様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　４ 年　５ 月 ２５ 日現在

機関番号：１４４０１
研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)）
研究期間：2018～2021
課題番号：１８ＫＫ０２５１

研究課題名（和文）国際共同研究によるメカノバイオロジーを応用した細胞外小胞診断のための基盤構築

研究課題名（英文）International collaborative research for liquid biopsy and precision medicine by microfluidic technologies to extracellular vesicles

研究代表者
石井　秀始（ISHII, Hideshi）

大阪大学・医学系研究科・特任教授（常勤）

研究者番号：１０２８０７３６

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　14,000,000円

研究成果の概要（和文）：本計画では、二つの国際共同研究により戦略的に目的を達成した。若手研究者2名を含むチームを組織し(1)日・シンガポールの共同研究として、シンガポール国立大学Lim教授の研究室に赴き、現地の微小流路の装置を用いたメカノバイオロジーの研究および調査を行った。(2)高度な情報解析は多大な手間を要するので、日欧の共同研究として、EU・ローマ大学Vecchione教授の研究室に赴き、現地の計算器の装置とシステムを用いてRNA情報科学の技術を習得、応用し、本研究の目的を達成した。
新型コロナウイルス感染症のパンデミックとなる頃に主だった研究内容は仕上げたので全体の進捗に大きな影響は生じなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義
シンガポールは環太平洋地域の英語圏であり、重要な国際会議が開催されるなど、社会環境の信頼度が高い。シンガポールの現地に赴き、微小流路の装置を利用した。大学の仕組みの中に入り込んだ企業投資が盛んであり、スタートアップ、インキューベーションなど、さまざまな共同研究が根付く環境であり、本計画でも私たちから国際出願を済ませた技術を研究室に持ち込み、共同研究しやすい環境が整っていた。EU・ローマ大学は世界最古の歴史があり、主幹はローマ・ラ・サピエンツァ大学である。欧州はわが国の若手が研究に取り組む場としてたいへん存在感がある。後半２年間でEUの現地に赴いて装置を利用し、情報解析法を習得した。

研究成果の概要（英文）：In this project, the objective was strategically achieved through two international joint research projects. Organized a team including two young researchers (1) As a joint research between Japan and Singapore, I went to the laboratory of Professor Lim of the National University of Singapore to study and investigate mechanobiology using a local microchannel device. Was done. (2) Since advanced information analysis requires a great deal of time and effort, we went to the laboratory of Professor Vecchione of the EU-Rome University as a joint research between Japan and Europe, and used local computer equipment and systems to develop RNA information science technology. Was learned and applied, and the purpose of this research was achieved.
By the time the pandemic of the new coronavirus infection was completed, the main research content was completed, so the overall progress was not significantly affected.

研究分野：疾患データサイエンス学

キーワード：国際共同研究RNA　細胞外小胞　メカノバイオロジー　RNA　バイオマーカー

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

１．研究開始当初の背景

生体の恒常性は精緻なバランスの上に成り立っている。この動的な平衡状態をからだの外からモニターし、疾病を診断する医療技術の開発は重要な課題である。正常組織の破壊を伴うがんでは、末梢血中に逸脱してくる CTC [Circulating Tumor Cells; 数個/ml]、cell-free DNA(数 copy/ml)などが診断に役立つが、 一方でより広く組織修復や老化、さらには臓器間のネットワークにおいては、細胞外小胞 [EV] (1013 粒子/ml)が数的に多いので、その多様性を高精度にプロファイルングできる技術 を確立すれば、リキッドバイオプシーとしてきわめて有用な情報を取得できると考えられ、特に重要視されている(Nature Rev Mol Cell Biol 19, 213, 2018)。

心血管系が発達した高等生物では、脂質二重膜に包まれた細胞外小胞 [EV] が血液・涙液・母乳などの体液中に分泌され循環している (Reviewed in Cell 2016、他)。EV は、大きさとマーカー分子から、①エクソソーム[EX]（径 40～120nm; 表面蛋白 Tetraspanins [CD81, CD63, CD9], Tsg101, Alix, flotillin）、②微小小胞体 [MV]（径 50～1,000nm; 表面蛋白 Integrin, Selectin, CD40）、③アポトーシス小体[AB]（径 1 Nature 544(7649):212-216, 2017. Nature Commun 5:3591, 2014. Nature Protoc 13(1):34-58, 2018. J Natl Cancer Inst 106(12), 2014. 500～2,000nm; 表面蛋白 Annexin V, Phosphatidylserine）の３種に大きく分類できる。このうち、核酸を含んでいるものは EX と MV であり、比重に応じて精製し、次世代シークエンスで解析可能である。ところが、内部には DNA はほとんどなく、99%以上が RNA であり、mRNA(22,000 種類)、長鎖ノンコーディングの lncRNA(100,000 種類)、短鎖の miRNA(2,600 種 類)が含まれている。また血清中の EX 数(1013 /ml)は、MV 数(1010/ml)の 1,000 倍多く存在する。 したがって、大きさとマーカー分子を指標とした超遠心や免疫法により EV（主として EX と MV が多く含まれる）を収集し、高密度アレイや次世代シークエンスにより RNA の塩基 配列をプロファイルする研究が実施され、私たちも参画してきた(AMED/NEDO、文科省学 振基盤研究、他)。その成果、EX 由来の miRNA は、少なくとも 13 種の進行がんにおいて、 従来のマーカーに比較して感度・特異度が劣らないことが明らかとなった(Nature Commun 2015; Br J Cancer 2015、他)。

