

令和 4 年 6 月 5 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H04030

研究課題名(和文)大腸がんの遺伝的多様性が促進する集団的悪性化機構の研究

研究課題名(英文) Mechanism of heterogeneity-induced colon cancer malignant progression

研究代表者

大島 正伸 (OSHIMA, Masanobu)

金沢大学・がん進展制御研究所・教授

研究者番号：40324610

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,900,000円

研究成果の概要(和文)：大腸がん組織を構成するがん細胞の遺伝的な多様性が関与する悪性化機構について、ドライバー遺伝子変異マウスモデルおよびオルガノイドモデルを用いて研究を実施した。その結果、粘膜下浸潤や脈管浸潤などの原発巣の悪性化や、転移巣形成に関与するドライバー遺伝子変異の組み合わせやp53変異の関与を明らかにした。さらに、転移能を獲得したがん細胞が肝組織内に線維性微小環境を形成し、それにより非転移性がん細胞の生存や増殖が促進されて、ポリクローナル転移巣が形成されることを明らかにした。以上の成果は、大腸がんの悪性化および転移機構に関する新しい概念の樹立に貢献が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんによる死亡原因の多くは転移再発が占めており、その克服のためにも悪性化および転移機構の理解は重要な研究課題である。これまでに、遺伝子変異の蓄積が悪性化を誘導する「多段階発がん」の概念が樹立している一方で、がん組織における遺伝的多様性が悪性化に関与することも指摘されている。本研究成果は、遺伝学的解析により、粘膜下浸潤や転移等の悪性化を誘導するp53遺伝子を含むドライバー遺伝子変異の関与を明らかにし、多段階発がん機構の理解を広げた。さらに、遺伝的多様ながん細胞集団によるポリクローナル転移機構を個体レベルで明らかにしたことで、新たながん転移機構の概念の樹立に貢献した。

研究成果の概要(英文)：In this project, we have examined the role of genetic heterogeneity in malignant progression of intestinal tumors. For this purpose, we have constructed genetically engineered mouse models and tumor-derived organoid transplantation models. By comprehensive histological analysis, we have successfully linked specific combinations of driver mutations to each process of malignant progression, such as submucosal invasion, intravasation, and metastasis. Moreover, we found that malignant metastatic tumor cells induce fibrotic niche generation in the liver by activation of hepatic stellate cells, and non-metastatic cells survive and proliferate in the fibrotic microenvironment, which leads to development of polyclonal metastasis. These results suggest that targeting fibrotic niche generation in the liver will be a possible preventive and therapeutic strategy against colon cancer metastasis.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：大腸がん オルガノイド 多段階発がん ポリクローナル転移 遺伝的多様性

1. 研究開始当初の背景

大腸がん発生や転移・再発などの悪性化には、がん遺伝子やがん抑制遺伝子の変異の蓄積が関与しており、「多段階発がん」としての概念が確立している。また、近年の大規模がんゲノム解析により、*APC*、*KRAS*、*SMAD4*、*TP53*などが大腸がん細胞で高頻度に変異していることが明らかにされ (The Cancer Genome Atlas Network, *Nature*, 2012)、これらの遺伝子変異の蓄積が大腸がんの発生および悪性化を誘導すると考えられた。実際に、正常ヒト腸管細胞にこれらのドライバー遺伝子変異をゲノム編集等により導入すると、細胞ががん化することが報告された (Matano et al, *Nat Med*, 2015; Drost et al, *Nature* 2015)。以上のように多段階発がん説は、遺伝子変異とクローン選択の繰り返しが腫瘍細胞の悪性化を誘導するというダーウィン進化の理論に類似した概念である。しかし、どの遺伝子変異の組み合わせが、生体内でどのような悪性化形質を誘導するのかは、十分に理解されていなかった。

一方で、実際のがん組織は遺伝子変異型の異なる細胞集団が混在し、遺伝的多様性があることが知られている。また、大腸がん原発巣で、多くのドライバー変異がすでに蓄積しており (Uchi et al, *PLoS Genet*, 2016; Sottoriva et al, *Nat Genet*, 2015)、転移巣形成には遺伝子変異だけでは説明されないメカニズムの存在が考えられた。その一つとして、遺伝的多様性を持ったがん細胞集団が、クラスターを形成したまま遠隔臓器に到達して転移巣を形成するという、「ポリクローナル転移」機構が提唱された (Aceto et al, *Cell*, 2014)。しかし、クラスターを構成するがん細胞がどのように選択され、それがどのように転移巣を形成するかは不明だった。

