

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25（2013）年 4月 20日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2010～2012年

課題番号：22249051

研究課題名（和文）基幹的細胞調節経路の異常に起因する消化器がんの病態解明とがん制御への応用

研究課題名（英文）Molecular basis of aberrant cellular pathways in gastrointestinal cancer and its application to diagnosis and treatment

研究代表者

源 利成（MINAMOTO TOSHINARI）

金沢大学・がん進展制御研究所・教授

研究者番号：50239323

研究成果の概要（和文）：本研究では、我々が発見した  $\beta$ -カテニン/Tcf 複合体の転写標的分子 CRD-BP のがん促進機能、CRD-BP を介する Wnt と hedgehog (Hh) 経路の交差応答および、がん細胞の極性喪失にともなう細胞接着因子の発現変化と  $\beta$ -カテニン活性化の関連など、新しい視点から  $\beta$ -カテニンがん化経路の病的作用を解明した。また、我々が同定した新規がん標的分子 GSK3 $\beta$  の阻害によるがん細胞の浸潤抑制や治療耐性の改善などのがん治療効果を実証し、GSK3 $\beta$  を標的とする新しい消化器がん治療法の分子機構を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：This study clarified the distinct pathologic roles of oncogenic  $\beta$ -catenin signaling in colorectal cancer (CRC) from the new biological points of view. They include putative pathologic role for coding region determinant-binding protein (CRD-BP), a novel transcriptional target of  $\beta$ -catenin/Tcf complex, in promoting CRC by mediating interaction between Wnt and hedgehog pathways; and the causative relationship among loss of cell polarity, cell adhesion disorder and oncogenic activation of  $\beta$ -catenin in CRC tumorigenesis. We also demonstrated the therapeutic effects of GSK3 $\beta$  inhibition against invasion of gastrointestinal (GI) cancer cells and their resistance to therapies, and uncovered the molecular basis for the novel treatment of GI cancer by targeting GSK3 $\beta$ .

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	12,700,000 円	3,810,000 円	16,510,000 円
2011 年度	11,200,000 円	3,360,000 円	14,560,000 円
2012 年度	8,400,000 円	2,520,000 円	10,920,000 円
年度			
総計	32,300,000 円	9,690,000 円	41,990,000 円

研究分野：腫瘍外科学，分子腫瘍学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：大腸がん，細胞特性，分子特性，診断，治療

## 1. 研究開始当初の背景

我々は、大腸がんを対象に基幹的細胞機能を司る Wnt 経路が異常をきたして固有のがん化シグナルを誘発する仕組みとそれを修飾する分子細胞メカニズムの解明を進めてきた。これまでに、大腸がんの「がん腫-宿主境界」

において、 $\beta$ -カテニン活性化に起因するがん化シグナル回路を明らかにした。この経路で、RNA トランス因子 coding region determinant-binding protein (CRD-BP) が  $\beta$ -カテニン/Tcf 複合体の転写標的であることを発見した。大腸がん細胞の機能解析から、CRD-BP は複数の細胞生存・増殖経路 (Wnt, NF- $\kappa$ B, c-Myc, IGF-II)

における責任分子の mRNA を安定化して、がんの進展に寄与する可能性が示唆された。同様に、hedgehog 経路の指令実行分子 Gli-1 の mRNA 安定化作用を裏付ける予備成果を得た。

細胞増殖・分化の制御作用に加えて、Wnt 経路が細胞の極性制御に重要な役割を示すという知見が集積されていた。そこで、細胞接着と情報伝達につぐ  $\beta$ -カテニンの第3の分子機能に焦点を当て、腸上皮細胞やがん細胞の物質極性輸送への関与が重要であると考えた。

