ito H, Suzuki A, Konishi H, Tsuzuki S, Hosokawa Y, Takami A | 4. 巻 10 |
| 2. 論文標題 ARK5 enhances cell survival associated with mitochondrial morphological dynamics from fusion to fission in human multiple myeloma cells | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 Cell Death Discovery | 6. 最初と最後の頁 56 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41420-024-01814-w | 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 Mamiya Takashi, Kanamori Fumiaki, Yokoyama Kinya, Ota Akinobu, Karnan Sivasundaram, Uda Kenji, Araki Yoshio, Maesawa Satoshi, Yoshikawa Kazuhiro, Saito Ryuta | 4. 巻 138 |
| 2. 論文標題 Long noncoding RNA profile of the intracranial artery in patients with moyamoya disease | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Neurosurgery | 6. 最初と最後の頁 709 ~ 716 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3171/2022.5.JNS22579 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|------------------|
| 1. 著者名 Zhou Xuan, Iida Hiroki, Li Yugiang, Ota Akinobu, Zhuo Lisheng, Nobuhara Reiko, Terajima Yuki, Naiki Mitsuru, Reddi A. Hari, Kimata Koji, Ushida Takahiro | 4. 巻 ND |
| 2. 論文標題 Neurotrophin ameliorates chronic pain associated with scar formation in a mouse model: A gene expression analysis of the inflammatory response | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 Molecular Pain | 6. 最初と最後の頁 ND |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/17448069241245420 | 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 Koshino Akira, Nagano Aya, Ota Akinobu, Hyodo Toshinori, Ueki Akane, Komura Masayuki, Sugimura-Nagata Akane, Ebi Masahide, Ogasawara Naotaka, Kasai Kenji, Hosokawa Yoshitaka, Kasugai Kunio, Takahashi Satoru, Inaguma Shingo | 4. 巻 12 |
| 2. 論文標題 PBK Enhances Cellular Proliferation With Histone H3 Phosphorylation and Suppresses Migration and Invasion With CDH1 Stabilization in Colorectal Cancer | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology | 6. 最初と最後の頁 772926 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphar.2021.772926 | 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 Rahman Md. Lutfur, Hyodo Toshinori, Hasan Muhammad Nazmul, Mihara Yuko, Karnan Sivasundaram, Ota Akinobu, Tsuzuki Shinobu, Hosokawa Yoshitaka, Konishi Hiroyuki | 4. 巻 49 |
| 2. 論文標題 Correction of a CD55 mutation to quantify the efficiency of targeted knock-in via flow cytometry | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Molecular Biology Reports | 6. 最初と最後の頁 6241 ~ 6248 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11033-022-07422-0 | 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 Mamiya Takashi, Kanamori Fumiaki, Yokoyama Kinya, Ota Akinobu, Karnan Sivasundaram, Uda Kenji, Araki Yoshio, Maesawa Satoshi, Yoshikawa Kazuhiro, Saito Ryuta | 4. 巻 138 |
| 2. 論文標題 Long noncoding RNA profile of the intracranial artery in patients with moyamoya disease | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Neurosurgery | 6. 最初と最後の頁 709 ~ 716 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3171/2022.5.JNS22579 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Tsuzuki Shinobu, Yasuda Takahiko, Goto Hiroaki, Maeda Naoko, Akahane Koshi, Inukai Takeshi, Yamamoto Hideyuki, Karnan Sivasundaram, Ota Akinobu, Hyodo Toshinori, Konishi Hiroyuki, Hosokawa Yoshitaka, Kiyoi Hitoshi, Hayakawa Fumihiko | 4. 巻 108 |
| 2. 論文標題 BCL6 inhibition ameliorates resistance to ruxolitinib in <i>CRLF2</i>-rearranged acute lymphoblastic leukemia | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Haematologica | 6. 最初と最後の頁 394 ~ 408 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3324/haematol.2022.280879 | 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 Hagihara Mao, Yamashita Makoto, Ariyoshi Tadashi, Eguchi Shuhei, Minemura Ayaka, Miura Daiki, Higashi Seiya, Oka Kentaro, Nonogaki Tsunemasa, Mori Takeshi, Iwasaki Kenta, Hirai Jun, Shibata Yuichi, Umemura Takumi, Kato Hideo, Asai Nobuhiro, Yamagishi Yuka, Ota Akinobu, Takahashi Motomichi, Mikamo Hiroshige | 4. 巻 41 |
| 2. 論文標題 Clostridium butyricum-induced -3 fatty acid 18-HEPE elicits anti-influenza virus pneumonia effects through interferon- upregulation | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Cell Reports | 6. 最初と最後の頁 111755 ~ 111755 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2022.111755 | 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 Kato Mikako, Ota Akinobu, Ono Takayuki, Karnan Sivasundaram, Hyodo Toshinori, Rahman Md Lutfur, Hasan Muhammad Nazmul, Onda Maho, Kondo Sayuri, Ito Kunihiro, Furuhashi Akifumi, Hayashi Tomio, Konishi Hiroyuki, Tsuzuki Shinobu, Hosokawa Yoshitaka, Kazaoka Yoshiaki | 4. 巻 in press |