Precision Medicine の早期診断に向けて、さらに診断精度を向上させるためには、EV 全体をひとまとめにした RNA のシークエンス解析では限界があり、EV の変形能(deformability)や RNA の化 学修飾まで含めた、新たな情報の分析が必要であることが明らかとなってきた。すなわち、より早期段階の消化器がんで、個々の miRNA の発現量の比較だけでは鑑別診断が困難な場 合であっても、EV 全体から EX(CD63)や MV(CD44)表面のマーカー分子に特異的な抗体を用いて濃縮し、さらにその内部の miRNA(let-7, miR-17)の化学修飾(m6A)を質量分析法、ナノシークエンサー、RIP-seq (RNA 免疫沈降シークエンス)により相補的な情報を統合させて、格段に性能(感度・特異度)を向上できる。これまでに、①EV 診断は、従来の腫瘍マーカー (CEA, CA19-9)に比較して、優れた ROC の感度・特異度が得られ、早期の初診時診断マーカーとして有望である、②EV は、特に膵がんの手術切除とほぼ全例で有意に相関し再発を早期に検出できる有望なマーカーである、③実際に、微小流路で分画したナノポアシークエンサーにより、EV 中 miRNA メチル化を１分子で計測可能であることを示した(特願 2018- 30099; 特願 2014-31084; 特願 2014-11430; Nature Nanotechnol 2010,2014,他)。さらに、LCTOFMS 等で EV 内部の RNA 代謝を明らかにし、POC を確認した(Nature Commun 2015,他)。 本計画では、上記の『RNA 計測技術』を大きく発展させるために私たちが中心となり、日本とシンガポール『EV の変形能(deformability)のメカノバイオロジー』、日本と EU 『RNA 情報科学』の２つの二国間研究を強化する。⑴シンガポール国立大学の Lim, C.T.教 授、Chia-Hung, Chen 准教授らは、EV の大きさに加えて硬さや可塑性などの『変形能 (deformability)』の性状に基づき、EV をメカノバイオロジーの微小流路で分画し、85%以 上の捕捉率で分離回収できることを示した（Nature 2017; Nature Protoc 2018; Nature Commun 2018、他）。⑵EU(イタリア)・ローマ大学では数理統計が発達し、Baldassarre, G. 教授、Vecchione, A.教授らは、同一患者の腫瘍と末梢血 EV の RNA 情報のプロファイリング 法を開発した（PNAS 2017, 2015; JNCI 2014、他）。これらの方法を私たちの表面のマーカー分子に対する特異的な抗体で濃縮する操作と融合させて、EV を粒子の性状に応じて分画 (SIN)から、その内部の miRNA の化学修飾を私たちの上記技術で読み取り(JPN)および情報 解析 (EU)まで一貫した研究を強化し、多様性な EV の変形能と内部の RNA の修飾と配列に応じた、完全なプロファイリングが可能となり、高精度の疾患の診断を実現する。

２．研究の目的

私たちの EV 表面のマーカー分子で分類し、内部の miRNA の化学修飾を計測する技術は、大阪大学発の独自の技術であり、技術移転を進めている(特願 2018-30099; 特願 2014-31084、他)。EV の完全なプロファイリングのために、世界的にも独創性が高い国立シンガポール大学とメカノバイオロジーで協力する。得られた大容量データは世界的にも独創性が高い EU・ローマ大学の数理統計技術と融合させ解析する。技術融合の基本合意は得られている。
もって、医療分野の将来を担う若手研究者を育成する。

３．研究の方法

本研究では、日本側から代表者石井と、今野(若手研究者；miRNA のメチル化解 析)、浅井(若手研究者；EV の分画解析)、出口(メカノバイオロジー)、江口准教授(臨床材 料を集積)が分担し、日本から代表者・分担者がシンガポール国立大学にサンプルを持ち込 み、現地の微小流路の装置を利用して EV 分離する。さらに後半２年間で EU・ローマ大学に赴いて情報解析法を習得する。ヒトゲノム研究審査として平成 28 年 6 月 8 日に承認され(承 認番号 664)、平成 29 年 5 月の個人情報保護法の改正施行をへて国際研究の追加申請をしている。研究協力者として、谷口教授(ナノシークエンス)、島村准教授（数理統計学)、山本（EV/miRNA の解析)、小坂(若手研究者；EV/miRNA の解析)、ヒューコルビン医師(英国人 若手研究者、阪大院卒業生；miRNA の解析)が国際共同研究の円滑な進捗のために協力する。