上記の研究過程で我々は、Wnt 経路の制御因子と認識されている glycogen synthase kinase (GSK) 3 $\beta$  が同経路とは関係なく「がん促進機能」を有する新規標的分子であることを発見した。そして、GSK3 $\beta$  阻害によるがん治療効果を大腸がんをはじめとする消化器がん細胞と担がん動物で実証し、本酵素が新しいがん治療標的であると提唱した（国際出願）。Wnt 経路研究から派生した GSK3 $\beta$  を標的とするがん治療法の確立には、その分子機構を明らかにすることが不可欠であると考えた。

## 2. 研究の目的

- (1) 我々が発見した Wnt/ $\beta$ -カテニン経路の新規転写標的分子 CRD-BP の機能解析、CRD-BP を介する Wnt と hedgehog (Hh) 経路の交差応答の可能性および、がん細胞の極性喪失にともなう細胞接着因子の発現変化と  $\beta$ -カテニン活性化の関連性など、新しい視点により  $\beta$ -カテニンがん化経路の病的作用を解明する。
- (2) がん細胞で GSK3 $\beta$  が誘導する固有のリン酸化分子経路の阻害による制がん作用の分子機構を解明し、GSK3 $\beta$  を標的とする消化器がんの新しい治療法の開発に結びつける。

## 3. 研究の方法

### (1) 大腸がんにおける CRD-BP の病的作用

#### ①CRD-BP が細胞生存・増殖経路 (c-Myc, NF- $\kappa$ B) に及ぼす影響

大腸がん細胞について、CRD-BP の発現レベルを  $\beta$ -カテニンの活性化(核局在)や c-Myc の発現 (mRNA, 蛋白質)と比較解析する。また、遺伝子導入や RNA 干渉により CRD-BP の発現を変化させ、それにとまなう c-Myc の発現、NF- $\kappa$ B の核移行や転写活性の変化と、がん細胞の生存性と増殖能を比較解析する。

#### ②CRD-BP を介する Wnt/ $\beta$ -catenin と Hh/Gli-1 経路の交差応答

$\beta$ -catenin/Tcf により誘導される CRD-BP が Gli-1 の発現や活性を変化させるかを検討する。CRD-BP の Gli-1 mRNA に対する結合性は種々の CRD-BP 遺伝子断片を用いて紫外線架橋法 (UV cross-linking) で検出する。Gli-1 mRNA 安定化作用は、Tet-off システムを利用して、遺伝子導入による Gli-1 発現レベルの経時変化に

より判定する。遺伝子導入や RNA 干渉により  $\beta$ -catenin/Tcf や CRD-BP の発現を変化させ、Gli-1 の発現や転写活性の変化を観察する。

#### ③大腸がんにおける CRD-BP 関連分子の発現

大腸がん組織における CRD-BP の発現を  $\beta$ -カテニンの核局在、NF- $\kappa$ B p65 サブユニットの核移行や c-Myc の発現を免疫組織化学染色により比較解析する。約 20 症例を対象に、CRD-BP や c-Myc の発現が関連するかを、定量的 RT-PCR で検証する。また、CRD-BP や関連分子の発現が、がんの病理所見、病期、転移・再発などと関連するかを検討する。

#### ④CRD-BP の hTERT mRNA に対する安定化作用と大腸がん細胞の不死化に果たす役割

CRD-BP の結合配列に基づいて、human telomerase reverse transcriptase (hTERT) の翻訳領域にその標的配列があることを見出した。そこで Gli-1 の場合と同様に、CRD-BP が hTERT mRNA に結合し、安定化するかを検討する。予測される結果が得られる場合には、遺伝子導入や RNA 干渉により  $\beta$ -catenin/Tcf 活性や CRD-BP の発現を変化させ、hTERT の発現、telomerase の活性やがん細胞の不死化/老化に影響を及ぼすかを観察する。