研究代表者らは、多段階発がんによる大腸がん悪性化機構、および遺伝的多様性を持つ細胞集団による転移機構を明らかにする目的で、5種類の大腸がんドライバー遺伝子変異、*Apc*⁴⁷¹⁶、*Kras*^{G12D}、*Tgfr2*^{-/-}、*Trp53*^{R270H}、*Fbxw7*^{-/-} (それぞれ A、K、T、P、F と略す) に着目し、各遺伝子変異マウスの交配実験により、さまざまな組み合わせでドライバー遺伝子変異を導入したマウスモデルを作製し、さらに腸管に発生した腫瘍組織からオルガノイド細胞株を樹立した。本研究は、これらのマウスモデルおよびオルガノイドの移植モデルを用いて実施した。

2. 研究の目的

上記の学術的背景を基盤とし、本研究は「がん組織を構成する腫瘍細胞の遺伝学的多様性が、どのようにがんの悪性化進展に関与しているのか」を理解することを主目的とし、原発巣での悪性化過程、および転移巣形成過程に着目して、作製したモデルシステムを用いた研究を推進する。具体的には、以下の項目について研究を推進した。

「原発巣悪性化過程の研究」では、多様な組み合わせで遺伝子変異を導入したマウスモデルに発生した腫瘍の病理学的解析により、特定の悪性化プロセスを誘導する遺伝子変異を明らかにすることで、従来から考えられた多段階発がんの理解を広げる。また、遺伝子変異の組み合わせや悪性化形質の異なる腸管腫瘍組織からオルガノイドを樹立し、細胞表面の物理学的性質を計測し、遺伝子変異の組み合わせが誘導するナノレベルの物性変化を明らかにする。物性変化に関する知見は、遺伝子変異と悪性化の相関を理解する上で、将来的に重要な知見となる。

「転移巣形成過程の研究」では、上記で作製した遺伝子変異と悪性度の異なる多様ながん細胞由来オルガノイドを用いて、脾臓移植による肝転移モデルを作製し、それを用いた解析により、ポリクローナル転移機構について個体レベルで検証する。とくに、転移性の異なる細胞集団がどのように転移巣を形成するのかに着目し、移植実験や病理解析、およびイメージング解析等により明らかにする。

がんによる死亡原因の多くは転移再発であり、転移機構の本態解明は、がんの克服に向けた重要な研究課題である。本研究成果により、遺伝子変異に起因したがん悪性化機構を明らかにし、遺伝的に多様ながん細胞集団による転移機構を明らかにすることは、がんの基礎研究の発展に貢献するだけでなく、大腸がんの転移を標的とした、新規治療薬の開発戦略に重要な知見を提供することが期待される。

3. 研究の方法

(1) 原発巣悪性化過程の解析

大腸がん発生および悪性化に関わるドライバー遺伝子変異、*Apc*⁴⁷¹⁶、*Kras*^{G12D}、*Tgfr2*^{-/-}、*Trp53*^{R270H}、*Fbxw7*^{-/-}を導入したマウスモデルの交配実験により、多重遺伝子変異の導入マウスモデル (A、AK、AT、AP、AKP、ATP、AKT、AKTP、AKTF、AKTPF) を作製した。これらのマウスモデルの腸管に発生する腫瘍組織を病理学的および免疫組織学的に解析した。また、以上のモデルマウスに発生した腸管腫瘍組織から腫瘍細胞を採取し、マトリゲル中で培養するオルガノイド系統を樹立し、RNA シークエンスによる遺伝子発現解析を行った。また、オルガノイドをマウス脾臓に移植し、肝転移巣の形成機構について病理学的解析を行った。

作製したオルガノイドの *Trp53* 遺伝子変異は R270H/+ のヘテロ接合体のため、転移したがん細胞における LOH による野生型 *Trp53* 遺伝子の欠損について解析した。その目的のため、脾臓移植腫瘍および肝転移巣の組織切片から、レーザーマイクロダイセクション (LMD) 顕微鏡により腫瘍細胞だけを採取し、ゲノム DNA を調製して p53 遺伝子特異的なゲノム PCR を行った。さらに、p53 遺伝子変異による転移促進機構の解析のため、異なる p53 遺伝子変異を持つ AKTP 細胞を作製し、*in vitro* でのシングルセルからの増殖実験、*in vivo* での少数細胞 (100 個/site) の皮下移植実験、およびオルガノイドを用いた RNA シークエンス解析を実施した。

(2) 腸管腫瘍オルガノイド細胞表面の物性計測

細胞表面の物性を解析するため、金沢大学ナノ生命科学研究所 渡辺信嗣准教授らが開発した高速走査型イオン電流顕微鏡 (High speed-Scanning ion conductance microscope; HS-SICM) を使用した (Watanabe et al, *Rev Sci Instrum*, 90: 123704, 2019)。HS-SICM では、ナノピペットで細胞表面領域 (2 μm \times 2 μm) をスキャンし、ピペット内外のイオン電流変化の計測により、ナノスケールでの細胞表面構造および各種物性についてライブイメージで解析が可能である。