消化器がんの手術前(薬物療法の施行前)・後(麻酔および手術侵襲の影響が消失する 30 日以降)の患者血清を２ml ほど採取し、超遠心による比重分画法で EV を濃縮する。 EV の凍結融解で 80%以上の回収率があり保存可能であることは確認した。シンガポール国 立大学に赴いて、現地の微小流路の装置を利用し、表面マーカーのビーズ抗体で EX(CD81, CD63, CD9, Tsg101, Alix, flotillin)と MV(Integrin, Selectin, CD40)を分画し、①それぞれにおける Let-7, miR-17(以上 m6A), miR-21, miR200c(以上 5mC)に相補的な架橋型核酸(LNA)で濃縮して、MALDI による In-Source Decay で質量分析する（今野）；②ナノシークエンサーで１分子計測する（谷口）；③修飾核酸の抗体で miRNA 免疫沈降してシークエンス(RIP-seq)する（浅井)。概ね 1013 個の EV が 50 分画ほどにわけられ、1011～1010 個ごとの miRNA のメチル化情報をマップする。さらに後半２年間で EU・ローマ大学に赴いて、腫瘍と EV の RNA 情報を対応させた情報解析法を習得する。概ね 1013 個の EV が 50 分画ほどにわけられると見込まれ、1011 ～ 1010 個ごとの miRNA のメチル化情報としてマップする。

本共同研究が発展して、教室の大学院生(15 名)がポスドク候補として現地に雇用されるための橋渡しをする。また、EU・ローマ大学から日本に学術集会の招待講演、 招聘研究員などとして共同研究を強化する。

４．研究成果

閉じた脂質二重膜からなる細胞や小胞の変形能(deformability)に基づいて分離する微小流路の技術は、メカノバイオロジーとして環太平洋地域で活発である。2016 年の世界のメカノバイオロジー研究の論文数は、50%が欧米であり、30%がシンガポール・中国などの日本以外の東アジアであり、わが国は 15%である。勿論、近年わが国でもメカノバイオロジーの分野が活発化してきてはいるが、米国では 1970 年代に NIH の中に生物物理の研究部門が創設され、FACS 技術と融合し、トータルで細胞を解析する技術として大きく発展した。本計画のシンガポール側は、微小流路による CTC(Circulating Tumor Cells)や EV の分離で世界的に有名なメカノバイオロジー研究者であり、シンガポールの現地に赴いて装置を利用した。また、EU 側の Baldassarre,G.教授、Vecchione,A.教授らは、腫瘍の RNA とリキッドバイオプシーの EV の RNA 情報をマッチさせた数理解析プログラム Direct Link を開発しており、疾患のモデル化、臓器間のネットワーク解析などにおいて大きな発展が期待できる。後半２年間で EU の現地に赴いて装置を利用しチームで協働した。すでに平成 27 年頃から大阪大学出口教授らとともに、科研費(萌芽研究、基盤研究)や民間助成(小林国際研究など)の助成を得てシンガポール国立大学との共同研究を行ってきた。石井は、日本癌学会などの国際組織(IS)委員をつとめ、平成 29 年に Lim CT 教授を招聘し、メカノバイオロジーのセッションを設けて活発に議論を重ねた。このような国際をさらに強化するためには、若手研究者が現地にアウトソーシングし、世界最高レベルにブラッシュ・アップする必要がある。「リキッドバイオプシー」に関しては、初診と再発の診断をいかに早く正確につ

けるかが重要であり、「EV」の miRNA と「CTC」に期待がかけられている。「CTC」は、欧州の Pantel 教授らのグループがよく研究しており、私たちも Pantel 教授と共同で消化器がんの CTC のマーカー分子 Plastin3(アクチン結合蛋白)を同定し、この蛋白の発現と患者の生存期間は有意に逆相関を示すことを明らかにした(Cancer Res 73,2059,2013)。しかし、CTC の研究は、①数が少ない(数個/ml)、②数が少ない割には個々の患者で多彩に富む、③細胞生物学的な機能がよくわかっていない、など困難さがある。この点で「EV」は、数が豊富(1013 粒子/ml)で、マーカー分子と大きさと変形能が明らかにされてきており、本共同研究により、変形能(deformability)に基づく微小流路の技術により、疾患の層別化に役立つ高精度の情報が得られると期待される。

上述のごとくに、メカノバイオロジー研究は、欧米および環太平洋地域で世界的に活発化しており、わが国の若手も力を入れていく必要がある。リキッドバイオプシーは Precision Medicine の中核をなすものとして重要視されている。特に EV の miRNA は、リキッドバイオプシーの有望なツールとして、内外の研究プロジェクトで推進されている。したがって本研究では、単純なシークエンス解析では読めないメチル化修飾にまで掘り下げて miRNA をプロファイリングするために、メカノバイオロジーを応用する。期待される成果は、高精度の Precision Medicine に向けた基盤技術の構築である。将来を担う若手研究者を育成する。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計35件（うち査読付論文　35件／うち国際共著　9件／うちオープンアクセス　32件）