### (2) 腸上皮細胞の極性輸送因子 $\mu$ 1B の異常と大腸がんにおける $\beta$ -カテニン活性化の関連

#### ①AP-1B 複合体のサブユニット $\mu$ 1B の欠損マウスにおける腸上皮細胞の形態と機能解析

E-カドヘリンの発現や局在の異常は  $\beta$ -カテニンの局在に影響を及ぼす。そこで、E-カドヘリンの極性輸送の異常を示す  $\mu$ 1B 欠損マウス(後述)の腸上皮における  $\beta$ -カテニンの発現や局在を正常マウスと比較解析する。また、大腸がん細胞株において、 $\beta$ -カテニン活性化と  $\mu$ 1B の発現を比較解析する。

#### ②大腸がんにおける $\mu$ 1B, E-カドヘリンの発現と $\beta$ -カテニン局在と活性化の比較解析

ヒト大腸がん組織検体を対象に、 $\mu$ 1B の発現を E-カドヘリンと  $\beta$ -カテニンの発現や腫瘍細胞内局在と比較解析する。また、がんの病理所見、病期、転移・再発や予後などとの関連を調べて、 $\mu$ 1B 発現が大腸がん病態診断の新しいバイオマーカーになるかを検討する。

### (3) GSK3 $\beta$ 阻害による消化器がん抑制効果とその分子メカニズムの検討

#### ①GSK3 $\beta$ 阻害によるがん細胞の形態や運動能・浸潤性の変化

複数のヒト大腸がん細胞と膵がん細胞を対象に、GSK3 $\beta$  阻害が細胞運動能や浸潤性に及ぼす効果をスクラッチテスト(wound healing assay)と Boiden chamber assay により観察、計測する。細胞浸潤性の変化は、培養系にマトリゲルを添加した状態で計測する。GSK3 $\beta$  活性阻害剤は、その特異性が高いことが証明さ

れている AR-A014418 を、また、酵素発現阻害には RNA 干渉法を使用する。

#### ② GSK3 $\beta$ 阻害によりがん細胞に生じる形態や浸潤性変化の分子機構

GSK3 $\beta$  阻害による細胞形態の変化については浸潤や転移に関わる EMT (epithelial-mesenchymal transition) に着目し、snail などの EMT 関連分子を解析する。細胞運動や浸潤性の形態学的指標として、葉状仮足 (lamellipodia) の計測と細胞内アクチンの局在変化を観察する。これらの細胞現象にともなう分子として、focal adhesion kinase (FAK), Rac1 などを中心に、GSK3 $\beta$  阻害による各分子の発現、リン酸化や活性の変化を解析する。

#### ③ 新規 GSK3 $\beta$ 阻害剤や GSK3 $\beta$ 阻害作用が証明された既存医薬品のがん抑制効果

新規阻害剤は上記の AR-A014418 の構造をもとに本学薬学系で合成した 3 種類の化合物を使用する。医薬品では、GSK3 $\beta$  阻害作用が以前から知られているリチウム (双極性障害治療薬) と、*in silico* 構造解析等から同阻害作用が判明したバルプロ酸 (抗てんかん薬)、シメチジン ( $H_2$  受容体拮抗薬)、オランザピン (統合失調症治療薬)、ハイドロキシクロロキン (マラリア治療薬)、ゲミフロキサシン (ニューキノロン抗菌剤) を使用する。これらの新規阻害剤や既存医薬品が、がん細胞の GSK3 $\beta$  を阻害するかを酵素活性測定法で検証し、大腸がんをはじめとする各種がん細胞の生存や増殖に対する効果を測定する。

#### (4) ヒト消化管がん組織検体の資源化と臨床・分子情報のデータベース化

本学附属病院と市中の基幹病院から組織検体を収集し、核酸、蛋白質などを調整する。大腸がんでは APC, K-ras, p53, MSI などの遺伝子異常を解析する。これらの生物試料、がん病巣のパラフィン切片と分子情報に臨床情報を合わせてデータベース化し、がん組織検体を資源化する。大腸がん、胃がんの各症例から、がん部分 (表層と浸潤部) と非がん部粘膜を選定し、組織アレイを作成する。