マトリゲル中で継代培養した悪性度の異なるオルガノイド (A, AK, AKF, AKT, AKP, AKTP, AKTPF) を、培養ディッシュ上で二次元培養し、ナノピペットにより 2 μm \times 2 μm のフレームを 20~25 回 (約 10 分) 連続スキャンして細胞表面構造を解析した。また取得した値を用いて、volume change、roughness、elastic modulus などの物性を計算し、物性変化が遺伝子変異や悪性化形質と相関するか解析した。

(3) ポリクローナル転移機構の解析

高転移性の AKTP オルガノイド細胞と、非転移性のオルガノイド細胞 (A, AK, AT, AP) を、それぞれ Venus と TdTomato で蛍光タンパク標識し、混在させてマウス脾臓組織に移植し、肝転移巣について透明化技術 (CUBIC) を用いたイメージング解析、および蛍光顕微鏡を用いた組織学的解析を実施した。また、ジフテリア毒素受容体 (DTR) を発現する AKTP-DTR 細胞を作製し、肝転移巣形成後にマウスにジフテリア毒素を投与し、転移巣からがん細胞を枯渇させる実験系を樹立した。AKTP-DTR 細胞と非転移性 AP 細胞をマウス脾臓に共移植し、移植後 2 週間目からジフテリア毒素を 5 週間連続投与し、残存する非転移細胞による転移巣形成についてイメージングにより解析した。

肝臓における線維性微小環境に依存的な転移巣形成について解析するため、TGF- β 受容体遺伝子 (*Tgfr2*) 欠損マウスに AKTP 細胞の移植実験を行った。TGF- β は、肝星細胞 (hepatic stellate cell; HSC) の活性化により線維性微小環境形成を誘導すると考えられる。タモキシフェン投与後 2~3 週間での転移巣形成および線維性微小環境形成について、病理学的解析を実施した。

4. 研究成果

(1) ドライバー変異の蓄積による原発巣悪性化過程の解析

Apc^{A716} 単独変異マウス (A) は、腸管粘膜内に局在する良性腫瘍 (腺腫) を発生する (Oshima et al, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995)。*Apc* 遺伝子変異に加えて *Tgfr2* 変異または *Trp53* 機能獲得型 (gain-of-function; GOF) 変異が導入されると、腸管腫瘍の粘膜下浸潤が誘導される (Oshima et al, *Cancer Res*, 2015; Nakayama et al, *Oncogene*, 2017)。本研究において、すべての遺伝子型変異のマウス腸管腫瘍を病理解析した結果、AT または AP の変異を持った個体すべてで粘膜下浸潤した腺がんの発生を確認した (Sakai et al, *Cancer Res*, 2018) (図 1)。さらに、*Kras* 変異を導入したマウス (AKT, AKP 変異を含むマウス) では、粘膜下浸潤領域で腫瘍細胞の腺管構造が消失し、細胞塊クラスターを形成する上皮間葉転換 (EMT) 様の構造変化を示し、リンパ管または毛細血管内への腫瘍細胞の浸潤を認めた (図 1)。

一方で、本研究で作製したマウスでは腸管腫瘍から他の臓器への自然転移は認められなかったため、各種遺伝子変異型マウスの腸管腫瘍からオルガノイドを樹立し、それをマウス脾臓に移植した際の肝転移巣の形成について解析した。その結果、AKT 変異の組み合わせを持つオルガノイド、すなわち AKT, AKTP, AKTPF 細胞が、高頻度に肝転移巣を形成することが個体モデルの研究により再現して確認された (図 1)。

これらのオルガノイドを用いた RNA シークエンスを行い、遺伝子発現解析した結果、AKT 変異に特異的な遺伝子群が特定され (図 2)、その中に転移促進に関与する分子をコードする遺伝子が含まれると考えられた。本研究成

