

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：82606

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26430133

研究課題名(和文) 神経内分泌腫瘍の新規がん抑制遺伝子PHLDA3の機能解析

研究課題名(英文) Functional analysis of PHLDA3, a tumor suppressor gene of neuroendocrine tumors

研究代表者

大木 理恵子 (Ohki, Rieko)

国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・主任研究員

研究者番号：70356252

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、PHLDA3遺伝子が新規のAkt抑制因子である事を見だし、肺と膵臓のNETにおいて、がん抑制遺伝子として機能している事を明らかにした。我々は、PHLDA3が様々な組織に由来するNETのがん抑制遺伝子であると考えており、PHLDA3によるAkt抑制がNET抑制において中心的な役割を持つと考えている。そのため、PHLDA3遺伝子のLOHが認められた患者にはAkt経路の阻害剤が著効する可能性があると考えている。さらに、PHLDA3遺伝子のLOHはNET患者の予後と強い相関があり、PHLDA3遺伝子のLOH診断により、患者予後の予測ができるようになる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to clarify the mechanism of neuroendocrine tumor (NET) onset and to obtain results useful for NET treatment / diagnosis. We previously found that the PHLDA3 gene encodes a novel Akt repressor and has been shown to function as a tumor suppressor gene in NET of lung and pancreas (Cell, Vol. 136, p. 535-550, 2009, and PNAS, 111 (23), E2404-E2413, 2014). We believe that PHLDA3 is a tumor suppressor gene of NET derived from various tissues, and we believe that Akt suppression by PHLDA3 plays a central role in NET suppression. Therefore, we believe that inhibitors of the Akt pathway may be effective for patients with LOH of the PHLDA3 gene. Furthermore, LOH of the PHLDA3 gene has a strong correlation with the prognosis of NET patients, and it is possible that LOH diagnosis of the PHLDA3 gene will make it possible to predict patient prognosis. By this research, we believe that we contributed to individualized medical care of NET patients.

研究分野：分子腫瘍学

キーワード：神経内分泌腫瘍 PHLDA3 p53 Akt

### 1. 研究開始当初の背景

多くのがんにおいて、がん遺伝子 Akt が異常に活性化している事が知られており、Akt 活性化はがん化を強く促進する要因の一つであると考えられている。我々は、これまで機能未知であった PHLDA3 遺伝子が、新規 Akt 抑制因子をコードする事を明らかにした。増殖因子からのシグナルが伝わると、PI3 キナーゼは細胞膜表面にあるイノシトールリン脂質 PIP2 を PIP3 に変換する。PIP3 が産生されると、Akt は細胞膜に移行し PIP3 と結合する。Akt は通常は不活性化状態にあるが、PIP3 に結合後、活性化して、様々なタンパク質をリン酸化し、細胞の増殖などを促す生存シグナルを発する。一方、PHLDA3 は、がん抑制遺伝子 p53 の標的遺伝子であり、細胞ストレス時に発現が誘導される。PHLDA3 は、Akt のドミナントネガティブ体として機能し、Akt と PIP3 の結合を阻止することで、Akt シグナルとがん化を抑制する。がん抑制において、非常に強いがん化促進能を持つ Akt の活性を制御する事はとても重要である。実際に PHLDA3 の発現を抑制した細胞では Akt の異常な活性化が認められるとともに、細胞ががん化（足場非依存性の増殖能を獲得）している事が示され、PHLDA3 はがん抑制能を有する事が示された。

さらに、ヒト肺がんの NET である LCNEC (大細胞神経内分泌がん) とカルチノイド腫瘍において PHLDA3 遺伝子の高頻度な欠損が認められた。これらのがん組織では正常組織と比較して PHLDA3 の発現低下と Akt 活性の上昇が認められ、PHLDA3 の異常ががん化の原因となっている可能性が考えられた (Cell, Vol. 136, pp. 535-550, 2009)。

NET は希少がんであり、十分な研究が行われていないため、未だ有効な診断法・治療法が確立されていない。NET はペプチドホルモンを分泌する神経内分泌細胞に由来するがんであり、肺や膵臓を始めとして、下垂体や甲状腺などに生じる事が知られる。これまでに我々は、PHLDA3 遺伝子が肺の NET に加えて膵臓の NET においても、がん抑制遺伝子として機能している事を明らかにした (PNAS, 111 (23), E2404-E2413, 2014)。また、PHLDA3 欠損マウスを用いた解析により、神経内分泌細胞から構成される膵ランゲルハンス島の過形成とランゲルハンス島細胞の異常増殖、さらには NET の一つである下垂体腫瘍が高頻度で発生する事を明らかにした。これらの事から、我々は、PHLDA3 が様々な組織の NET のがん抑制遺伝子であると考えており、PHLDA3 による Akt 抑制が NET 抑制において中心的な役割を持つと考えている。