### 4. 研究成果

#### (1) 大腸がんにおける CRD-BP の病的作用

$\beta$ -カテニン経路により誘導される CRD-BP は、c-My 発現を安定化するとともに、IkB $\alpha$  の E3 ユビキチン連結酵素  $\beta$ -TrCP1 mRNA の安定化により NF- $\kappa$ B を活性化した。また、Gli-1 mRNA の安定化を介して大腸がん細胞の Wnt/ $\beta$ -カテニン経路と Hh 経路を連結していることを見出した。これにより、CRD-BP は Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナルに応答して、大腸がん細胞の生存や増殖を促進することを明らかにした。

少数の大腸がん症例を対象に、がん組織にお

ける  $\beta$ -カテニン、CRD-BP とその関連分子の発現の相関を定量的 RT-PCR で解析し、上記の細胞レベルでの解析結果を検証した。この結果をもとに、大腸がんの腫瘍組織における CRD-BP 関連分子 ( $\beta$ -TrCP1, c-myc, IGF-II, Gli-1) の発現や局在と臨床データとの関連を解析した。CRD-BP の発現は c-myc や IGF-II と相関した。CRD-BP 発現の高い症例は、リンパ節転移が多く、病期はより進行していた。

したがって、CRD-BP は大腸がんの病態診断や治療の新しい分子指標であると考えられた。なお、本研究の開始当初、CRD-BP は、その結合配列を有する hTERT mRNA を安定化するという仮説のもとに、米国の共同研究者らとともに検証を試みたが、予想された結果は得られなかった。このため、この研究計画は継続しないこととした。

#### (2) 腸上皮細胞の極性輸送因子 $\mu$ 1B の異常と大腸がんにおける $\beta$ -カテニン活性化の相関

AP 複合体は細胞内蛋白質の選別輸送に中心的役割を担う。連携研究者：大野らは、上皮細胞特異的に発現し、基底膜側細胞膜への極性輸送を制御する AP-1B 複合体を発見した。そして、AP-1B サブユニット  $\mu$ 1B の欠損マウスの腸上皮には過形成、微細構造の異常、E-カドヘリンの極性輸送の異常と ErbB2 の局在変位による EGF 系の亢進が観察された。

本研究ではこの解析を継続し、 $\mu$ 1B 欠損マウスにおける腸上皮細胞には、極性の異常に伴う E-カドヘリン/ $\beta$ -カテニンの局在の異常と  $\beta$ -カテニンの核移行の増加ならびに細胞増殖の亢進が観察された。ついで、APC 変異 (APC<sup>min/+</sup>) マウス腸管腫瘍における  $\mu$ 1B、E-カドヘリンの発現と  $\beta$ -カテニンの局在と活性を比較解析した。これにより、細胞レベルで観察された  $\mu$ 1B の発現異常と  $\beta$ -カテニンシグナル活性化の関連を固体レベルで確認した。

これらの細胞、動物レベルの所見を検証するために、ヒト大腸がん組織を対象に解析した。その結果、大腸がんにおける  $\mu$ 1B、E-カドヘリンの発現と  $\beta$ -カテニンの局在と活性が逆相関することを見いだした。したがって、 $\mu$ 1B は  $\beta$ -カテニンの制御により大腸がん抑制作用を示すと考えられた。

#### (3) GSK3 $\beta$ 阻害による消化器がん抑制効果とその分子メカニズム

GSK3 $\beta$  は固有のリン酸化シグナルを介する細胞の代謝、増殖、分化、アポトーシスなどの制御に加えて、生理的な細胞の形態変化や運動性の制御機能が注目されている。とくに、GSK3 $\beta$  の細胞形態変化への関与は snail を介する EMT が、また、細胞骨格の改変や葉状仮足 (lamellipodia) の形成などを通じて細胞運動を促進することが報告されている。そこで、