１．著者名 Ofusa Ken、Chijimatsu Ryota、Ishii Hideshi	４．巻 322
２．論文標題 Detection techniques for epitranscriptomic marks	５．発行年 2022年
３．雑誌名 American Journal of Physiology-Cell Physiology	６．最初と最後の頁 C787～C793
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/ajpcell.00460.2021	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 Takeda Yu、Chijimatsu Ryota、Ofusa Ken、Kobayashi Shogo、Doki Yuichiro、Eguchi Hidetoshi、Ishii Hideshi	４．巻 113
２．論文標題 Cancer metabolism challenges genomic instability and clonal evolution as therapeutic targets	５．発行年 2022年
３．雑誌名 Cancer Science	６．最初と最後の頁 1097～1104
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.15279	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 Asai Ayumu、Konno Masamitsu、Taniguchi Masateru、Vecchione Andrea、Ishii Hideshi	４．巻 22
２．論文標題 Computational healthcare: Present and future perspectives (Review)	５．発行年 2021年
３．雑誌名 Experimental and Therapeutic Medicine	６．最初と最後の頁 1351
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/etm.2021.10786	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 Tatekawa Shotaro、Ofusa Ken、Chijimatsu Ryota、Vecchione Andrea、Tamari Keisuke、Ogawa Kazuhiko、Ishii Hideshi	４．巻 13
２．論文標題 Methylosystem for Cancer Sieging Strategy	５．発行年 2021年
３．雑誌名 Cancers	６．最初と最後の頁 5088～5088
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers13205088	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 Ohshiro Takahito、Konno Masamitsu、Asai Ayumu、Komoto Yuki、Yamagata Akira、Doki Yuichiro、Eguchi Hidetoshi、Ofusa Ken、Taniguchi Masateru、Ishii Hideshi	4．巻 11
2．論文標題 Single-molecule RNA sequencing for simultaneous detection of m6A and 5mC	5．発行年 2021年
3．雑誌名 Scientific Reports	6．最初と最後の頁 19304
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-98805-z	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 Kitakaze Masatoshi、Chijimatsu Ryota、Vecchione Andrea、Kitagawa Toru、Doki Yuichiro、Eguchi Hidetoshi、Ishii Hideshi	4．巻 22
2．論文標題 Epithelial Cell Transformation and Senescence as Indicators of Genome Aging: Current Advances and Unanswered Questions	5．発行年 2021年
3．雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6．最初と最後の頁 7544～7544
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22147544	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 Asai Ayumu、Konno Masamitsu、Ozaki Miyuki、Kawamoto Koichi、Chijimatsu Ryota、Kondo Nobuaki、Hirotsu Takaaki、Ishii Hideshi	4．巻 12
2．論文標題 Scent test using Caenorhabditis elegans to screen for early-stage pancreatic cancer	5．発行年 2021年
3．雑誌名 Oncotarget	6．最初と最後の頁 1687～1696
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18632/oncotarget.28035	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 Takeda Yu、Chijimatsu Ryota、Vecchione Andrea、Arai Takahiro、Kitagawa Toru、Ofusa Ken、Yabumoto Masami、Hirotsu Takaaki、Eguchi Hidetoshi、Doki Yuichiro、Ishii Hideshi	4．巻 22
2．論文標題 Impact of One-Carbon Metabolism-Driving Epitranscriptome as a Therapeutic Target for Gastrointestinal Cancer	5．発行年 2021年
3．雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6．最初と最後の頁 7278～7278
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22147278	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 Yanagisawa Kiminori、Konno Masamitsu、Liu Hao、Irie Shinji、Mizushima Tsunekazu、Mori Masaki、Doki Yuichiro、Eguchi Hidetoshi、Matsusaki Michiya、Ishii Hideshi	4．巻 9
2．論文標題 A Four-Dimensional Organoid System to Visualize Cancer Cell Vascular Invasion	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Biology	6．最初と最後の頁 361～361
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biology9110361	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 Takeda Yu、Kobayashi Shogo、Kitakaze Masatoshi、Yamada Daisaku、Akita Hirofumi、Asai Ayumu、Konno Masamitsu、Arai Takahiro、Kitagawa Toru、Ofusa Ken、Yabumoto Masami、Hirotsu Takaaki、Vecchione Andrea、Taniguchi Masateru、Doki Yuichiro、Eguchi Hidetoshi、Ishii Hideshi	4．巻 9
2．論文標題 Immuno-Surgical Management of Pancreatic Cancer with Analysis of Cancer Exosomes	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Cells	6．最初と最後の頁 1645～1645
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cells9071645	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 Lin Yingsong、Ishii Hideshi、Eguchi Hidetoshi et al.	4．巻 11
2．論文標題 Genome-wide association meta-analysis identifies GP2 gene risk variants for pancreatic cancer	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Nature Communications	6．最初と最後の頁 3175
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-020-16711-w	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 Asai Ayumu、Konno Masamitsu、Kawamoto Koichi、Isotani Ayako、Mori Masaki、Eguchi Hidetoshi、Doki Yuichiro、Arai Takahiro、Ishii Hideshi	4．巻 11
