

平成 30 年 5 月 9 日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15245

研究課題名(和文) iPS細胞マーカーTRA-1-60はがん難治性の指標か？

研究課題名(英文) Is the iPS marker "TRA-1-60" an indicator of cancer intractability against therapeutics?

研究代表者

近藤 英作 (Kondo, Eisaku)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：30252951

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：TRA-1-60は糖鎖修飾型PODXL1であることから、ヒト膵がん細胞株においてPODXL1ノックアウトクローンを作成し機能解析した。結果、MiaPaCa-2, AsPC1, Panc-1 PODXL1-KO(PODXL1^{-/-})クローンは膵がん肝転移を劇的に抑制した。即ち、PODXL1は膵がんの転移能獲得に直接に機能していることが判明した。PODXL1は複数のサイトカイン受容体と結合能を持ち、がん組織内でこれら受容体の機能活性化に働いていることが判明した膵がん患者病理組織では、上記の遺伝子機能を反映し、腫瘍の浸潤先進部や肝転移巣で高発現していることが判明した。

研究成果の概要(英文)：1. PODXL1-knockout clones were generated from human three different PDAC lines since the TRA-1-60 is the glycosylated form of PODXL1. Consequently, drastic inhibition of liver metastasis in vivo was observed in all PODXL1-KO clone-xenografted mice generated from MiaPaCa-2, AsPC1, Panc-1.
2. PODXL1 revealed to form complex with multiple cytokine receptors and its binding contribute to activate those receptors.
3. PODXL1 was highly expressed at the invasive front and metastatic foci of PDAC cells in patients' tumor tissues.

研究分野：腫瘍病理学

キーワード：膵がん TRA-1-60 PODXL1 転移 浸潤

1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会を反映する本邦医療では、国民の2人に1人ががんに罹患する現状がある。近年の医療技術の進歩により、多系統の悪性腫瘍で5年生存率は6割～8割に達しているが、一方で、5生率20%未満と依然として治癒成績の大きな改善が見られない難治性悪性腫瘍が存在していることも見逃せない事実である。この課題を解決に導く病理学的解析を通じた新たな検査・診断マーカーの同定や創薬基盤情報の獲得は、本邦難治がん患者の福祉に非常に大きな意義をもたらすと考えられよう。

TRA-1-60は細胞膜表面に発現するPODXL-like1 (PODXL1) の N-, O-glycosylated form 分子であり、再生医療において基盤材料となるiPS細胞の樹立に際してOct3/4やSSEA3, Nanog, SOX2などとともに確認マーカーとして実用されており、これらの中でも幹細胞性、すなわちリプログラミングの完了を確証する最も信頼性の高い発現分子として認識されている(Chan, Schlaeger et al. Nat. Biotech. 27(11), 2009)。

幹細胞性はがんの治療抵抗性に直結する指標であることが近年の研究で明らかになっていることから、TRA-1-60 (PODXL1)の発現・機能が注目されるが、未だ解明されていないため本研究での機能を含めた解明は次世代の癌治療・診断学に危急の課題として求められている。

2. 研究の目的

TRA-1-60 (PODXL-like1) は、再生医療に用いるiPS細胞樹立の最も確証的なマーカーとして実用されているが、その機能本態は依然として不明である。われわれはこれまでの準備研究から、特に難治性の転帰を辿った浸潤性膵管癌や胆管癌、肺腺癌などの症例で、当初予測されたがん幹細胞としての発現率をはるかに超えたTRA-1-60の高頻度発現例を見出している。当申請研究では、この新規知見を基盤に”TRA-1-60 (PODXL-like1)”の高度発現がんに絞った機能解析を集中的に行い、分子病理学的解析に立脚した革新的難治がんマーカーとしての特性の解明を通じた先進的診断・治療学的基盤情報の獲得にチャレンジする。

3. 研究の方法

【第1年度】TRA-1-60 (PODXL-1)のがん細胞における特異的遺伝子機能の同定。

・TRA-1-60 (PODXL-1)のがん細胞における特異的遺伝子機能解析の実施。

i)TRA-1-60を内因性に高度発現している浸潤性膵管がん細胞株(PL45, AsPC1)を材料に、native(original) clone、TRA-knockdown細胞群、TRA-transfectant cloneの3者間でTRAタンパク特異的免疫沈降から超高感度LC-Mass解析システムを用いた相互反応

分子探索へ展開した TRA-binding molecule の同定(新潟大・近藤と岡山大・阪口の協働)

【第2年度】TRA-1-60高発現腫瘍の多系統病理組織学的探索と臨床病理学的特徴の洗い出し。

・TRA-1-60遺伝子機能に関連する分子群の病理組織学的、臨床病理学的解析の実施と、TRAシグナルに関する制御技術の基盤的戦略の構築(治療に向けた基盤的研究)。