がん細胞の遊走や浸潤における GSK3 $\beta$  の作用を検討した。

本研究では、大腸がんより強度の浸潤性を特徴とする膵がん細胞を対象に解析した。その結果、GSK3 $\beta$ 阻害により、培養膵がん細胞の遊走や浸潤が抑制されることを見出した。また、浸潤の抑制効果は動物移植腫瘍でも観察された。GSK3 $\beta$ 阻害により EMT 関連分子の発現には一定の変化が観察されなかった。一方、GSK3 $\beta$ 阻害により細胞の遊走や浸潤に特徴的な細胞微細構造である葉状仮足の形成が抑制された。それに伴い、葉状仮足の形成に重要な役割を示す Rac1 の活性化分画が低下し、Rac1 とアクチンフィラメントの細胞辺縁への機能的局在が消失した。また、Rac1 により発現誘導されることが知られているマトリクス分解酵素 MMP-2 の発現や分泌が抑制された。Rac1 活性低下の一因として、FAK の活性化の指標であるリン酸化が抑制された。以上の結果より、GSK3 $\beta$ は FAK/Rac1/MMP-2 経路を介して、がん細胞の遊走と浸潤に重要な役割を果たしていることから、がん浸潤の治療標的であると考えられた。

既存の GSK3 $\beta$ 阻害剤はいずれも疾患治療薬に至っていないことから、GSK3 $\beta$ 阻害効果のがん治療に応用するためには、新しい阻害剤やその代替となる医薬品についてがん抑制効果を調べる必要がある。まず、本学薬学系で合成した3種類の化合物の作用を調べたが、がん細胞の GSK3 $\beta$ 活性阻害効果あるいはがん治療効果は観察されなかった。GSK3 $\beta$ 阻害作用が科学的に証明された既存医薬品は、大腸がん、膵がんと膠芽腫の GSK3 $\beta$ 活性を抑制し、これらの腫瘍細胞に対して抗腫瘍効果（細胞生存・増殖抑制、細胞遊走・浸潤の抑制）を示した。したがって、これらの医薬品は GSK3 $\beta$ 阻害によるがん治療法開発に有用であることが示唆された。

#### (4) ヒト消化管がん組織検体の資源化と臨床・分子情報のデータベース化

大腸がん約一千例と胃がん 230 例の組織検体を集積し、資源化した。これらの検体におけるがん関連遺伝子異常の系統的解析と臨床情報を併せてデータベースを構築した。121 例の大腸がん症例を対象に、富山大学附属病院外科病理学講座および（株）パソロジー研究所と共同で、同一症例のがん組織と正常（非がん部）粘膜が対となるように組織アレイをデザイン、作成した。

2010 年に当研究所が共同利用・共同研究拠点に採択されたことにより、この組織検体資源を「がん進展制御研究所ヒト組織バンク」に移管し、本研究期間の終了後も資源化を継続している。