2．論文標題 Hereditary pancreatitis model by blastocyst complementation in mouse	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Oncotarget	6．最初と最後の頁 2061～2073
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18632/oncotarget.27595	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 Konno Masamitsu、Asai Ayumu、Kitagawa Toru、Yabumoto Masami、Ofusa Ken、Arai Takahiro、Hirotsu Takaaki、Doki Yuichiro、Eguchi Hidetoshi、Ishii Hideshi	4．巻 10
2．論文標題 State-of-the-Art Technology of Model Organisms for Current Human Medicine	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Diagnostics	6．最初と最後の頁 392～392
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/diagnostics10060392	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 Yanagisawa Kiminori、Toratani Masayasu、Asai Ayumu、Konno Masamitsu、Niioka Hirohiko、Mizushima Tsunekazu、Satoh Taroh、Miyake Jun、Ogawa Kazuhiko、Vecchione Andrea、Doki Yuichiro、Eguchi Hidetoshi、Ishii Hideshi	4．巻 21
2．論文標題 Convolutional Neural Network Can Recognize Drug Resistance of Single Cancer Cells	5．発行年 2020年
3．雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6．最初と最後の頁 3166～3166
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21093166	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 Asai Ayumu、Konno Masamitsu、Ozaki Miyuki、Otsuka Chihiro、Vecchione Andrea、Arai Takahiro、Kitagawa Toru、Ofusa Ken、Yabumoto Masami、Hirotsu Takaaki、Taniguchi Masateru、Eguchi Hidetoshi、Doki Yuichiro、Ishii Hideshi	4．巻 21
2．論文標題 COVID-19 Drug Discovery Using Intensive Approaches	5．発行年 2020年
3．雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6．最初と最後の頁 2839～2839
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21082839	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 Koseki Jun、Konno Masamitsu、Asai Ayumu、Horie Naohiro、Tsunekuni Kenta、Kawamoto Koichi、Obika Satoshi、Doki Yuichiro、Mori Masaki、Ishii Hideshi	4．巻 10
2．論文標題 Theoretical analyses and experimental validation of the effects caused by the fluorinated substituent modification of DNA	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Scientific Reports	6．最初と最後の頁 1138
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-57899-7	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 Asai Ayumu、Konno Masamitsu、Koseki Jun、Taniguchi Masateru、Vecchione Andrea、Ishii Hideshi	4．巻 470
2．論文標題 One-carbon metabolism for cancer diagnostic and therapeutic approaches	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Cancer Letters	6．最初と最後の頁 141～148
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.canlet.2019.11.023	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 Asai Ayumu、Konno Masamitsu、Koseki Jun、Taniguchi Masateru、Vecchione Andrea、Ishii Hideshi	4．巻 470
2．論文標題 One-carbon metabolism for cancer diagnostic and therapeutic approaches	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Cancer Letters	6．最初と最後の頁 141～148
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.canlet.2019.11.023	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 Koseki Jun、Konno Masamitsu、Asai Ayumu、Horie Naohiro、Tsunekuni Kenta、Kawamoto Koichi、Obika Satoshi、Doki Yuichiro、Mori Masaki、Ishii Hideshi	4．巻 10
2．論文標題 Theoretical analyses and experimental validation of the effects caused by the fluorinated substituent modification of DNA	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Scientific Reports	6．最初と最後の頁 1138
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-57899-7	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 Gurumurthy Channabasavaiah B.、Ishii Hideshi、Miano Joseph M.、Burgio Gaetan	4．巻 20
2．論文標題 Reproducibility of CRISPR-Cas9 methods for generation of conditional mouse alleles: a multi-center evaluation	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Genome Biology	6．最初と最後の頁 171
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13059-019-1776-2	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 Konno Masamitsu、Koseki Jun、Asai Ayumu、Yamagata Akira、Shimamura Teppei、Motooka Daisuke、Okuzaki Daisuke、Kawamoto Koichi、Mizushima Tsunekazu、Eguchi Hidetoshi、Takiguchi Shuji、Satoh Taroh、Mimori Koshi、Ochiya Takahiro、Doki Yuichiro、Ofusa Ken、Mori Masaki、Ishii Hideshi	4．巻 10
2．論文標題 Distinct methylation levels of mature microRNAs in gastrointestinal cancers	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Nature Communications	6．最初と最後の頁 3888
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-019-11826-1	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 －