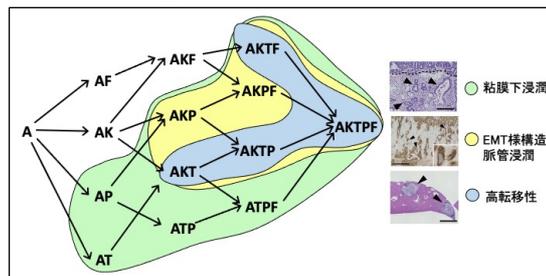


図 1. 遺伝子変異の蓄積と腸管主要悪性化形質の相関。

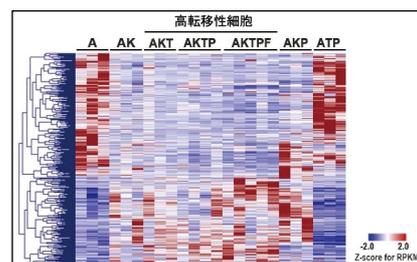


図 2. 高転移性細胞に特異的な遺伝子発現変化。

果により、従来の多段階発がん説の理解を、遺伝子変異と悪性化プロセスの相関の観点から、より深化させ、確認することができた。

(2) p53 遺伝子変異型と転移巣形成促進

ヒトのがん組織で認められる p53 変異の約 75% はミスセンス変異であり、R273H などのアミノ酸変異を誘導する複数のホットスポットが知られている。これらミスセンス変異型 p53 は、新たに発がん促進機能を獲得していることから、機能獲得型変異 (Gain-of-function; GOF 変異) と呼ばれ、オンコジーンとして機能する。上述の解析で作製したオルガノイドの *Trp53* 変異は、R270H/+ のヘテロ接合体である (ヒト R273H 変異に相当)。一方で、ヒトの悪性化がん組織では、野生型 p53 の LOH (loss of heterozygosity) による欠損が認められる。本研究では、GOF 変異型 p53 の発現と野生型 p53 の LOH による欠損による転移促進について解析を進めた。

AKTP 細胞を脾臓移植して形成された肝転移巣のがん細胞を採取して解析した結果、約 50% の転移巣で野生型 p53 を LOH により欠損していた (図 3)。この結果は、AKTP の 4 遺伝子変異に加えて、野生型 p53 遺伝子の LOH による欠損が転移促進に作用することを示す。各種 *Trp53* 遺伝子型の AKTP 細胞をシングルセル化してから培養すると、*Trp53*^{R270H/LOH} 細胞で、*Trp53*^{-/-} 細胞や *Trp53*^{R270H/+} 細胞と比較して有意に生存と増殖が亢進した。また、少数の AKTP 細胞を皮下移植 (100 個/site) したマウスにおける皮下腫瘍形成効率には、*Trp53*^{R270H/LOH} 細胞で 80% と最も高く、*Trp53*^{-/-} 細胞、*Trp53*^{R270H/+} 細胞、*Trp53*^{+/+} 細胞で、それぞれ 50%、36%、0% だった。

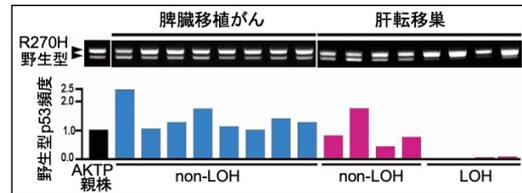


図 3. 肝転移巣における野生型 p53 遺伝子の LOH。

各種 *Trp53* 遺伝子型のオルガノイドの RNA シークエンス結果を用いて Ingenuity Pathway 解析 (IPA) を実施した結果、*Trp53* 遺伝子のホモ欠損により幹細胞関連遺伝子が誘導され、GOF 型 *Trp53* 変異と、LOH による野生型 *Trp53* 欠損により、炎症関連シグナルや増殖因子 MAPK 経路遺伝子の発現が誘導された。したがって、*Trp53* の GOF と LOH の組み合わせは、これらの経路を活性化して播種された少数細胞の生存を亢進し、転移巣形成を促進すると考えられた (図 4)。以上の結果をまとめて論文発表した (Nakayama et al., *Nat Commun.*, 12: 863, 2020)。

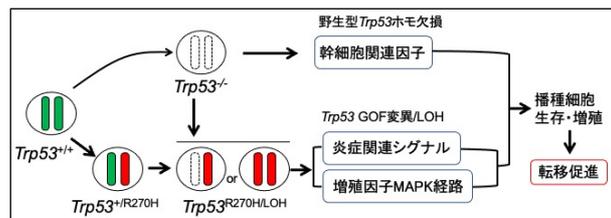


図 4. *Trp53* 遺伝子の GOF 変異と LOH による転移促進機構。

(2) HS-SICM による腸管腫瘍オルガノイドの物性計測

本研究で樹立したオルガノイドから、良性腫瘍 (A, AK, AKF)、低転移性腺がん (AKP, AKT)、高転移性腺がん (AKTP, AKTPF) を選び、HS-SICM による生細胞の表面計測を実施した。