#### 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 42 件）

- (1) Kitano A, et al, Kawakami K, Minamoto T (他 12 名, 14, 15 番). Aberrant glycogen synthase kinase 3 $\beta$  is involved in pancreatic cancer cell invasion and resistance to therapy. *PLoS One* 8(2):e55289, 2013. doi: 10.1371/journal.pone. 査読有り
- (2) Shimasaki T, Kitano A, Motoo Y, Minamoto T. Aberrant glycogen synthase kinase 3 $\beta$  in pancreatic cancer development, progression and resistance to therapy. *J Carcinog* 11: 15, 2013. doi: 10.4103/1477-3163.100866. 査読有り
- (3) Miyashita T, et al, Ohta T (他 7 名, 9 番目). The severity of duodeno-esophageal reflux influences the development of different histological types of esophageal cancer in a rat model. *Int J Cancer* 132(7): 1496-504, 2013. doi: 10.1002/ijc.27824. 査読有り
- (4) Matsunoki A, Kawakami K, et al, Minamoto T (他 5 名, 2, 8 番目). LINE-1 methylation shows little intra-patient heterogeneity in primary and synchronous metastatic colorectal cancer. *BMC Cancer* 12: 574, 2012. doi: 10.1186/1471-2407-12-574. 査読有り
- (5) Nakajima H, Minamoto T, et al (他 10 名, 11 番目). Loss of HITS (FAM107B) expression in cancer of the multiple organs: a tissue microarray analysis. *Int J Oncol* 2012, in press. doi: 10.3892/ijo.2012.1550. 査読有り
- (6) Loh M, Kawakami K, Minamoto T, et al (他 7 名, 7, 8 番目). Can population differences in chemotherapy outcomes be inferred from differences in pharmacogenetic frequencies? *Pharmacogenomics J* 2012, in press. doi: 10.1038/tj.2012.26. 査読有り
- (7) Kong D, Minamoto T, et al (他 9 名, 5 番目). Inflammation-induced repression of tumor suppressor miR-7 in gastric epithelial cells. *Oncogene* 31 (35): 3949-60, 2012. doi: 10.1038/onc.2011.558. 査読有り
- (8) Shimasaki T, Kawakami K, Minamoto T, et al (他 12 名, 10, 14 番目). Glycogen synthase kinase 3 $\beta$  inhibition sensitizes pancreatic cancer cells to gemcitabine. *J Gastroenterol* 47 (3): 321-33, 2012. doi: 10.1007/s00535-011-0484-9. 査読有り
- (9) Mimura M, Kawakami K, Ohno H, Minamoto T, et al (他 9 名, 4, 9, 11 番目). AP1B plays an important role in intestinal tumorigenesis with the truncating mutation of an APC gene. *Int J*