1．著者名 Tsunekuni Kenta、Konno Masamitsu、Haraguchi Naotsugu、Koseki Jun、Asai Ayumu、Matsuoka Kazuaki、Kobunai Takashi、Takechi Teiji、Doki Yuichiro、Mori Masaki、Ishii Hideshi	4．巻 9
2．論文標題 CD44/CD133-Positive Colorectal Cancer Stem Cells are Sensitive to Trifluridine Exposure	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Scientific Reports	6．最初と最後の頁 14861
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-50968-6	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 Ueda Yuji、Kawamoto Koichi、Konno Masamitsu、Noguchi Kozo、Kaifuchi Satoru、Satoh Taroh、Eguchi Hidetoshi、Doki Yuichiro、Hirotsu Takaaki、Mori Masaki、Ishii Hideshi	4．巻 10
2．論文標題 Application of C. elegans cancer screening test for the detection of pancreatic tumor in genetically engineered mice	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Oncotarget	6．最初と最後の頁 5412～5418
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18632/oncotarget.27124	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 Matsushita Katsunori...19名略、Ishii Hideshi、Obika Satoshi	4．巻 14
2．論文標題 A Hydrogen Peroxide Activatable Gemcitabine Prodrug for the Selective Treatment of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma	5．発行年 2019年
3．雑誌名 ChemMedChem	6．最初と最後の頁 1384～1391
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cmdc.201900324	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 Konno Masamitsu、Taniguchi Masateru、Ishii Hideshi	4．巻 110
2．論文標題 Significant Epitranscriptomes in Heterogeneous Cancer	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Cancer Science	6．最初と最後の頁 2318～2327
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.14095	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 Koseki Jun、Konno Masamitsu、Ishii Hideshi	4．巻 2
2．論文標題 Computational analyses for cancer biology based on exhaustive experimental backgrounds	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Cancer Drug Resistance	6．最初と最後の頁 419～427
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.20517/cdr.2019.33	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 Toshiyama Reishi、Konno Masamitsu、Eguchi Hidetoshi、Asai Ayumu、Noda Takehiro、Koseki Jun、Asukai Kei、Ohashi Tomofumi、Matsushita Katsunori、Iwagami Yoshifumi、Yamada Daisaku、Asaoka Tadafumi、Wada Hiroshi、Kawamoto Koichi、Gotoh Kunihito、Kudo Toshihiro、Satoh Taroh、Doki Yuichiro、Mori Masaki、Ishii Hideshi	4．巻 15
2．論文標題 Association of iron metabolic enzyme hepcidin expression levels with the prognosis of patients with pancreatic cancer	5．発行年 2018年
3．雑誌名 Oncology Letters	6．最初と最後の頁 8125～8133
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/ol.2018.8357	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 Toshiyama, R., Konno, M., Eguchi, H., Takemoto, H., Noda, T., Asai, A., Koseki, J., Haraguchi, N., Ueda, Y. Matsushita, K., Asukai, K., Ohashi, T., Iwagami, Y., Yamada, D., Sakai, D., Asaoka, T., Kudo, T., Kawamoto, K., Gotoh, K., Kobayashi, S., Satoh, T., Doki, Y., Nishiyama, N., Mori, M., Ishii, H.	4．巻 38
2．論文標題 Poly(ethylene glycol)-poly(lysine) block copolymer-ubenimex conjugate targets aminopeptidase N and exerts an antitumor effect in hepatocellular carcinoma stem cells	5．発行年 2018年
3．雑誌名 Oncogene	6．最初と最後の頁 244～260
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41388-018-0406-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 Kawamoto Koichi、Ohashi Tomofumi、Konno Masamitsu、Nishida Naohiro、Koseki Jun、Matsui Hidetoshi、Sakai Daisuke、Kudo Toshihiro、Eguchi Hidetoshi、Satoh Taroh、Doki Yuichiro、Mori Masaki、Ishii Hideshi	4．巻 16
2．論文標題 Cell-free culture conditioned medium elicits pancreatic β cell lineage-specific epigenetic reprogramming in mice	5．発行年 2018年
3．雑誌名 Oncology Letters	6．最初と最後の頁 3255～3259
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/ol.2018.9008	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 Baek Sung Jae、Sato Katsutoshi、Nishida Naohiro、Koseki Jun、Hayashi Kazuhiko、Kawamoto Koichi、Konno Masamitsu、Doki Yuichiro、Mori Masaki、Ogawa Kazuhiko、Ishii Hideshi	4．巻 16
2．論文標題 Carbon ion beam radioresistant rodent cells are sensitized to trifluorothymidine exposure	5．発行年 2018年
3．雑誌名 Oncology Letters	6．最初と最後の頁 3389～3393
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/ol.2018.9004	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 Toratani Masayasu、Konno Masamitsu、Asai Ayumu、Koseki Jun、Kawamoto Koichi、Tamari Keisuke、Li Zhihao、Sakai Daisuke、Kudo Toshihiro、Satoh Taroh、Sato Katsutoshi、Motooka Daisuke、Okuzaki Daisuke、Doki Yuichiro、Mori Masaki、Ogawa Kazuhiko、Ishii Hideshi	4．巻 78
2．論文標題 A Convolutional Neural Network Uses Microscopic Images to Differentiate between Mouse and Human Cell Lines and Their Radioresistant Clones	5．発行年 2018年
3．雑誌名 Cancer Research	6．最初と最後の頁 6703～6707
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1158/0008-5472.CAN-18-0653	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 Tamari Keisuke、Konno Masamitsu、Asai Ayumu、Koseki Jun、Hayashi Kazuhiko、Kawamoto Koichi、Murai Noriyuki、Matsufuji Senya、Isohashi Fumiaki、Satoh Taroh、Goto Noriko、Tanaka Shinji、Doki Yuichiro、Mori Masaki、Ogawa Kazuhiko、Ishii Hideshi	4．巻 4
2．論文標題 Polyamine flux suppresses histone lysine demethylases and enhances ID1 expression in cancer stem cells	5．発行年 2018年
3．雑誌名 Cell Death Discovery	6．最初と最後の頁 104
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41420-018-0117-7	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 Tominaga, K., Minato, H., Murayama, T., Sasahara, A., Nishimura, T., Kiyokawa, E., Kanauchi, H., Shimizu, S., Sato, A., Nishioka, K., Tsuji, E., Yano, M., Ogawa, T., Ishii, H., Mori, M., Akashi, K., Okamoto, K., Tanabe, M., Tada, K., Tojo, A., Gotoh, N.	4．巻 116
2．論文標題 Semaphorin signaling via MICAL3 induces symmetric cell division to expand breast cancer stem-like cells	5．発行年 2018年
3．雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6．最初と最後の頁 625～630
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.1806851116	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 Takaoka Yuji、Konno Masamitsu、Koseki Jun、Colvin Hugh、Asai Ayumu、Tamari Keisuke、Satoh Taroh、Mori Masaki、Doki Yuichiro、Ogawa Kazuhiko、Ishii Hideshi	4．巻 110
2．論文標題 Mitochondrial pyruvate carrier 1 expression controls cancer EMT and radioresistance	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Cancer Science	6．最初と最後の頁 1331～1339
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.13980	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 Ohshiro Takahito、Komoto Yuuki、Konno Masamitsu、Koseki Jun、Asai Ayumu、Ishii Hideshi、Taniguchi Masateru	4．巻 9
2．論文標題 Direct Analysis of Incorporation of an Anticancer Drug into DNA at Single-Molecule Resolution	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Scientific Reports	6．最初と最後の頁 3886
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-40504-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 －