### 2. 研究の目的

**本研究の目的は、神経内分泌腫瘍 (NET) 発症のメカニズム解明と、NET 治療・診断に役立つ成果を得る事である。**我々は、**機能未**

**知であった PHLDA3 遺伝子が、新規の Akt 抑制因子である事**を見だし、肺と膵臓の NET において、がん抑制遺伝子として機能している事を明らかにした (Cell, Vol. 136, pp. 535-550, 2009、及び PNAS, 111 (23), E2404-E2413, 2014)。我々は、**PHLDA3 が様々な組織に由来する NET のがん抑制遺伝子であると考えており、PHLDA3 による Akt 抑制が NET 抑制において中心的な役割を持つ**と考えている。そのため、PHLDA3 遺伝子の LOH が認められた患者には Akt 経路の阻害剤が著効する可能性があると考えている。さらに、PHLDA3 遺伝子の LOH は NET 患者の予後と強い相関があり、PHLDA3 遺伝子の LOH 診断により、患者予後の予測ができるようになる可能性がある。本研究を進める事により、**NET 患者の個別化医療に貢献出来る**と考える。

### 3. 研究の方法

1. PHLDA3 欠損マウスを用い、膵ランゲルハンス島、下垂体以外の内分泌組織に異常が認められるか解析する。さらには NET の発症が認められるか詳細に検討を行う。
2. 我々はこれまでにヒト下垂体腫瘍の症例を 50 症例収集している。今後、これらの症例で PHLDA3 遺伝子の異常が認められるか、解析を行う。

膵 NET の PHLDA3 遺伝子に LOH がある症例とない症例において Akt 経路阻害剤である Everolimus の効果の有無について前向きの研究を行う。

### 4. 研究成果

1. PHLDA3 欠損マウスを用い、膵ランゲルハンス島、下垂体以外の内分泌組織に異常が認められるか解析した。さらには NET の発症が認められるか詳細に検討した。
2. 我々はこれまでにヒト下垂体腫瘍の症例を 50 症例収集している。これらの症例で PHLDA3 遺伝子の異常が認められるか、解析を行った。
3. 膵 NET の PHLDA3 遺伝子に LOH がある症例とない症例において Akt 経路阻害剤である Everolimus の効果の有無について検討を行った。

### 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 9 件)

原著論文

1. Issei Ezawa, Yuichiro Sawai, Tatsuya Kawase, Atsushi Okabe, Shuichi Tsutsumi, Hitoshi Ichikawa, Yuka Kobayashi, Fumio Tashiro, Hideo Namiki, Tadashi Kondo, Kentaro Semba, Hiroyuki Aburatani, Yoichi Taya, Hitoshi Nakagama and Rieko Ohki. (corresponding

author)

A novel p53 target gene FUCA1 encodes a fucosidase and regulates growth and survival of cancer cells.

**Cancer Science**, 107(6):734-45, 2016.

2. Yoshinori Asano, Tatsuya Kawase, Atsushi Okabe, Shuichi Tsutsumi, Hitoshi Ichikawa, Satoko Tatebe, Issay Kitabayashi, Fumio Tashiro, Hideo Namiki, Tadashi Kondo, Kentaro Semba, Hiroyuki Aburatani, Yoichi Taya, Hitoshi Nakagama and Rieko Ohki. (corresponding author).

IER5 generates a novel hypo-phosphorylated active form of HSF1 and contributes to tumorigenesis.

**Scientific Reports**, 6, 19174; doi: 10.1038/srep19174 (2016).

3. Xiaoqi Wang, Guangyuan Li, Sanjay Koul, Rieko Ohki, Matthew Maurer, Alain Borczuk, Balazs Halmos.

PHLDA2 is a key oncogene-induced negative feedback inhibitor of EGFR/ErbB2 signaling via interference with AKT signaling.

**Oncotarget**, DOI: 10.18632/oncotarget.3674.

4. Toshitsugu Fujita, Miyuki Yuno, Daisuke Okuzaki, Rieko Ohki, and Hodaka Fujii.

Identification of non-coding RNAs associated with telomeres by enChIP-RNA-Seq.

**PLoS One**, 10, e0123387, 2015.

5. Rieko Ohki (corresponding author), Kozue Saito, Yu Chen, Tatsuya Kawase, Yukie Aita, Nobuyoshi Hiraoka, Raira Saigawa, Maiko Minegishi, Goichi Yanai, Hiroko Shimizu, Shinichi Yachida, Naoaki Sakata, Akihiko Yokoyama, Ryuichiro Doi, Tomoo Kosuge, Kazuaki Shimada, Benjamin Tycko, Toshihiko Tsukada, Yae Kanai, Shoichiro Sumi, Hideo Namiki, Yoichi Taya, Tatsuhiro Shibata and Hitoshi Nakagama.

