

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：17102  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2019～2021  
課題番号：19K09176  
研究課題名(和文) ゲノム進化モデルにより同定された大腸癌におけるタンパク翻訳開始点制御の異常の解明  
  
研究課題名(英文) Aberrant Regulation of Protein Translation Start Sites in Colorectal Cancer Identified by Genome Evolution Models  
  
研究代表者  
増田 隆明 (Takaaki, Masuda)  
  
九州大学・大学病院・講師  
  
研究者番号：50463493  
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：翻訳開始制御因子である新規大腸がんドライバー遺伝子5MP1を標的とする化合物として、in silico予測で選出された樹脂のhinokitiolは、in vitroおよびin vivoにおいて5MP1過剰発現により強く大腸癌株化細胞に対し殺細胞効果を示した。またhinokitiolは5MP1過剰発現によって5MP1の標的遺伝子であるc-Myc発現を特異的に抑制することで細胞周期進行を抑制した。現在hinokitiolによるc-Myc発現抑制のメカニズムの解明を行っている。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

新しいがん進展メカニズムであるタンパク翻訳開始点異常を引き起こす5MP1遺伝子を同定していたが、本研究により5MP1を特異的に抑制する樹脂であるhinokitiolを同定した。hinokitiolは治療抵抗性のある悪性腫瘍にも治療効果を示す可能性がある。さらにhinokitiolは既に商品として販売されている物質であるため安価に使用できることが期待される。

研究成果の概要(英文)：hinokitiol, a resin selected by in silico prediction as a compound targeting the novel colon cancer driver gene 5MP1, a regulator of translation initiation, showed strong cytotoxic effects against colon cancer lineage cells overexpressing 5MP1 in vitro and in vivo. In addition, hinokitiol suppressed cell cycle progression by specifically inhibiting c-Myc expression, a target gene of 5MP1, through 5MP1 overexpression. We are currently investigating the mechanism by which hinokitiol suppresses c-Myc expression.

研究分野：腫瘍学

キーワード：タンパク翻訳 ショニング薬 ゲノム進化モデル 大腸癌 ドライバー遺伝子 翻訳リプログラミング 5MP1 リポジ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

大腸癌をはじめとした悪性腫瘍は、均質な細胞集団ではなく多様な遺伝学的背景を持つ不均一な複数の細胞の集合であることが明らかとなっている。この腫瘍内多様性が様々な治療に対する治療抵抗性の主たる原因と考えられている (*Nature*, 2010 など)。したがって、腫瘍内多様性に左右されない治療標的を同定することが癌治療における喫緊の課題である。

当研究室の大腸癌の包括的ゲノム解析により、大腸癌のゲノム進化モデルを提唱し、7番染色体短腕の増幅が大腸癌進化における前癌病変から認め、多くの癌細胞が共有するゲノム異常であることが明らかとなり、7番染色体短腕に内包される遺伝子が、腫瘍内多様性による治療抵抗性を克服する有効な分子治療標的になることが期待される。

同定された遺伝子の1つである5MP1は、タンパクの翻訳開始点を制御する遺伝子(翻訳リプログラミング遺伝子)の一つである。翻訳リプログラミングの異常が及ぼす癌に対する生物学的意義、並びに癌における臨床的悪性度との関連については不明である。このメカニズムを明らかにすることにより、腫瘍内多様性に影響されない、従来にない新規メカニズムの分子標的治療の開発が期待される。

### 2. 研究の目的

翻訳開始制御因子である5MP1の標的遺伝子を、リボソームプロファイリングを用いた網羅的翻訳解析によって同定し、5MP1が大腸癌などの消化器癌において翻訳制御を介して引き起こす発癌および癌の進展のメカニズムを明らかにすることを目的とする。さらに既存の化合物データベースを用いたバイオインフォマティクス解析により5MP1を阻害し腫瘍縮小効果を示す化合物を同定する

### 3. 研究の方法

リボソームプロファイリングを用いた翻訳開始制御因子5MP1の標的遺伝子の同定

5MP1 遺伝子導入およびノックダウン大腸癌細胞株(樹立済み)、CRISPR Cas9 システムを用いた5MP1 ノックアウト大腸がん細胞株およびそのコントロールを用いてリボソームプロファイリングを施行し、翻訳開始点の異なる候補遺伝子群を同定する。さらに、候補遺伝子群を Western blot や免疫組織染色によりタンパク発現解析を行い検証する。

5MP1標的遺伝子の *in vitro*, *in vivo* 実験による機能解析

候補遺伝子の翻訳開始点の異なる遺伝子発現ベクターを作成し、大腸癌細胞株に遺伝子導入後、*in vitro*, *in vivo* で増殖能などの機能解析および、RNA シークエンスや病理組織標本を用いて遺伝子発現解析を行う。

Bioinformaticsを用いた *In silico* 予測による5MP1を標的とする化合物の同定と *in vitro*, *in vivo* 実験による検証