| 2. 論文標題 <sc>PDZ</sc> binding kinase inhibitor <sc>OTS514</sc> suppresses the proliferation of oral squamous carcinoma cells | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Oral Diseases | 6. 最初と最後の頁 in press |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/odi.14533 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Nagano-Matsuo Aya, Inoue Satoshi, Koshino Akira, Ota Akinobu, Nakao Kenju, Komura Masayuki, Kato Hiroyuki, Naiki-Ito Aya, Watanabe Kawori, Nagayasu Yuko, Hosokawa Yoshitaka, Takiguchi Shuji, Kasugai Kunio, Kasai Kenji, Inaguma Shingo, Takahashi Satoru | 4. 巻 479 |
| 2. 論文標題 PBK expression predicts favorable survival in colorectal cancer patients | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Virchows Archiv | 6. 最初と最後の頁 277 ~ 284 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00428-021-03062-0 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|--------------------|
| 1. 著者名 Azami Yusuke, Tsuyama Naohiro, Abe Yu, Sugai-Takahashi Misa, Kudo Ken-ichi, Ota Akinobu, Sivasundaram Karnan, Muramatsu Moe, Shigemura Tomonari, Sasatani Megumi, Hashimoto Yuko, Saji Shigehira, Kamiya Kenji, Hanamura Ichiro, Ikezoe Takayuki, Onodera Masafumi, Sakai Akira | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Chromosomal translocation t(11;14) and p53 deletion induced by the CRISPR/Cas9 system in normal B cell-derived iPS cells | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 5216 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-84628-5 | 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 Karnan S, Hanamura I, Ota A, Takasugi S, Nakamura A, Takahashi M, Uchino K, Murakami S, Wahiduzzaman M, Quang VL, Rahman ML, Hasan MN, Hyodo T, Konishi H, Tsuzuki S, Yoshikawa K, Suzuki S, Ueda R, Ejiri M, Hosokawa Y, Takami A | 4. 巻 7 |
| 2. 論文標題 CD52 is a novel target for the treatment of FLT3-ITD-mutated myeloid leukemia | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Cell Death Discovery | 6. 最初と最後の頁 121 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41420-021-00446-8 | 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 Kanamori Fumiaki, Yokoyama Kinya, Ota Akinobu, Yoshikawa Kazuhiro, Karnan Sivasundaram, Maruwaka Mikio, Shimizu Kenzo, Ota Shinji, Uda Kenji, Araki Yoshio, Okamoto Sho, Maesawa Satoshi, Wakabayashi Toshihiko, Natsume Atsushi | 4. 巻 51 |
| 2. 論文標題 Transcriptome-wide analysis of intracranial artery in patients with moyamoya disease showing upregulation of immune response, and downregulation of oxidative phosphorylation and DNA repair | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Neurosurgical Focus | 6. 最初と最後の頁 E3 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3171/2021.6.FOCUS20870 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Rahman Md. Lutfur, Hyodo Toshinori, Hasan Muhammad Nazmul, Mihara Y, Karnan S, Ota A, Tsuzuki S, Hosokawa Y, Konishi H | 4. 巻 41 |
| 2. 論文標題 Flow cytometry-based quantification of targeted knock-in events in human cell lines using a GPI-anchor biosynthesis gene <i>PIGP</i> | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Bioscience Reports | 6. 最初と最後の頁 BSR20212231 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/BSR20212231 | 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6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 太田 明伸、カルナン シバスンラダン、小西 裕之、都築 忍、細川 好孝、風岡 宜暁 |
| 2. 発表標題 PBK阻害剤OTS514は口腔扁平上皮癌細胞においてE2F標的遺伝子の下方制御と細胞増殖を抑制する |
| 3. 学会等名 第82回日本癌学会学術総会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Toshinori Hyodo, Muhammad Nazmul Hasan, Mrityunjoy Biswas, Eri Inami, Sivasundaram Karnan, Akinobu Ota, Shinobu Tsuzuki, Yoshitaka Hosokawa, Hiroyuki Konishi. |
| 2. 発表標題 LUZP1, a novel CPC colocalizing protein, regulates the constriction velocity of the contractile ring during cytokinesis. |
| 3. 学会等名 第46回日本分子生物学会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Muhammad Nazmul Hasan, Toshinori Hyodo, Mrityunjoy Biswas, Md. Lutfur Rahman, Yuko Mihara, Sivasundaram Karnan, Akinobu Ota, Shinobu Tsuzuki, Yoshitaka Hosokawa, and Hiroyuki Konishi |
| 2. 発表標題 A Rapid and Sensitive FCM-Based Assay for Monitoring CRISPR/Cas9 Genome Editing in L1CAM Gene |
| 3. 学会等名 第46回日本分子生物学会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Shinobu Tsuzuki, Takahiko Yasuda, Masahito Kawazu, Toshihide Ueno, Sivasundaram Karnan, Akinobu Ota, Masashi Sanada, Hirokazu Nagai, Akihiro Tomita, Yoshiyuki Takahashi, Yasushi Miyazaki, Itaru Matsumura, Hitoshi Kiyoi, Yoshitaka Hosokawa, Hiroyuki Mano, Fumihiko Hayakawa |
| 2. 発表標題 Targeting MEF2D-fusion Oncogenic Transcriptional Circuitries in B-cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia |
| 3. 学会等名 日本癌学会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 太田 明伸、シバスングラン カルナン、細川 好孝 |
| 2. 発表標題 ゲノム編集法を用いた不死化ヒト中皮細胞株の形質転換に関わる分子機構の解析と悪性中皮腫に対する新規治療標的分子の探索 |
| 3. 学会等名 第2回日本石綿・中皮腫学会学術集会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 小西裕之, 兵頭寿典, Md. Lutfur Rahman, Muhammad Nazmul Hasan, 三原 優子, Sivasundaram Karnan, 太田 明伸, 都築 忍, 細川 好孝. Tandem paired nicking法による高精度でDNA損傷反応を誘起しない塩基置換の特性解析 |
| 2. 発表標題 Tandem paired nicking法による高精度でDNA損傷反応を誘起しない塩基置換の特性解析 |
| 3. 学会等名 日本ゲノム編集学会第6回大会 |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計2件