PHLDA3 is a novel tumor suppressor of pancreatic neuroendocrine tumors.

**PNAS**, 111 (23), E2404-E2413, 2014.

## 総説

1. Masahiro Takikawa and Rieko Ohki (corresponding author).

A vicious partnership between AKT and PHLDA3 to facilitate neuroendocrine tumors.

**Cancer Science**, in press.

2. 浅野良則, 大木理恵子.

IER5 は新規の低リン酸化型の活性化 HSF1

を誘導し、がん化を促進する。

**実験医学**, 34, pp. 1783-1785, 2016.

3. 陳 ヨ, 斉藤 梢, 山口 陽子, 大木 理恵子.

膵神経内分泌腫瘍の新規がん抑制遺伝子 PHLDA3 の発見.

**胆と膵**, Vol.36 No.6, 2015 年 6 月: 515-523.

4. 山口 陽子, 斉藤 梢, 陳 ヨ, 大木 理恵子.

新規がん抑制遺伝子 PHLDA3 による Akt 経路の制御機構と治療への展開 -膵神経内分泌腫瘍の個別化医療開発を目指して-

**実験医学**, 2014 年 7 月 増刊号: 135-143.

〔学会発表〕(計 26 件)

口頭発表(国内 18、海外 1)

1. 膵内分泌腫瘍の新規がん抑制遺伝子 PHLDA3 の機能抑制を利用した膵島移植効率向上法の確立 口頭発表 大木理恵子 「再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点」共同研究報告会 2017 年 3 月 24 日 . 於: 京都大学 国内

2. がんの分子生物学 口頭発表 大木理恵子 がんゲノム医療講習会 2017 年 3 月 11 日、於: 国際研究交流会館 国内

3. がん抑制遺伝子 PHLDA3 の下垂体腺腫における機能喪失性変異の同定と機能解析 口頭発表 山口 陽子、富永 航平、陳 好、峯岸 舞子、山田正三、大木理恵子 第 27 回日本間脳下垂体腫瘍学会 2017 年 2 月 24 日 . 於: 日経カンファレンスルーム 国内

4. PHLDA3 は下垂体腺腫の新規がん抑制遺伝子である 口頭発表 陳 好、峯岸 舞子、斉藤 梢、山田正三、並木 秀男、仙波 憲太郎、大木理恵子 第 27 回日本間脳下垂体腫瘍学会 2017 年 2 月 24 日 . 於: 日経カンファレンスルーム 国内

5. がん抑制遺伝子 p53 機能喪失を伴った新規悪性胃がん病体モデルの作製と解析 口頭発表 大木理恵子 平成 28 年度第 2 回金沢大学がん進展制御研究所共同利用・共同研究拠点シンポジウム 2017 年 2 月 15 日 . 於: 金沢東急ホテル 国内

6. PH domain-only protein PHLDA3 is a novel p53-regulated repressor of Akt and a novel tumor suppressor of neuroendocrine tumors 口頭発表 大木理恵子 日本分子生物学会ワークショップ 2016 年 12 月 2 日 . 於: 横浜 国内

7. IER5 generates a novel hypo-phosphorylated active form of HSF1 and contributes to tumorigenesis 口頭発表 大木理恵子 International Cancer Forum for Young Scientists、2016年11月21日。於：北海道大学 国内

8. がんの生物学・分子生物学 口頭発表 大木理恵子 日本がん治療認定医機構【JBCT】教育セミナー 2016年11月12日。於：幕張メッセ 国内

9. p53 標的遺伝子 IER5 は新規の低リン酸化型の活性化 HSF1 を作り出し、がん化を促進する 口頭発表 大木理恵子 第11回臨床ストレス応答学会大会 2016年11月11日。於：山口大学 国内

10. がん研究の最前線 ~がん抑制遺伝子 p53 はどのようにがんを抑制するのか?~ 口頭発表 大木理恵子 2016年6月4日。於：女子学院同窓会館 国内

11. がん抑制遺伝子 p53 が制御する様々ながん制御経路 口頭発表 大木理恵子 第19回学習院大学生命科学シンポジウム 2016年5月28日。於：学習院大学 国内

12. 研究者という職は、女性に向いている職である 口頭発表 大木理恵子 第2回Rikoh ティータイム シンポジウム~ワセダで輝く・ワセダから輝く、アナタの未来~ 2016年5月26日。於：早稲田大学 国内