複数の既存の化合物データベースを用いて、タンパク構造類似性、発現プロファイル類似性といった情報から5MP1を阻害しうる化合物の候補を探索し有望な化合物を同定する。(Yamanishi et al. *Bioinformatics* 2010. Iwata et al. *Sci Rep* 2017)。さらに、ヒト大腸がん由来のPDXマウスやオルガノイドを用いて上記で同定された化合物の大腸癌縮小効果を検証する。

### 4. 研究成果

リボソームプロファイリングが困難であったため現在共同研究者に依頼して行っている。5MP1を標的とする化合物として *In silico* 予測で選出された hinokitiol は、*in vitro* および *in vivo* において5MP1 過剰発現により強く大腸癌株化細胞に対し殺細胞効果を示した。また hinokitiol

は 5MP1 過剰発現によって 5MP1 の標的遺伝子である c-Myc 発現を特異的に抑制することで細胞周期進行を抑制した。現在 hinokitiol による c-Myc 発現抑制のメカニズムの解明を行っている。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 17件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Masuda T, Mimori K.	4. 巻 3(4)
2. 論文標題 Artificial intelligence-assisted drug repurposing via "chemical-induced gene expression ranking".	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Patterns (N Y).	6. 最初と最後の頁 100470
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.patter.2022.100470.	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 Takahashi J, Masuda T, Kitagawa A, Tobo T, Nakano Y, Abe T, Ando Y, Kosai K, Kobayashi Y, Matsumoto Y, Yoshizumi T, Mori M, Mimori K.	4. 巻 100(2)
2. 論文標題 Fanconi Anemia Complementation Group E, a DNA Repair-Related Gene, Is a Potential Marker of Poor Prognosis in Hepatocellular Carcinoma.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oncology.	6. 最初と最後の頁 101-113.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000520582.	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 Koike K, Masuda T, Sato K, Fujii A, Wakiyama H, Tobo T, Takahashi J, Motomura Y, Nakano T, Saito H, Matsumoto Y, Otsu H, Takeishi K, Yonemura Y, Mimori K, Nakagawa T.	4. 巻 113(1)
2. 論文標題 GET4 is a novel driver gene in colorectal cancer that regulates the localization of BAG6, a nucleocytoplasmic shuttling protein.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 156-169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15174.	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 Shimizu D, Taniue K, Matsui Y, Haeno H, Araki H, Miura F, Fukunaga M, Shiraishi K, Miyamoto Y, Tsukamoto S, Komine A, Kobayashi Y, Kitagawa A, Yoshikawa Y, Sato K, Saito T, Ito S, Masuda T, Niida A, Suzuki M, Baba H, Ito T, Akimitsu N, Kodera Y, Mimori K.	4. 巻 -
2. 論文標題 Pan-cancer methylome analysis for cancer diagnosis and classification of cancer cell of origin.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Gene Ther.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41417-021-00401-w.	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 Hirata H, ... Masuda T, et al	4. 巻 81(19)
2. 論文標題 The Evolving Genomic Landscape of Esophageal Squamous Cell Carcinoma Under Chemoradiotherapy.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Res.	6. 最初と最後の頁 4926-4938
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-21-0653.	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 Fukunaga M, Mimori K, Masuda T, Hu Q, Yamada K, Mori M.	4. 巻 51(10)
2. 論文標題 Postoperative elevation in the plasma CCL2 level is a predictive biomarker of colorectal cancer recurrence.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Surg Today.	6. 最初と最後の頁 1671-1681
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-021-02273-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 Hu Q, Masuda T, Koike K, Sato K, Tobo T, Kuramitsu S, Kitagawa A, Fujii A, Noda M, Tsuruda Y, Otsu H, Kuroda Y, Ito S, Oki E, Mimori K.	4. 巻 11(1)
2. 論文標題 Oxysterol binding protein-like 3 (OSBPL3) is a novel driver gene that promotes tumor growth in part through R-Ras/Akt signaling in gastric cancer.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 19178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-98485-9.	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 Kobayashi Y, Masuda T, Fujii A, Shimizu D, Sato K, Kitagawa A, Tobo T, Ozato Y, Saito H, Kuramitsu S, Noda M, Otsu H, Mizushima T, Doki Y, Eguchi H, Mori M, Mimori K.	4. 巻 112(8)
2. 論文標題 Mitotic checkpoint regulator RAE1 promotes tumor growth in colorectal cancer.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 3173-3189.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14969.	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 Kuramitsu S, Masuda T, Hu Q, Tobo T, Yashiro M, Fujii A, Kitagawa A, Abe T, Otsu H, Ito S, Oki E, Mori M, Mimori K.	4. 巻 18(4)
2. 論文標題 Cancer-associated Fibroblast-derived Spondin-2 Promotes Motility of Gastric Cancer Cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Genomics Proteomics.	6. 最初と最後の頁 521-529.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/cgp.20277.	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 Hu Q, Nonaka K, Wakiyama H, Miyashita Y, Fujimoto Y, Jogo T, Hokonohara K, Nakanishi R, Hisamatsu Y, Ando K, Kimura Y, Masuda T, Oki E, Mimori K, Oda Y, Mori M.	4. 巻 10(9)