〔学会発表〕　計25件（うち招待講演　2件／うち国際学会　2件）

1．発表者名 浅井 歩、荒尾 泰子、千々松 良太、石井 秀始
2．発表標題 早期膵がんのスクリーニングに向けた線虫テスト
3．学会等名 第3回日本生物診断研究会 2021年12月2日
4．発表年 2021年

１．発表者名 石井 秀始、千々松 良太
２．発表標題 One Carbon代謝に基づく消化器がんの精密なバイオマーカー研究の新展開
３．学会等名 第41回日本分子腫瘍マーカー研究会 2021年9月29日
４．発表年 2021年

１．発表者名 今野 雅允、石井 秀始
２．発表標題 早期膵がんのバイオマーカーとしての RNA 修飾
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 石井 秀始、HaoJian Zhang
２．発表標題 エピトランスクリプトームと腫瘍多様性
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 八代 正和、石井 秀始
２．発表標題 転移と微小環境
３．学会等名 第30回日本がん転移学会学術集会・総会
４．発表年 2021年

１．発表者名 石井 秀始
２．発表標題 miRNAメチル化
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 石井 秀始
２．発表標題 RNA Expression and Methylation in Liquid Biopsy
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 M. Konno, H. Ishii.
２．発表標題 RNA metabolism can be a novel new bio marker for malignant gastrointestinal cancer
３．学会等名 Cell Symposia: Regulatory RNAs（国際学会）
４．発表年 2019年

１．発表者名 今野 雅允、小関 準、島村 徹平、浅井 歩、石井 秀始
２．発表標題 RNA 塩基修飾を指標とした早期膵がんの新規バイオマーカー
３．学会等名 第21回日本RNA学会年会
４．発表年 2019年

１．発表者名 石井 秀始
２．発表標題 転移とEMT・がん幹細胞
３．学会等名 第28回 日本がん転移学会学術集会・総会
４．発表年 2019年

１．発表者名 石井 秀始、曽我 朋義
２．発表標題 代謝を利用した診断
３．学会等名 第7回がんと代謝研究会in仙台
４．発表年 2019年

１．発表者名 今野雅允、小関 準、島村 徹平、浅井 歩、石井 秀始
２．発表標題 RNA 代謝ががんの悪性化を生み出す
３．学会等名 第7回がんと代謝研究会in仙台
４．発表年 2019年