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 立川 雅司、畑田 出穂、藤井 渉 | 4. 発行年 2023年 |
| 2. 出版社 情報機構 | 5. 総ページ数 315 |
| 3. 書名 ゲノム編集技術～実験上のポイント/産業利用に向けた研究開発動向と安全性周知 | |

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 Ekhtear Hossain, Md Wahiduzzaman, Akinobu Ota | 4. 発行年 2021年 |
| 2. 出版社 Elsevier | 5. 総ページ数 684 |
| 3. 書名 Toxicological Risk Assessment and Multi-System Health Impacts from Exposure 1st edition | |

〔出願〕 計1件

| | | |
|---------------------------------|--|---------------|
| 産業財産権の名称 R A S 遺伝子変異体癌治療薬 | 発明者 シバスダラン カル ナン、太田 明伸、花 村 一朗、細川 好孝 | 権利者 同左 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-169541 | 出願年 2022年 | 国内・外国の別 国内 |

〔取得〕 計1件

| | | |
|---------------------------------|--|---------------|
| 産業財産権の名称 悪性中皮腫の治療薬 | 発明者 シバスダラン カル ナン、太田 明伸、細 川 好孝 | 権利者 同左 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-169563 | 取得年 2023年 | 国内・外国の別 国内 |

〔その他〕

本研究に先立ち、PBKが自然免疫に及ぼす影響についての解析を行うために、ワシントン大学免疫学講座のMichael Gale Jr.教授の下で研究データを取得した。2021年度より、愛知医科大学において、ウイルス感染時に惹起されるI型ならびにIII型インターフェロンの発現に及ぼす影響について細胞生物学的手法を用いた解析を行い、PBKがインターフェロン応答を制御する可能性が示唆されている。今後はPBKノックアウトマウスを用いたin vivoの解析を国際共同研究として継続する予定である。

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 |
|-------|--|-----------------------------------|----|
| 研究分担者 | 武井 則雄 (Takei Norio) (50523461) | 北海道大学・医学研究院・助教 (10101) | |
| 研究分担者 | 花村 一朗 (Hanamura Ichiro) (70440740) | 愛知医科大学・医学部・教授 (33920) | |
| 研究分担者 | シバスダラン カルナン (Sivasundaram Karnan) (30557096) | 愛知医科大学・医学部・講師 (33920) | |

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 | | | |
|---------|---------|--|--|--|
| 米国 | ワシントン大学 | | | |