4. 研究成果

TRA-1-60は糖鎖修飾型PODXL1であることから、ヒト膵がん細胞株においてPODXL1ノックアウトクローンを作成し機能解析した。結果、MiaPaCa-2, AsPC1, Panc-1 PODXL1-KO(PODXL1^{-/-})クローンは膵がん肝転移を劇的に抑制した。即ち、PODXL1は膵がんの転移能獲得に直接に機能していることが判明した。

PODXL1は複数のサイトカイン受容体と結合能を持ち、がん組織内でこれら受容体の機能活性化に働いていることが判明した。

膵がん患者病理組織では、上記の遺伝子機能を反映し、腫瘍の浸潤先進部や肝転移巣で高発現していることが判明した。

上述の結果をまとめてPODXL1(TRA-1-60)の新規機能について現在学術論文投稿準備中である。

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9件)

1. Kuwahara K, Yamamoto-Ibusuki M, Zhang Z, Phimsen S, Gondo N, Yamashita H, Takeo T, Nakagata N, Yamashita D, Fukushima Y, Yamamoto Y, Iwata H, Saya H, Kondo E, Matsuo K, Takeya M, Iwase H, Sakaguchi N.: GANP protein encoded on human chromosome 21/mouse chromosome 10 is associated with resistance to mammary tumor development. *Cancer Sci*. 2016 Apr;107(4):469-77. doi: 10.1111/cas.12883. Epub 2016 Feb 9. PMID: 26749495

2. Ruma IM, Putranto EW, Kondo E, Murata H, Watanabe M, Huang P, Kinoshita R, Futami J, Inoue Y, Yamauchi A, Sumardika IW, Youyi C, Yamamoto K, Nasu Y, Nishibori M, Hibino T, Sakaguchi M.: MCAM, as a novel receptor for S100A8/A9, mediates progression of malignant melanoma through prominent activation of NF- κ B and ROS formation upon ligand binding. *Clin Exp Metastasis*. 2016 Aug;33(6):609-27. doi: 10.1007/s10585-016-9801-2. Epub 2016 May 5. PMID: 27151304

3. Saito K, Iioka H, Kojima C, Ogawa

M, Kondo E.: Peptide-based tumor inhibitor encoding mitochondrial p14_{ARF} is highly efficacious to diverse tumors. *Cancer Sci.* 2016 107 (9): 1290-1301. doi: 10.1111/cas.12991. PMID:27317619

4. Saho S, Satoh H, Kondo E, Inoue Y, Yamauchi A, Murata H, Kinoshita R, Yamamoto KI, Futami J, Putranto EW, Ruma IM, Sumardika IW, Youyi C, Suzawa K, Yamamoto H, Soh J, Tomida S, Sakaguchi Y, Saito K, Iioka H, Huh NH, Toyooka S, Sakaguchi M.: Active Secretion of Dimerized S100A11 Induced by the Peroxisome in Mesothelioma Cells. *Cancer Microenviron.* 2016 Dec;9(2-3):93-105. doi: 10.1007/s12307-016-0185-2. PMID:27334300

5. Nobuko Matsushita, Midori Suzuki, Emi Ikebe, Shun Nagashima, Ryoko Inatome, Kenichi Asano, Masato Tanaka, Masayuki Matsushita, Eisaku Kondo, Hidekatsu Iha & Shigeru Yanagi.: Regulation of B cell differentiation by the ubiquitin-binding protein TAX1BP1. *Sci. Rep.* 2016 Aug 12;6:31266. doi: 10.1038/srep31266

6. Akimitsu Maeda, Hitoshi Ando, Takashi Ura, Azusa Komori, Ayako Hasegawa, Hiroya Taniguchi, Shigenori Kadowaki, Kei Muro, Masahiro Tajika, Makiko Kobara, Masahide Matsuzaki, Naoya Hashimoto, Mieko Maeda, Yasushi Kojima, Masahiro Aoki, Eisaku Kondo, Akiyoshi Mizutani, and Akio Fujimura: Association between *ABCG2* and *SLC01B1* polymorphisms and adverse drug reactions to regorafenib.: a preliminary study. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, Vol. 55 - No. 5/2017 (409-415) Feb. 2017 doi: 10.5414/CP202788.