- Cancer 130 (5): 1011-20, 2012. doi: 10.1002/ijc.26131. 査読有り
- (10) Okamoto K, et al, Ohta T (他 18 名, 20 番目). Angiotensin II enhances epithelial-to-mesenchymal transition through the interaction between activated hepatic stellate cells and the stromal cell-derived factor-1/CXCR4 axis in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Int J Oncol* 41 (2): 573-82, 2012. doi: 10.3892/ijo.2012.1499. 査読有り
- (11) Tomita H, Kawakami K, Minamoto T, et al (他 12 名, 8, 9 番目). Inhibition of gastric carcinogenesis by the hormone, gastrin, is mediated by suppression of TFF1 epigenetic silencing. *Gastroenterology* 140 (3): 879-91, 2011. doi: 10.1053/j.gastro.2010.11.037. 査読有り
- (12) Kawakami K, et al, Minamoto T (他 4 名, 1, 6 番目). Long interspersed nuclear element-1 hypomethylation is a potential biomarker for the prediction of response to oral fluoropyrimidines in micro-satellite stable and CpG island methylator phenotype-negative colorectal cancer. *Cancer Sci* 102(1): 166-74, 2011. doi: 10.1111/j.1349-7006.2010.01776.x. 査読有り
- (13) Motoo Y, et al, Minamoto T (他 4 名, 6 番目). Metabolic disorder, inflammation and deregulated molecular pathways converging in pancreatic cancer development: implications for new therapeutic strategies. *Cancers* 3(1): 446-60, 2011. doi: 10.3390/cancers3010446. 査読有り
- (14) Tsukada T, et al, Ohta T (他 10 名, 12 番目). Adiponectin receptor-1 expression is associated with good prognosis in gastric cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 30: 107, 2011. doi: 10.1186/1756-9966-30-107. 査読有り
- (15) Watanabe T, Ohta T, et al (他 14 名, 12 番目). Sodium valproate blocks the transforming growth factor (TGF)- $\beta$ 1 autocrine loop and attenuates the TGF- $\beta$ 1-induced collagen synthesis in a human hepatic stellate cell line. *Int J Mol Med* 28 (6): 919-25, 2011. doi: 10.3892/ijmm.2011.768. 査読有り
- (16) Peterson AJ, Kawakami K, Minamoto T, et al (他 8 名, 6, 7 番目). Helicobacter pylori infection promotes methylation and silencing of trefoil factor 2, leading to gastric tumor development in mice and humans. *Gastroenterology* 139 (6): 2005-17, 2010. doi: 10.1053/j.gastro.2010.08.043. 査読有り
- (17) Nakajima H, Kawakami K, Minamoto T, et al (他 15 名, 15, 17 番目). Induction of HITS, a newly identified family with sequence similarity 107 protein (FAM107B), in cancer cells by heat shock stimulation. *Int J Oncol* 37 (3): 583-93, 2010. doi: 10.3892/ijo\_00000707.
- (18) Saito K, Kawakami K, et al, Minamoto T (他 5 名, 2, 6 番目). Long interspersed nuclear element 1 hypomethylation is a marker of poor prognosis in stage IA non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 16 (8): 2418-26, 2010. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2819. 査読有り
- (19) Okamoto K, Ohta T, et al (他 15 名, 3 番目). Angiotensin II induces tumor progression and fibrosis in intrahepatic cholangiocarcinoma through an interaction with hepatic stellate cells. *Int J Oncol* 37 (5):1251-9, 2010. doi: 10.3892/ijo\_00000776. 査読有り
- (20) Yagi Y, et al, Ohta T (他 12 名, 14 番目). Biodistribution of humanized anti-VEGF monoclonal antibody/bevacizumab on peritoneal metastatic models with subcutaneous xenograft of gastric cancer in mice. *Cancer Chemother Pharmacol* 66 (4): 745-53, 2010. doi: 10.1007/s00280-009-1219-y. 査読有り
- [学会発表] (計 256 件)
- (1) Kawakami K, Matsunoki A, Kotake M, Kaneko M, Kitamura H, Watanabe G, Minamoto T. Knockdown of LINE-1 enhances sensitivity to 5-FU in LINE-1-hypomethylated colorectal cancer cell. 22<sup>nd</sup> Biennial Congress of the European Association for Cancer Research, July 7-10, 2012, Centre Convencions International Barcelona, Barcelona, Spain.
- (2) Minamoto T, Mai W, Kyo S, Shakoori A, Miyashita K, Yokoi K, Shimasaki T, Motoo Y, Kawakami K. Deregulated GSK3 $\beta$  sustains gastrointestinal cancer cells by modulating hTERT and telomerase. 103<sup>rd</sup> Annual Meeting of American Association for Cancer Research, March 31-April 4, 2012, McCormick Place, Chicago, Illinois, U.S.A.
- (3) Matsunoki A, Kawakami K, Kotake M, Kaneko M, Watanabe G, Minamoto T. LINE-1 methylation level is a molecular marker with little intra-patient heterogeneity in primary and synchronous metastatic colorectal cancer. 103<sup>rd</sup> Annual Meeting of American Association for Cancer Research, March 31-April 4, 2012, McCormick Place, Chicago, Illinois, U.S.A.
- (4) Nakajima H, Minamoto T, Motoo Y. HITS (FAM107B): novel heat-shock induced protein as a maker for cancer progression and diagnosis. 16th World Congress on Advances in Oncology and 14th International Symposium on Molecular Medicine, October 6-8, 2011; Hotel Rodos Palace, Rhodes Island, Greece.
- (5) Menheniott TR, O'Connor L, Minamoto T,

