

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 20 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23790914

研究課題名(和文) 翻訳後修飾プロテオミクス解析による肺小細胞癌の分化・増殖機構の分子基盤解明

研究課題名(英文) The molecular regulation of differentiation, proliferation and highly malignancy character of small cell lung cancer by proteomic analysis of post-translational modification.

研究代表者

新森 加納子(Nimori, Kanako)

熊本大学・大学院生命科学研究部・助教

研究者番号：30457600

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、神経分化を示す肺小細胞癌には神経の分化制御機構と共通したメカニズムが存在すると仮定し、これまで私が神経幹細胞の研究でスクリーニングしてきた分子群が肺小細胞癌と神経の両方で機能しているのではないかという着想の下、これら分子群が肺小細胞癌培養株においてどのような発現様式を示すか翻訳後修飾プロテオミクス解析を行った。その結果、これら分子群全て肺腺癌・扁平上皮癌培養株と比べて肺小細胞癌における高い発現が認められた。さらに興味深いことに、肺小細胞癌培養株において、これら分化制御因子群のリン酸化の亢進が認められたことから、私が見出した分子群が肺小細胞癌の増殖・分化を調節することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Our aim is to clarify the mechanisms of differentiation, proliferation and highly malignant behavior of small cell lung cancer (SCLC) using the post-translational modification proteomics method. In our previous study using the post-translational modification proteomics method, we identified the critical phosphorylated proteins, such as stem cell maintenance factor 1/ SMF1, and differentiation promoting factor 1/ DPF1, both of which work as the neural stem cell differentiation controlling factor. Since SCLC shows the neuronal differentiation, we hypothesized that SCLC has the common regulating molecular system with the neural cell differentiation control. Therefore, we attempted to clarify the functions of these identified molecules in human SCLC, analyzing histopathological samples, cell lines, and xenotransplanted samples. As a result, these molecules showed higher expression in SCLC compared to non-SCLC, and were specifically phosphorylated in SCLC cells.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：翻訳後修飾 神経幹細胞 リン酸化

1. 研究開始当初の背景

肺小細胞癌は、進行が極めて早く、脳や骨髄、リンパ節などに転移しやすい悪性度の高い癌である。発見時に既に全身に広がっている例が多く、治療としては抗がん剤や放射線療法により、一時的に縮小や進行を抑えることに留まっており、一刻も早い病因解明が急がれる。

これまでに国内外の研究で肺小細胞癌原因分子を同定するために cDNA マイクロアレイによる解析が盛んに行われている。しかし mRNA の発現情報のみではその制御機構を完全に解明するのは難しい。そこで、実際に生命現象の大部分を担っている蛋白質発現や翻訳後修飾を解明できるプロテオミクスが注目されている。即ち、「肺小細胞癌の増殖・分化・転移機構を司る核内因子の翻訳後修飾を含めた機能蛋白質群をプロテオミクスの手法を用いて探索する」ことが重要課題であると考えた。

2. 研究の目的

肺小細胞癌の増殖・分化・転移機構を司る核内因子の翻訳後修飾を含めた機能蛋白質群をプロテオミクスの手法を用いて

探索することを目的とする。

3. 研究の方法

肺小細胞癌培養株を用いた翻訳後修飾プロテオミクス解析

質量分析法を用いた肺小細胞癌特異的な発現及びリン酸化の亢進を示す核内因子の同定

Multiple Reaction Monitoring (MRM 法) による機能的リン酸化部位の同定

同定された機能的リン酸化部位の抗リン酸化抗体の作成

4. 研究成果

肺小細胞癌の増殖・分化・転移機構を司る核内因子の翻訳後修飾を含めた機能蛋白質群をプロテオミクスの手法を用いて探索した結果、SMF1 を発見した。この SMF1 が肺癌の中でも特に悪性度の高い小細胞癌において強く発現し、リン酸化が亢進していることが明らかとなった。

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7件)

Hassan Wael, Ryoji Yoshida, Shinji Kudoh, Koki Hasegawa, **Kanako Niimori-Kita**, Takaaki Ito. Notch1 Signaling Controls Cell Proliferation, Apoptosis and Differentiation in Lung Carcinoma. **Lung Cancer**. May 13. **S0169-5002 (14) 00210-4. 2014**

Hiroki Kameyama, Shinji Kudoh, Naoko Udaka, Motoko Kagayama, Wael Hassan, Kohki Hasegawa, **Kanako Niimori-Kita** and Takaaki Ito Bromodeoxyuridine (BrdU)-label-retaining cells in mouse terminal bronchioles. **Histology and Histopathology**, **29**, 659-668. **2014** (査読あり)