2. 論文標題 Cytolytic activity score as a biomarker for antitumor immunity and clinical outcome in patients with gastric cancer.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Med.	6. 最初と最後の頁 3129-3138.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.3828.	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 Fujii A, Masuda T et al	4. 巻 112
2. 論文標題 The novel driver gene ASAP2 is a potential druggable target in pancreatic cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Sci	6. 最初と最後の頁 1655-1668
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14858	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 Masuda T et al	4. 巻 40
2. 論文標題 The Expression Level of PD-L1 (CD274) mRNA in Peripheral Blood Is a Potential Biomarker for Predicting Recurrence in Breast Cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anticancer Res	6. 最初と最後の頁 3733-3742
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.14362	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 Hu, Q, Masuda T et al	4. 巻 15
2. 論文標題 Potential association of LOXL1 with peritoneal dissemination in gastric cancer via promotion of EMT	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PloS ONE	6. 最初と最後の頁 e0241140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0241140	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 Nambara S, Masuda T, Kobayashi Y, Sato K, Tobo T, Koike K, Noda M, Ogawa Y, Kuroda Y, Ito S, Eguchi H, Sugimachi K, Mimori K.	4. 巻 111(2)
2. 論文標題 GTF2IRD1 on chromosome 7 is a novel oncogene regulating the tumor-suppressor gene TGF R2 in colorectal cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 343-355
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14248.	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 Kitagawa A, Masuda T, Takahashi J, Tobo T, Noda M, Kuroda Y, Hu Q, Kouyama Y, Kobayashi Y, Kuramitsu S, Sato K, Fujii A, Yoshikawa Y, Wakiyama H, Shimizu D, Tsuruda Y, Eguchi H, Doki Y, Mori M, Mimori K.	4. 巻 17(2)
2. 論文標題 KIF15 Expression in Tumor-associated Monocytes Is a Prognostic Biomarker in Hepatocellular Carcinoma.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Genomics Proteomics.	6. 最初と最後の頁 141-149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/cgp.20174.	査読の有無 無
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 Sato K, Masuda T, Hu Q, Tobo T, Gillaspie S, Niida A, Thornton M, Kuroda Y, Eguchi H, Nakagawa T, Asano K, Mimori K.	4. 巻 44
2. 論文標題 Novel oncogene 5MP1 reprograms c-Myc translation initiation to drive malignant phenotypes in colorectal cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 EBioMedicine.	6. 最初と最後の頁 387-402
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ebiom.2019.05.058.	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 Hayashi N, Kuroda Y, Saito T, Tsuruda Y, Niida A, Otsu H, Eguchi H, Masuda T, Suzuki Y, Natsugoe S, Mimori K.	4. 巻 49(9)
2. 論文標題 A clinical trial of somatic and germline analyses for healthy longevity in a postoperative cancer patient.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Surg Today.	6. 最初と最後の頁 738-747
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-019-01789-7.	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 Kouyama Y, Masuda T, Fujii A, Ogawa Y, Sato K, Tobo T, Wakiyama H, Yoshikawa Y, Noda M, Tsuruda Y, Kuroda Y, Eguchi H, Ishida F, Kudo SE, Mimori K.	4. 巻 110(10)
2. 論文標題 Oncogenic splicing abnormalities induced by DEAD-Box Helicase 56 amplification in colorectal cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 3132-3144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14163.	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5件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 増田隆明、佐藤晋彰、小池健輔、浅野桂、三森功士
2. 発表標題 新規ドライバー遺伝子5MP1は癌遺伝子c-Mycの翻訳開始始点を制御することで大腸癌の進展に寄与する
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 増田隆明、斉藤秀幸、大里祐樹、中野貴文、小林雄太、高橋純一、大津甫、武石一樹、米村祐輔、三森功士
2. 発表標題 大腸がんにおける新規ドライバー遺伝子5MP1のリポジショニング薬の同定と機能解析
3. 学会等名 第76回日本消化器外科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 増田隆明
2. 発表標題 precision medicineのための外科手術～ゲノム医療のより有効な実践のために～
3. 学会等名 第120回日本外科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 増田隆明、清水大、鶴田祐介、大津甫、黒田陽介、江口英利、三森功士
2. 発表標題 治療抵抗性の原因である腫瘍内多様性の克服に向けた“真の”分子治療標的の同定への取り組み～大腸がんゲノム進化モデルからのアプローチ～
3. 学会等名 第119回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 増田隆明、脇山浩明、鶴田祐介、大津甫、黒田陽介、江口英利、三森功士
2. 発表標題 活性酸素安定効果を有する抗リウマチ薬スルファサラジン（SSZ）による食道癌放射線治療の増強効果
3. 学会等名 第74回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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	三森 功士  (Mimori Koshi)  (50322748)	九州大学・大学病院・教授    (17102)	

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
---------	---------