7. AKIMITSU MAEDA, HITOSHI ANDO, TAKASHI URA, KEI MURO, MASAHIRO AOKI, KEN SAITO, EISAKU KONDO, SHINJI TAKAHASHI, YUKO ITO, YASUNARI MIZUNO and AKIO FUJIMURA: Differences in Urinary Renal Failure Biomarkers in Cancer Patients Initially Treated with Cisplatin. *ANTICANCER RESEARCH* 37: 5235-5239 (2017) doi:10.21873/anticancer.11947

8. Wada T, Sumardika IW, Saito S, Ruma IMW, Kondo E, Shibukawa M, Sakaguchi M: Identification of a novel component leading to anti-tumor activity besides the major ingredient cordycepin in *Cordyceps militaris* extract. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2017 Sep 1;1061-1062:209-219. doi:10.1016/j.jchromb.2017.07.022. Epub 2017 Jul 19. PMID:28750234

9. Sumardika IW, Youyi C, Kondo E, Inoue

Y, Ruma IMW, Murata H, Kinoshita R, Yamamoto KI, Tomida S, Shien K, Satoh H, Yamauchi A, Futami J, Putranto EW, Hibino T, Toyooka S, Nishibori M, Sakaguchi M: β -1,3-galactosyl-O-glycosyl-glycoprotein β -1,6-N-acetylglucosaminyltransferase 3 Increases MCAM Stability, Which Enhances S100A8/A9-Mediated Cancer Motility. *Oncol Res.* 2017 Sep 18. doi: 10.3727/096504017X15031557924123. [Epub ahead of print] PMID:28923134

11. Muhammad K, Rudolf R, Pham DAT, Klein-Hessling S, Takata K, Matsushita N, Ellenrieder V, Kondo E, Serfling E. Induction of Short NFATc1/ A Isoform Interferes with Peripheral B Cell Differentiation. *Front Immunol.* 2018 Jan 24;9:32. doi: 10.3389/fimmu.2018.00032. eCollection 2018. PMID:29416540

〔学会発表〕(計 30 件)

1. 近藤英作:「わたしの今日までの病理学研究」順天堂大学基礎研究医養成プログラム H29 年度 新潟大学連携セミナー(招待講演) 順天堂大学(東京)2018.1.23

2. Kondo E: "Peptide-based tumor technology using tumorhoming CPPs." The 4th RIKEN/Karolinska Institutet/SciLifeLab Joint Symposium(招聘講演)神戸大学(神戸)2017.11.17

3. 近藤英作,高田尚良,齋藤憲:「濾胞性リンパ腫難治性を規定する特殊細胞集団の発見」第76回日本癌学会学術総会 パシフィコ横浜(横浜)2017.9.30

4. 木下理恵,山内明,枝園和彦,富田秀太,豊岡伸一,近藤英作,坂口政清:「S100A8/A9とその受容体との結合遮断を目指した転移抑制タンパク質製剤の開発」第76回日本癌学会学術総会 パシフィコ横浜(横浜)2017.9.30

5. 飯岡英和,齋藤憲,坂口政清,森井英一,近藤英作:「Crumbs3は焦点接着構成因子を制御することで大腸癌の転移を促進する」第76回日本癌学会学術総会 パシフィコ横浜(横浜)2017.9.30

6. 桑原一彦,近藤英作:「R-loop蓄積と関連するTREX2複合体の機能不全は乳がん細胞において化学療法感受性を増大させる」第76回日本癌学会学術総会 パシフィコ横浜(横浜)2017.9.29

7. 植木雄志,齋藤憲,近藤英作「口腔扁平上皮癌におけるPLOD2の発現と細胞移動能との関連」第76回日本癌学会学術総会 パシフィコ横浜(横浜)2017.9.29