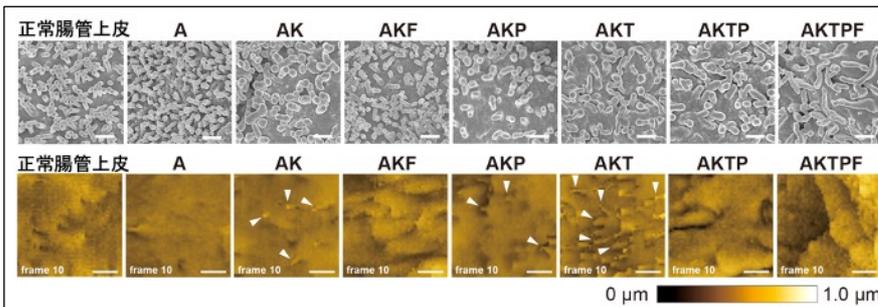


図 5. 各遺伝子型オルガノイド細胞表面構造。(上段) SEM 画像 (下段) HS-SICM 画像 Scale bars : 500nm

最初に走査型電子顕微鏡 (SEM) により各遺伝子型オルガノイド細胞表面を解析したが、どの細胞でも類似した微絨毛構造が認められ、遺伝子型に特徴的な構造は見られなかった (図 5 上段)。一方で、HS-SICM 解析の結果、高転移性腺がん細胞 (AKTP, AKTPF) と AKF の細胞表面にはマイクロリッジと呼ばれる畝状構造が認められ、それ以外の遺伝子型細胞では微絨毛構造が観察された (図 5 下段、写真: 矢頭)。SEM では固定操作等によりこれらの構造が見られなくなった可能性が考えられた。

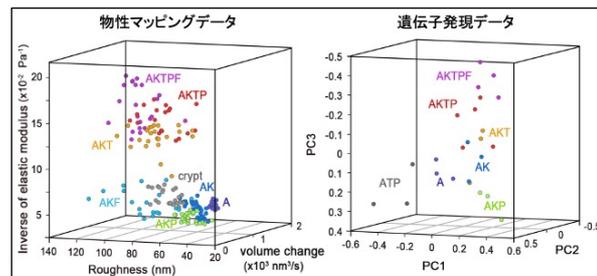


図 6. HS-SICM 物性マッピング (左) と発現データを用いた主成分解析。

さらに、スキャン領域のフレーム間の細胞膜上下動を volume change、フレーム内構造の高さ

の標準偏差 (SD) を roughness、細胞膜表面弾性率の逆数 (柔らかさ) を Inverse of elastic modulus として、各遺伝子型細胞表面の値を計算し、3D プロットしたグラフを示す (図 6 左)。HS-SICM によって計測した物性マッピングにより、転移性オルガノイド AKT、AKTP、AKTPF は、良性腫瘍および低転移性腺がん細胞と明確に異なる物性を示すことが初めて明らかとなった。

興味深いことに、これらのオルガノイドの RNA シークエンス結果を用いて主成分解析を行った 3D プロットグラフ (図 6 右) のドット分布は物性マッピングと類似しており、遺伝子変異に起因した遺伝子発現プロファイルの変化と、細胞表面の物性変化に相関があることが示された。以上の結果をまとめて論文発表した (Wang et al, *Biomaterials*, 280: 121256, 2022)。

(3) 遺伝的多様性が関与するポリクローナル転移機構の解析

上記で作製した、*Trp53*^{R270/LOH} 型の AKTP 細胞を高転移性オルガノイドとして Venus で標識した。また、良性腫瘍の A、AK、および非転移性浸潤がんの AP オルガノイドをそれぞれ TdTomato で標識し、それぞれ AKTP 細胞と 1:1 の割合で混在させて脾臓移植した。その結果、A、AK 細胞は転移巣を形成しなかったが、AP 細胞は AKTP 細胞と混在したキメラ状の転移巣 (すなわちポリクローナル転移巣) を形成した (図 7)。この結果は、非転移性がん細胞でも、転移能を獲得したがん細胞とクラスターを形成して転移巣を形成し得ることを示している。

さらに、AKTP-DTR 細胞と AP 細胞の脾臓への同時移植により、ポリクローナル転移巣を形成させ、マウスにジフテリア毒素を投与して AKTP-DTR 細胞を枯渇させる実験を実施した。肝転移巣のイメージング解析の結果、ジフテリア毒素投与により AKTP-DTR 細胞の枯渇が認められ、残存した AP 細胞は増殖を続けて大きな転移巣を形成した (図 8 右)。すなわち、ポリクローナル転移機構により転移した非転移性がん細胞は、転移巣成立後は転移性がん細胞に依存せずに増殖を続けることが明らかとなった。

AKTP 細胞による肝転移巣では線維性微小環境が形成される。肝臓では TGF- β 刺激により肝星細胞 (hepatic stellate cells; HSC) が活性化して線維性病変を形成することから、TGF- β II 型受容体遺伝子 (*Tgfb2*) 欠損マウスの脾臓への AKTP 細胞移植実験を実施した。その結果、宿主側の TGF- β シグナル遮断により肝臓組織の AKTP 細胞周囲の線維性微小環境の形成が抑制され、肝転移巣の形成も顕著に抑制された。