１．発表者名 石井 秀始
２．発表標題 がんエピトランスクリプトームを活用した新しい診断と治療
３．学会等名 第11回日本RNAi研究会(The 11th JARI Annual Meeting)
４．発表年 2019年

１．発表者名 石井 秀始、Chwee Teck Lim
２．発表標題 Innovative technology for next generation liquid biopsy 次世代リキッドバイオプシーのための新技術
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 小関 準、今野 雅允、土岐 祐一郎、石井 秀始
２．発表標題 消化器がん治療のための理論科学手法と機械学習を駆使した創薬研究
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 今野 雅允、石井 秀始
２．発表標題 エピトランスクリプトーム　ー消化器がんの新規バイオマーカー
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 今野雅允、浅井歩、田沼延公、島礼、小関準、佐藤太郎、 土岐祐一郎、森正樹、石井秀始
２．発表標題 糖代謝酵素のスプライシング変化による認知症発症機構の解明
３．学会等名 第６回がんと代謝研究会
４．発表年 2018年

１．発表者名 浅井歩、今野雅允、小関準、佐藤太郎、後藤典子、土岐祐一郎、森正樹、石井秀始
２．発表標題 膵がんの悪性化に関わるエピトランスクリプトーム制御
３．学会等名 第６回がんと代謝研究会
４．発表年 2018年

１．発表者名 田中真二(座長：石井秀始)
２．発表標題 臨床からみた癌幹細胞と免疫微小環
３．学会等名 第77回日本癌学会学術総会
４．発表年 2018年

１．発表者名 今野雅允、佐藤太郎、土岐祐一郎、森正樹、石井秀始
２．発表標題 がんエピトランスクリプトームの解明と応用
３．学会等名 第77回日本癌学会学術総会
４．発表年 2018年

１．発表者名 俊山礼志、今野雅允、野田剛広、浅井歩、小関準、川本弘一、坂井大介、工藤敏啓 、佐藤太郎、江口英利、土岐祐一郎、森正樹、石井秀始
２．発表標題 肝細胞癌において改良型ウベニメクスはアミノペプチダーゼNを標的とし、抗腫瘍効果を発揮する
３．学会等名 第77回日本癌学会学術総会
４．発表年 2018年

１．発表者名 松下克則、今野雅允、江口英利、岩上佳史、秋田裕史、浅岡忠史、野田剛広、後藤 邦仁、小林省吾、小比賀聡、土岐祐一郎、森正樹、石井秀始
２．発表標題 活性酸素応答性を付与したゲムシタビン誘導体による膵癌の新しい治療法の開発
３．学会等名 第77回日本癌学会学術総会
４．発表年 2018年

１．発表者名 石井秀始
２．発表標題 がんエピトランスクリプトーム研究の新展開
３．学会等名 第29回日本消化器癌発生学会総会
４．発表年 2018年

１．発表者名 泥谷直樹(座長：石井秀始)
２．発表標題 消化器癌の浸潤に関わる分子メカニズムの解明と治療への応用
３．学会等名 第9回 癌・炎症と抗酸化研究会
４．発表年 2018年

１．発表者名 Yanagisawa, K., Konno, M., Asai, A., Koseki, J., Mizushima, T., Satoh, T., Matsuzaki, M., Doki, Y., Ishii, H.
２．発表標題 Generation of invasion model of colorectal cancer with three-dimensional culture method.
３．学会等名 Single Cells: Technology to Biology Cell Symposia（国際学会）
４．発表年 2019年

〔図書〕　計0件

〔出願〕　計3件

産業財産権の名称	発明者	権利者
トンネル電流を使用したマイクロＲＮＡ解析	谷口正輝、石井秀始、大城敬人、今野雅允	同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/ 017654	出願年 2020年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称	発明者	権利者
miR302核酸改変体	石井秀始、今野雅允、小比賀聡、森正樹	同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/ 017659	出願年 2020年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称	発明者	権利者
エピジェネティックスを標的とした新規医薬	石井秀始、他８名	同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/017607	出願年 2020年	国内・外国の別 外国

〔取得〕　計0件

〔その他〕

－

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
研究分担者	今野　雅允 (KONNO Masamitsu) (80618207)	東京理科大学・研究推進機構生命医科学研究所・助教 (32660)	
研究分担者	浅井　歩 (ASAI Ayumu) (40783262)	大阪大学・産業科学研究所・特任助教（常勤） (14401)	
研究分担者	出口　真次 (DEGUCHI Shinji) (30379713)	大阪大学・基礎工学研究科・教授 (14401)	削除：2021年5月31日 出口が分担していた内容の基盤部分が構築できて方向性が立つところまで到達し、以後は代表者が実施することとなったため。
研究分担者	江口　英利 (EGUCHI Hidetoshi) (90542118)	大阪大学・医学系研究科・教授 (14401)	

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