8. 齋藤憲,植木雄志,近藤英作:「PLOD2は口腔がん細胞の移動能を制御する」第76回日本癌学会学術総会 パシフィコ横浜(横浜)2017.9.29

9. 栗田彩花,桑原一彦,近藤英作:「生体内腫瘍におけるR-loop形成亢進の特徴と意義」第14回日本病理学会カンファレンス 名鉄

犬山ホテル(名古屋)2017.7.28
10. 齋藤憲,植木雄志,近藤英作:「口腔がん細胞相互作用における PLOD2 の役割」第 21 回日本がん分子標的治療学会 九州大学(福岡)2017.6.15
11. 桑原一彦,近藤英作:「乳癌細胞において TRESK 複合体構成分子は薬剤感受性誘導の標的となる」第 21 回日本がん分子標的治療学会 九州大学(福岡)2017.6.15
12. 田中萌恵,桑原一彦,近藤英作:「R-loop 発現の病理学的意義」第 106 回日本病理学会総会 京王プラザホテル(東京)2017.4.29
13. 田坂杏美,田中萌恵,桑原一彦,植木雄志,齋藤憲,近藤英作:「多様な系統の癌における薬物代謝酵素 CYP3A5 の発現とその意義」第 106 回日本病理学会総会 京王プラザホテル(東京)2017.4.29
14. 近藤英作,高田尚良,齋藤憲:「濾胞性リンパ腫難治性を規定する特殊細胞集団の発見」第 106 回日本病理学会総会 京王プラザホテル(東京)2017.4.28
15. 飯岡英和,齋藤憲,森井栄一,近藤英作:「Crumbs3 は大腸癌細胞の接着性制御を介し腫瘍形成を促進する」第 106 回日本病理学会総会 京王プラザホテル(東京)2017.4.28
16. 近藤英作:「病理学のアドバンテージを活かした腫瘍医学研究へのアプローチ」第 106 回日本病理学会総会(病理診断講習会)京王プラザホテル(東京)2017.4.28
17. 桑原一彦,近藤英作:「抗がん治療増強の標的としての TRESK 複合体」第 106 回日本病理学会総会 京王プラザホテル(東京)2017.4.27
18. 齋藤憲,飯岡英和,近藤英作:「肺がん選択的透過ペプチドの開発」第 106 回日本病理学会総会 京王プラザホテル(東京)2017.4.27
19. Kazuhiko Kuwahara, Eisaku Kondo: Forced reduction of DSS1, a member of TRESK complex, highly sensitizes chemotherapy to breast cancer cells in a BRCA2-independent manner AACR Annual Meeting 2017 in Washington, D.C. Walter E. Washington Convention Center(ワシントン D.C.)2017.4.3
20. Eisaku Kondo, Ken Saito: Cellular interaction between pancreatic cancer cells and MSC as tumor microenvironment. AACR Annual Meeting 2017 in Washington, D.C. Walter E. Washington Convention Center(ワシントン D.C.)2017.4.5
21. Kondo E: Tumor-horming Peptide as an Anti-cancer Biotool. BIT7s 10th Anniversary of Protein & Peptide Conference-2017 (invited speaker) Hilton Fukuoka Sea Hawk (福岡)2017.3.23.
22. 桑原一彦,近藤英作,長谷川剛:「子宮筋腫ポリープが疑われた 1 例」第 84 回日本病理学会東北支部学術集会 東北大学(仙台)2017.2.19

23. 木下理恵,村田等,井上祐介,近藤英作,許南浩,坂口政清:「癌転移抑制を目指した新規タンパク質製剤の開発」第 75 回日本癌学会学術総会 パシフィコ横浜(横浜)2016.10.8
24. 飯岡英和,齋藤憲,森井英一,近藤英作:「細胞極性制御因子 Crumbs3 は糖脂質動態を制御することで腺癌の転移を促進する」第 75 回日本癌学会学術総会 パシフィコ横浜(横浜)2016.10.7
25. 植木雄志,齋藤憲,近藤英作:「口腔扁平上皮癌における lysyl hydroxylase の機能」第 75 回日本癌学会学術総会 パシフィコ横浜(横浜)2016.10.7
26. 齋藤憲,飯岡英和,近藤英作:「難治性肺がん治療に向けた抗腫瘍ペプチドの開発」第 75 回日本癌学会学術総会 パシフィコ横浜(横浜)2016.10.6
27. 近藤英作,齋藤憲,飯岡英和,坂口政清:「浸潤性膵管癌におけるがん-間質相互反応の増殖・浸潤における役割」第 75 回日本癌学会学術総会 パシフィコ横浜(横浜)2016.10.6
28. 近藤英作,坂口政清:「膵がんにおける間質細胞の生物学的相互反応」第 25 回日本がん転移学会学術集会・総会(ワークショップ)米子コンベンションセンター(米子)2016.7.21
29. 近藤英作:「ナノメディシンへの応用を目指したがんホーミングペプチドの開発」第 105 回日本病理学会総会(シンポジウム)仙台国際センター(仙台)2016.5.13
30. 近藤英作:「共焦点レーザー内視鏡を応用した次世代がん検査・診断技術へのトライアル」第 105 回日本病理学会総会(ランチョンセミナー)仙台国際センター(仙台)2016.5.14

〔図書〕(計 2 件)

1. 近藤英作:「腫瘍ホーミング機能を有するペプチド開発とその展開」ペプチド医薬品のスクリーニング・安定化・製剤化技術 出版社:技術情報協会 2017年12月27日 ISBN:978-4-86104-687-2 C3047

2. 齋藤憲,近藤英作:「胆道がんホーミングペプチドによる新規腫瘍イメージング技術の開発」医療・診断を支えるペプチド科学 再生医療・DDS・診断への応用 出版社:(株)シーエムシー出版 2017年10月 ISBN:978-4-7813-1267-5

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:

番号：
出願年月日：
国内外の別：

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

<http://www.med.niigata-u.ac.jp/pa2/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 英作 (KONDO, Eisaku)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：30252951

(2) 研究分担者

奥田修二郎 (OKUDA, Shujiro)

新潟大学・医歯学系・准教授

研究者番号：00512310

研究分担者

阪口政清 (SAKAGUCHI, Masakiyo)

岡山大学・医師薬学総合研究科・准教授

研究者番号：70379840

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()