以上の研究により、転移能を獲得したがん細胞は、肝臓組織に到達後、線維性微小環境を形成して転移巣を形成する。転移能を獲得していないがん細胞が転移性がん細胞とクラスターを形成して肝臓に到達した場合、転移性がん細胞により線維性微小環境が形成され、それにより非転移性がん細胞の生存と増殖が促進し、ポリクローナル転移巣を形成すると考えられた。以上の結果をまとめて論文発表した (Kok et al, *Nat Commun*, 12: 863, 2021)。

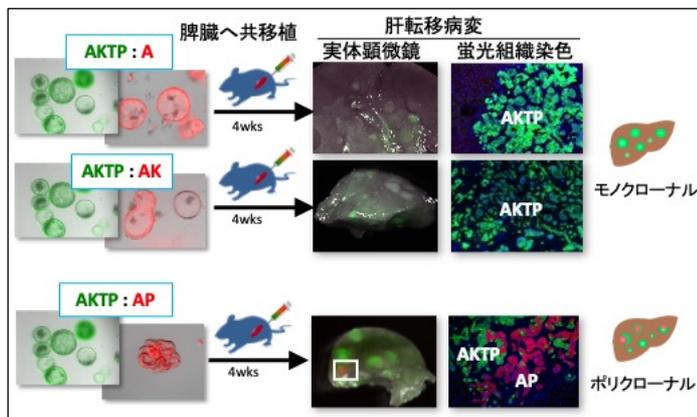


図 7. 転移性オルガノイド (AKTP) と非転移性オルガノイド (A、AK、AP) の脾臓共移植による転移実験。AP はポリクローナル転移する。

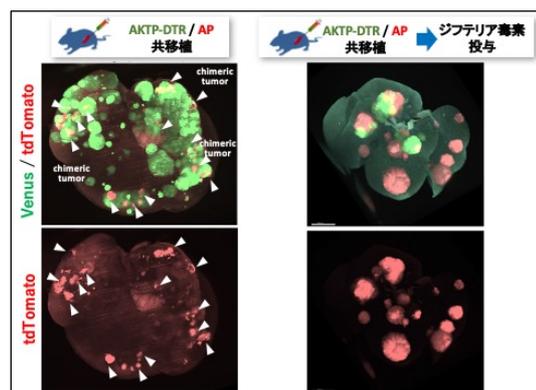


図 8. AKTP-DTR と AP 細胞のポリクローナル転移 (左) と、AKTP-DTR 枯渇後の AP 細胞による腫瘍 (右)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Nakayama Mizuho, Wang Dong, Kok Sau Yee, Oshima Hiroko, Oshima Masanobu	4. 巻 27
2. 論文標題 Genetic Alterations and Microenvironment that Drive Malignant Progression of Colorectal Cancer: Lessons from Mouse and Organoid Models	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Cancer Prevention	6. 最初と最後の頁 1~6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15430/JCP.2022.27.1.1	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 Liabeuf Dylan, Oshima Masanobu, Stange Daniel E., Sigal Michael	4. 巻 162
2. 論文標題 Stem Cells, Helicobacter pylori, and Mutational Landscape: Utility of Preclinical Models to Understand Carcinogenesis and to Direct Management of Gastric Cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 1067~1087
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1053/j.gastro.2021.12.252	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 該当する
1. 著者名 Yamamoto Daisuke, Oshima Hiroko, Wang Dong, Takeda Haruna, Kita Kenji, Lei Xuelian, Nakayama Mizuho, Murakami Kazuhiro, Ohama Takashi, Takemura Hirofumi, Toyota Mutsumi, Suzuki Hiromu, Inaki Noriyuki, Oshima Masanobu	4. 巻 257
2. 論文標題 Characterization of RNF43 frameshift mutations that drive Wnt ligand and R spondin dependent colon cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 39~52
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/path.5868	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 Wang Dong, Sun Linhao, Okuda Satoru, Yamamoto Daisuke, Nakayama Mizuho, Oshima Hiroko, Saito Hideyuki, Kouyama Yuta, Mimori Koshi, Ando Toshio, Watanabe Shinji, Oshima Masanobu	4. 巻 280
2. 論文標題 Nano-scale physical properties characteristic to metastatic intestinal cancer cells identified by high-speed scanning ion conductance microscope	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomaterials	6. 最初と最後の頁 121256~121256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biomaterials.2021.121256	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 Tsuiji Toshikatsu, Maeda Yusuke, Kita Kenji, Murakami Kazuhiro, Saya Hideyuki, Takemura Hirofumi, Inaki Noriyuki, Oshima Masanobu, Oshima Hiroko	4. 巻 40
2. 論文標題 FOXO3 is a latent tumor suppressor for FOXO3-positive and cytoplasmic-type gastric cancer cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oncogene	6. 最初と最後の頁 3072 ~ 3086
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41388-021-01757-x	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 Kok Sau Yee, Oshima Hiroko, Takahashi Kei, Nakayama Mizuho, Murakami Kazuhiro, Ueda Hiroki R., Miyazono Kohei, Oshima Masanobu	4. 巻 12
2. 論文標題 Malignant subclone drives metastasis of genetically and phenotypically heterogenous cell clusters through fibrotic niche generation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 863
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-21160-0	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 Nakayama Mizuho, Hong Chang Pyo, Oshima Hiroko, Sakai Eri, Kim Seong-Jin, Oshima Masanobu	4. 巻 11
2. 論文標題 Loss of wild-type p53 promotes mutant p53-driven metastasis through acquisition of survival and tumor-initiating properties	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2333
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-16245-1	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 該当する