Yoshida R, Nagata M, Nakayama H, **Niimori-Kita K**, Hassan W, Tanaka T, Shinohara M, Ito T. The pathological significance of Notch1 in oral squamous cell carcinoma. **Laboratory investigation**, Oct 93(10), 1068-81. **2013**(査読あり)

Niimori D, Kawano R, Felemban A, **Niimori-Kita K**, Tanaka H, Ihn H, and Ohta K. Tsukushi controls the hair cycle by regulating TGF- β 1 signaling. **Developmental Biology**, 372(1):81-7. 2012 (査読あり)

新森加納子, 工藤信次, 橋本修一, 宇高直子, 伊藤隆明 翻訳後修飾プロテオミクス解析による肺小細胞癌の分化・増殖機構の分子基盤解明, 日本病理学会会誌 100, 1P-357, 2011 (査読あり)

工藤信次, **新森加納子**, 宇高直子, 橋本修一, 市村隆也, 伊藤隆明 hASH1 遺伝子導入ヒト肺腺癌細胞について, 日本病理学会会誌 100, 1P-371, 2011 (査読あり)

吉田遼司, **新森加納子**, 橋本修一, 篠原正徳, 伊藤隆明 口腔扁平上皮癌における Notch1 発現の検討, 日本病理学会会誌 100, 1P-329, 2011 (査読あり)

〔学会発表〕(計4件)

新森加納子, 工藤信次, 橋本修一,
宇高直子, 伊藤隆明
翻訳後修飾プロテオミクス解析に
よる肺小細胞癌の分化・増殖機構の
分子基盤解明, 第100回日本病理学
会総会, 2011.4.29, パシフィコ横浜

工藤信次, **新森加納子**, 宇高直子,
橋本修一, 市村隆也, 伊藤隆明

hASH1 遺伝子導入ヒト肺腺癌細胞に
ついて, 第100回日本病理学会総会,
2011.4.28, パシフィコ横浜

吉田遼司, **新森加納子**, 橋本修一, 篠
原正徳, 伊藤隆明

口腔扁平上皮癌における Notch1 発現
の検討, 第100回日本病理学会総会,
2011.4.29, パシフィコ横浜

Kanako Niimori-Kita, Shinji Kudo,
Wael Hassan, Koki Hasegawa, Takaaki
Ito

The molecular regulation of

**differentiation, proliferation and
highly malignancy character of small
cell lung cancer by proteomic analysis
of post-translational modification.** The
14th International Congress of Histo-
chemistry and Cytochemistry: ICHC,
2012. 8. 29, Kyoto International
Conference Center (ICC Kyoto)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計1件)

名称: 二次元電気泳動による蛋白質の分
解方法

発明者: **新森加納子**(代表), 伊藤隆明,
田賀哲也

権利者: **新森加納子**(代表), 伊藤隆明,
田賀哲也

種類: 特許・特許願 H23PT121

番号: 2011-200035

出願年月日: 2011年9月13日

国内外の別: 国内

○取得状況(計0件)

名称:

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

タンパク質検出技術確立

熊大大学院 新森加納子助教

熊本日日新聞 1面、4面

http://www.47news.jp/kumamoto/2013/08/post_20130807082612.html

高精度タンパク質検出装置

新森 加納子 助教

尊敬し合えるパートナーとメイド・イン熊本を目指す / 大学院生命科学研究部

熊大通信・Vol. 52, 2014年4月

<http://www.kumamoto-u.ac.jp/daigakujiouhou/kouhou/kouhoushi/kumatu/vol-52>

招待講演 ,2013年度・表参道吉田病

院

講演者：**新森加納子**

演題：「神経幹細胞の新規未分化性維持因子を用いて肺癌の悪性度・未熟性を解明する。～ 翻訳後修飾プロテオミクスの先端的手法を用いたアプローチ～」日時：2013年7月25日

～ 翻訳後修飾プロテオミクスの先端的手法を用いたアプローチ～」日時：2013年7月25日

(木)表参道吉田病院

6. 研究組織

(1)研究代表者

新森 加納子 (Niimori, Kanako)

熊本大学・大学院生命科学研究部・助教

研究者番号：30457600

(2)研究分担者

(なし)

研究者番号：

(3)連携研究者

(なし)

研究者番号：