13. PHLDA3 遺伝子と MEN1 遺伝子による膵内分泌腫瘍抑制機構の解明。 チン ヨ、齊藤梢、會田 雪絵、並木 秀男、仙波 憲太郎、大木 理恵子 2016年2月3日、2015「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ

14. Akt の新規抑制因子をコードする PHLDA3 遺伝子は 神経内分泌腫瘍のがん抑制遺伝子である 口頭発表 大木理恵子 日本分子生物学会 ワークショップ 2015年12月4日。於：神戸 国内

15. p53 標的遺伝子 PAD5 は、新規 HSF1 活性化因子をコードし、がん細胞生存に必須な遺伝子である 口頭発表 大木理恵子 日本癌学会年会 2015年10月8日。於：名古屋 国内

16. Akt の新規抑制因子をコードする PHLDA3 遺伝子は神経内分泌腫瘍のがん抑制遺伝子である 口頭発表 大木理恵子 お茶の水癌学アカデミア集会 2015年5月27日。於：順天堂大学 国内

17. PH domain-only protein PHLDA3 is a novel p53-regulated repressor of Akt and a novel tumor suppressor of neuroendocrine tumors -towards development of tailor-made therapies for neuroendocrine tumors- 口頭発表 大木理恵子 シンポジウム 『最先端医用画像処理と次世代がん治療装置(BNCT)』 2015年5月16日。於：OIST 国内

18. 新規がん関連遺伝子のクローニングと機能解析 ~膵神経内分泌腫瘍における新規

がん抑制遺伝子の同定~ 口頭発表 大木理恵子 東北大学病院 消化器外科学・講演会 2015年5月13日。於：東北大学 国内

19. PH domain-only protein PHLDA3 is a novel p53-regulated repressor of Akt and a novel tumor suppressor of neuroendocrine tumors 口頭発表 大木理恵子 2015 SNUCR1 Cancer Symposium 2015年4月2日。於：韓国 国外

ポスター発表 (国内6、海外1)

1. IER5 generates a novel hypo-phosphorylated active form of HSF1 and contributes to tumorigenesis. Rieko Ohki, Yoshinori Asano. Tenth AACR-JCA Joint Conference on Breakthroughs in Cancer Research. 2016年2月 於ハワイ 国外。

2. PHLDA3 遺伝子は下垂体神経内分泌腫瘍の新規がん抑制遺伝子である。 峯岸舞子、齋藤梢、チンヨ、會田雪絵、川瀬竜也、山田正三、並木秀男、仙波憲太郎、大木理恵子 2015年12月、日本分子生物学会

3. p53 標的遺伝子 PAD5 は HSF1 を活性化することによってがん化を促進する。 浅野良則、川瀬 竜也、建部 聡子、田代 文夫、並木 秀男、仙波 憲太郎、大木 理恵子 2015年12月、日本分子生物学会

4. PHLDA3 遺伝子と MEN1 遺伝子による膵内分泌腫瘍抑制機構の解明。 チン ヨ、齊藤 梢、會田 雪絵、並木 秀男、仙波 憲太郎、大木 理恵子 2015年12月、日本分子生物学会

5. 新規 Akt 抑制因子 p53PAD9 の同定と機能解析。 嶋田 真由奈、高野 悠平、川瀬 達也、加藤 尚志、仙波 憲太郎、大木 理恵子 2015年12月、日本分子生物学会

6. PHLDA3 遺伝子と MEN1 遺伝子による膵内分泌腫瘍抑制機構の解明。 チン ヨ、齊藤 梢、會田 雪絵、並木 秀男、仙波 憲太郎、大木 理恵子 2015年12月、日韓がんワークショップ

7. Establishment and analysis of a novel malignant gastric cancer mouse model harboring loss of tumor suppressor gene p53. Junko Ohtsuka, Issei Ezawa, Hideo Namiki, Ryo Abe, Masanobu Oshima, Rieko Ohki 日本癌学会年会 2015年10月10日。於：名古屋 国内

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 2 件)

(1)

出願番号：特願 2014-107529

発明者：大木理恵子、角昭一郎、坂田直昭

発明の名称：移植材料及びその調製

出願人：京都大学、東北大学  
出願日：2014年5月23日

(2)

出願番号：PCT/JP2015/064792  
発明者：大木理恵子、角昭一郎、坂田直昭  
発明の名称：移植材料及びその調製方法  
出願人：京都大学、東北大学、大木理恵子  
出願日：2015年5月22日

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

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者  
大木理恵子(OHKL, Rieko)  
国立がん研究センター研究所・基礎腫瘍学ユニット・独立ユニット長  
研究者番号：70356252

(2)研究分担者  
( )

研究者番号：

(3)連携研究者  
( )

研究者番号：

(4)研究協力者  
( )