1. 著者名 Takeda Haruna, Kataoka Shiho, Nakayama Mizuho, Ali Mohamed A. E., Oshima Hiroko, Yamamoto Daisuke, Park Jun-Won, Takegami Yujiro, An Tadaichi, Jenkins Nancy A., Copeland Neal G., Oshima Masanobu	4. 巻 116
2. 論文標題 CRISPR-Cas9 mediated gene knockout in intestinal tumor organoids provides functional validation for colorectal cancer driver genes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 15635 ~ 15644
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1904714116	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 該当する

1. 著者名 Han Tae-Su, Voon Dominic Chih-Cheng, Oshima Hiroko, Nakayama Mizuho, Echizen Kanae, Sakai Eri, Yong Zachary Wei Ern, Murakami Kazuhiro, Yu Liang, Minamoto Toshinari, Ock Chan-Young, Jenkins Brendan J., Kim Seong-Jin, Yang Han-Kwang, Oshima Masanobu	4. 巻 156
2. 論文標題 Interleukin 1 Up-regulates MicroRNA 135b to Promote Inflammation-Associated Gastric Carcinogenesis in Mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 1140 ~ 1155.e4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1053/j.gastro.2018.11.059	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 該当する

1. 著者名 Echizen Kanae, Horiuchi Keigo, Aoki Yayoi, Yamada Yoichi, Minamoto Toshinari, Oshima Hiroko, Oshima Masanobu	4. 巻 38
2. 論文標題 NF- B-induced NOX1 activation promotes gastric tumorigenesis through the expansion of SOX2-positive epithelial cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncogene	6. 最初と最後の頁 4250 ~ 4263
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41388-019-0702-0	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 Nakayama Mizuho, Oshima Masanobu	4. 巻 11
2. 論文標題 Mutant p53 in colon cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Molecular Cell Biology	6. 最初と最後の頁 267 ~ 276
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jmcb/mjy075	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 Oshima Hiroko, Kok Sau-Yee, Nakayama Mizuho, Murakami Kazuhiro, Voon Dominic Chih-Cheng, Kimura Takashi, Oshima Masanobu	4. 巻 33
2. 論文標題 Stat3 is indispensable for damage induced crypt regeneration but not for Wnt driven intestinal tumorigenesis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 1873 ~ 1886
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.201801176R	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 Echizen Kanae, Oshima Hiroko, Nakayama Mizuho, Oshima Masanobu	4. 巻 68
2. 論文標題 The inflammatory microenvironment that promotes gastrointestinal cancer development and invasion	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Advances in Biological Regulation	6. 最初と最後の頁 39 ~ 45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbior.2018.02.001	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24件 (うち招待講演 16件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Oshima Masanobu
2. 発表標題 Malignant cancer cells drive polyclonal metastasis through fibrotic niche generation.
3. 学会等名 The 39th Sapporo International Cancer Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大島正伸、中山瑞穂、大島浩子
2. 発表標題 がん微小環境ネットワークを制御するシグナルを標的とした治療法の開発
3. 学会等名 第42回日本炎症・再生医学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Oshima Masanobu
2. 発表標題 Gastric cancer mouse model: inflammation, genetic alteration, and impaired differentiation.
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nakayama Mizuho、Oshima Hiroko、Oshima Masanobu
2. 発表標題 Gain-of-function mutant p53 hyperactivates Wnt signaling in colon cancer cells.
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Oshima Hiroko、Nakayama Mizuho、Takahashi Kei、Miyazono Kohei、Oshima Masanobu
2. 発表標題 The fibrotic microenvironment that promotes polyclonal metastasis of intestinal tumors.
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Oshima Masanobu
2. 発表標題 Tumor-derived organoids to study gastrointestinal cancer metastasis.
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Oshima Hiroko、Kok Sau-Yee、Takahashi Kei、Nakayama Mizuho、Miyazono Kohei、Oshima Masanobu
2. 発表標題 Polyclonal metastasis of colon cancer subclones through fibrotic niche generation.