- Kawakami K, Tomita H, Fox JG, Wang TC, Judd LM, Giraud AS. Interleukin-1 $\beta$  is a signal for *Trefoil factor 2* promoter methylation in gastric preneoplasia. DDW 2011, May 7-10, 2011, McCormick Place, Chicago, Illinois, U.S.A.
- (6) Shimasaki T, Ishigaki Y, Takata T, Nakamura Y, Kitano A, Kawakami K, Tomosugi N, Minamoto T, Motoo Y. Effect of GSK3 $\beta$  inhibition against gemcitabine-induced epithelial-mesenchymal transition and invasive ability of pancreatic cancer cells: its therapeutic implication. Joint Meeting of the International Association of Pancreatology and the Japan Pancreas Society 2010, 2010年7月11-13日, 福岡国際会議場, 福岡.
- (7) Kitano A, Shimasaki T, Chikano Y, Nakada M, Higashi T, Ishigaki Y, Sai Y, Miyamoto K, Motoo Y, Kawakami K, Minamoto T. Pathological role for deregulated GSK3 $\beta$  in pancreatic cancer proliferation and invasion. The Joint Symposium of the 5<sup>th</sup> International Symposium of Institute Network and the International Symposium of Commemorating Inauguration of Kanazawa University Cancer Research Institute. 2010年6月24-25日, KKR ホテル金沢, 石川.
- (8) Saito K, Kawakami K, Matsumoto I, Oda M, Watanabe G, Minamoto T. LINE-1 hypomethylation is a marker of poor prognosis in stage IA non-small cell lung cancer. 101<sup>st</sup> Annual Meeting of American Association for Cancer Research 2010, April 17-21, 2010, Walter E. Washington Convention Center, Washington DC, U.S.A.
- (9) Miyashita K, Kawakami K, Nakada M, Shakoori A, Fujisawa H, Hayashi Y, Hamada J, Minamoto T. Potential therapeutic effect of glycogen synthase kinase 3 $\beta$  inhibition against human glioblastoma. 101<sup>st</sup> Annual Meeting of American Association for Cancer Research 2010, April 17-21, 2010, Walter E. Washington Convention Center, Washington DC, U.S.A.
- (10) Menheniott T, Peterson AJ, O'Connor L, Wang TC, Fox JG, Minamoto T, Kawakami K, Judd LM, Andrew S. Giraud. *TFF2* inhibits tumour growth and is a target for epigenetic silencing in gastric cancer. DDW 2010, May 1-6, 2010, Ernest N. Morial Convention Center, New Orleans, Louisiana, U.S.A.

[図書] (計3件)

- (1) Minamoto T, et al, Kawakami K (他4名, 1, 6

番目). Distinct pathologic role for glycogen synthase kinase 3 $\beta$  in colorectal cancer progression. In: *Colorectal Cancer Biology - From Genes to Tumor*, Rajunor Ettarh (Ed.), ISBN: 978-953-51-0062-1, pp.107-134, 2012; InTech.

- (2) Nakada M, Minamoto T, et al (他3名, 2番目). The pivotal role of GSK3 $\beta$  in glioma biology. In: *Molecular Targets of CNS Tumors*, ISBN 978-953-307-736-9, Miklos Garami (Ed.), pp. 567-590, 2011; InTech.
- (3) Nakada M, Kawakami K, et al, Minamoto T (他3名, 4, 6番目). RNAi in malignant brain tumors: relevance to molecular and translational research. In: Erdmann VA, Barciszewski J, eds., *RNA Technologies and Their Applications*, Springer Verlag, 2010, pp. 107-129.

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称: 脳腫瘍治療用キット及び脳腫瘍治療方法  
発明者: 中田光俊, 源 利成, ほか

権利者: 国立大学法人金沢大学

種類: 特許

番号: 特願 2010-185691

出願年月日: 2010年8月22日

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

<http://www.kanazawa-u.ac.jp/~ganken/shuyoseigy/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

源 利成 (MINAMOTO TOSHINARI)

金沢大学がん進展制御研究所・教授

研究者番号: 50239323

### (2) 研究分担者

川上和之 (KAZUYUKI KAWAKAMI)

金沢大学がん進展制御研究所・准教授

研究者番号: 00293358

太田哲生 (TETSUO OHTA)

金沢大学大学院医学系研究科・教授

研究者番号: 40194170

### (3) 連携研究者

大野博司 (HIROSHI OHNO)

理化学研究所免疫系構築研究チーム・

チームリーダー

研究者番号: 50233226