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 Nakayama Mizuho、Hong Chang Pyo、Oshima Hiroko、Sakai Eri、Kim Seon-Jin、Oshima Masanobu
2. 発表標題 Loss of wild-type p53 promotes colon cancer metastasis that express gain-of-function mutant p53.
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 Oshima Masanobu
2. 発表標題 Inflammation and cancer development.
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Oshima Masanobu
2. 発表標題 How genetic alterations promote malignant progression of colon cancer?
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Oshima Masanobu
2. 発表標題 Gain-of-function mutation of p53 for malignant progression of cancer
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大島正伸
2. 発表標題 炎症とがん転移
3. 学会等名 第41回日本炎症・再生医学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大島正伸, 中山瑞穂, Dong Wang, 大島浩子, 渡辺信嗣
2. 発表標題 大腸がんの悪性化進展における炎症性バイオマーカー
3. 学会等名 第40回日本分子腫瘍マーカー研究会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nakayama Mizuho, Sakai Eri, Oshima Hiroko, Tan Patrick, Oshima Masanobu
2. 発表標題 p53-loss of heterozygosity with p53 gain-of-function mutation leads to cancer dormancy of intestinal tumors.
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 Kok Sau-Yee, Oshima Hiroko, Sakai Eri, Nakayama Mizuho, Oshima Masanobu
2. 発表標題 Mechanism for intestinal tumor metastasis by polyclonal origins.
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 Oshima Hiroko、Maeda Yuichi、Tsuji Toshikatu、Oshima Masanobu
2. 発表標題 Regulation of Foxo3a localization in gastric cancer cells.
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 Oshima Masanobu
2. 発表標題 Biological mechanism of polyclonal metastasis of colorectal cancer.
3. 学会等名 50th Commemorative International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Oshima Masanobu
2. 発表標題 Multistep tumorigenesis and polyclonal metastasis of colon cancer.
3. 学会等名 24th Annual Meeting of the Korean Society of Cancer Prevention (KSCP) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大島正伸
2. 発表標題 遺伝学的アプローチによる大腸がん悪性化研究の新展開
3. 学会等名 第1回日本遺伝学会春季分科会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Oshima Masanobu
2. 発表標題 Comprehensive phenotype characterization of colon cancer with various combination of driver mutations.
3. 学会等名 9th General Assembly and International Conference of Asian Pacific Organization for Cancer Prevention (APOCP) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Oshima Masanobu
2. 発表標題 Combined driver mutations for malignant progression of intestinal tumorigenesis.
3. 学会等名 37th Sapporo International Cancer Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大島正伸
2. 発表標題 多重ドライバー変異による大腸がん悪性化モデル研究
3. 学会等名 第65回日本実験動物学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Oshima Masanobu、Nakayama Mizuho、Oshima Hiroko
2. 発表標題 Inflammatory microenvironment for malignant progression of colon cancer.
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakayama Mizuho、Sakai Eri、Suzuki Yutaka、Oshima Hiroko、Oshima Masanobu
2. 発表標題 Combination of gain-of-function mutation and lost of wild-type allele in p53 promotes colon cancer tumorigenicity.
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Han Tae-Su、Oshima Masanobu	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 12
3. 書名 Methods in Molecular Biology, Inflammation and Cancer	

1. 著者名 Oshima Hiroko、Ju Xiaoli、Echizen Kanae、Han Tae-Su、Oshima Masanobu	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 17
3. 書名 Research and Clinical Applications of Targeting Gastric Neoplasms	

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計2件

産業財産権の名称 オルガノイド及びその利用	発明者 大島正伸、中山瑞穂、坂井絵梨	権利者 国立大学法人金沢大学
産業財産権の種類、番号 特許、特許第6844786号	取得年 2021年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 転移性オルガノイド及びその利用	発明者 大島正伸、中山瑞穂、坂井絵梨	権利者 国立大学法人金沢大学
産業財産権の種類、番号 特許、米国特許16/330,722	取得年 2022年	国内・外国の別 外国

〔その他〕

金沢大学がん進展制御研究所 腫瘍遺伝学研究分野
<http://genetics.w3.kanazawa-u.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
研究協力者	大島 浩子 (Oshima Hiroko)		
研究協力者	中山 瑞穂 (Nakayama Mizuho)		
研究協力者	王 東 (Wang Dong)		

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			
韓国	ソウル国立大学			