

令和 6 年 9 月 9 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H00513

研究課題名（和文）がん転移機構の分子シグナルから個体レベルまでの包括的解析

研究課題名（英文）Comprehensive Studies on the Mechanisms of Cancer Metastasis from Molecular Signaling to Whole-Body Level

研究代表者

宮園 浩平（MIYAZONO, Kohei）

東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・卓越教授

研究者番号：90209908

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 34,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、TGF- およびEMTのがん転移における役割を中心としたゲノム・分子、細胞から個体レベルまでを明らかにする研究と、組織透明化技術の応用を中心とした個体、臓器・組織から細胞・分子レベルに向けた研究という双方向からのアプローチにより、がん転移の研究を推進した。その結果、進行膵臓がんにおけるTGF- シグナルの異常に関連した分子機構の同定、口腔がんにおけるTGF- によるEMT誘導の新たな分子機構の同定などに至った。さらに、組織透明化による解析で、転移巣におけるがん細胞の細胞周期、転移がん細胞とリンパ管の時空間的關係などを明らかにすることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題の中心的な問いは、がん転移という複雑な過程からなる生命現象の分子機構を多角的なアプローチで明らかにすることにあった。分子・ゲノム関連の研究手法に加えて、組織透明化の手法を導入することで分子から個体レベルでの解析を進める研究基盤を構築できたと考える。今後、組織透明化技術と空間オミクス解析を組み合わせることで、マウスの全臓器レベルで、がん転移の正確な位置と遺伝子発現の情報を同時に得ることが可能になれば、これまで知られていなかった新たながんの転移機構の解明につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：In this research project, we investigated the mechanism of cancer metastasis through a bi-directional approach: research to clarify the role of TGF- and EMT in cancer metastasis from the genomic, molecular, and cellular to the whole-body level, and research using the tissue clearing technology, to study cancer metastasis from the whole-body, organ and tissue to the cellular and molecular level. As a result, we have identified molecular mechanisms associated with aberrant TGF- signaling in advanced pancreatic cancer and molecular mechanisms of EMT induction by TGF- in oral cancer. Furthermore, analysis by the tissue clearing technology allowed us to clarify the cell cycle of cancer cells at metastatic sites, as well as the spatio-temporal interaction between metastatic cancer cells and lymphatic vessels.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：浸潤・転移 シグナル伝達 分子イメージング がん微小環境 実験動物モデル

## 1. 研究開始当初の背景

近年、がんの分子機構の理解が急速に進んだことに伴い、新たながんの分子標的治療や免疫チェックポイント療法が開発され、がんの治療法には革命的ともいえるべき変革が見られてきた。一方で、転移が見られる症例にはいまだに有効な治療法は限られており、新たな治療法が開発が期待されている。がんの転移に関する基礎的な分子メカニズムの理解は近年急速に進んできたが、いまだに不明の点が多い。これはがん転移が複数の複雑なステップ、すなわち、(1) 原発巣でのがん細胞の運動と浸潤、(2) 血管内侵入 (intravasation)、(3) 腫瘍細胞の循環血液中での生存と血管壁への接着、(4) 血管外脱出 (extravasation)、(5) 転移巣の形成 (colonization)、という転移のカスケードを経て成立することが大きな要因である。さらに、1889年に Stephen Paget が提唱した Seed and soil theory に代表されるように、がんの転移臓器の決定にはがん細胞とがん微小環境との相互作用が決定的な要因となる。がん転移がこのような複雑な要因から成り立つことから、がんの転移機構の理解には分子・ゲノムから個体レベルまでを包括的に探索する基礎的な研究が必須である。

我々はこれまで TGF- $\beta$  のシグナル伝達機構の研究を通じて、上皮間葉移行 (epithelial-mesenchymal transition; EMT) の分子メカニズムの解明、さらには最近我々のグループで技術開発を進めてきた組織透明化により個体・臓器レベルから 1 細胞レベルまで解析できるイメージング技術によって、がんの浸潤・転移の分子機構を明らかにしてきた。EMT のがんの浸潤・転移における役割についてはいくつかの研究グループから相反する結果が報告されたこともあり、長い間議論となってきたが、最近の研究によって EMT ががん転移のカスケードの複数のステップで重要な役割を持つこと、一方で EMT の逆の経路である MET (mesenchymal-epithelial transition) が転移巣の形成には重要であることが明らかとなり、我々のグループはいくつかの重要な発見を行うことでこの分野の発展に大きく貢献してきた。

## 2. 研究の目的

本研究課題の中心的な「問い」は、がん転移という複雑な過程からなる生命現象の分子機構を多角的なアプローチで明らかにすることにある。がん転移は複数の複雑なステップを経て成立することから、その分子機構の解明はがん転移を理解する上で極めて重要である。我々はこれまでに TGF- $\beta$  シグナル経路とそれによって誘導される EMT の研究を行い、TGF- $\beta$  が複数の経路でがん転移に重要な役割を果たすことを明らかにしてきた。一方で、組織透明化技術による高解像度の解析手法の導入により独自の視点からがん転移の研究を進めてきた。本研究課題はこれまでの研究成果を基盤に、TGF- $\beta$  や TGF- $\beta$  によって誘導される EMT とがん転移の関係について分子・ゲノムから細胞、個体レベルまで詳細に明らかにする。さらに透明化技術を発展させ、個体・臓器・組織レベルから 1 細胞レベルまでがん転移機構の解明を新たな視点から推進する。本研究課題ではがん転移の分子機構に焦点を当てつつ、その成果をがんの領域を超えて発展させることを目指して研究を推進する。

## 3. 研究の方法

本研究は、(柱 1) TGF- $\beta$  および EMT のがん転移における役割を中心とした分子・ゲノム、細胞から個体レベルまでを明らかにする研究と、(柱 2) 透明化技術の応用を中心とした個体、臓器・組織から細胞・分子レベルに向けた研究という双方向からのアプローチによりがん転移の研究を推進した。

(柱 1) では、膵臓がんにおける TGF- $\beta$  ファミリーのシグナル分子 Smad4 の役割とがん転移の関連、EMT 表現形質の多様性とそのシグナル経路やがん転移との関連、TGF- $\beta$  が種々のがん細胞に与える多様な細胞生物学的作用を中心に、種々の分子生物学的手法、ゲノム解析技術などを活用しながら解析を行なった。

(柱 2) では組織透明化手法 CUBIC により、マウスのさまざまな臓器を高度に透明化した後、ライトシート顕微鏡によって撮影することで 1 細胞レベルの解像度を有して 3 次元の観察を行なった。本研究では抗体による免疫組織染色法に加え、VE カドヘリン-tdTomato マウスや Prox1-GFP マウスなど遺伝子改変マウスを用いた。さらに目的とするシグナルを抽出することができるように機械学習を取り入れ、観察された画像から脈管の「形」の違いを解析するために、位相的データ解析や非常ポアソン過程 (NHPP) などの数理解析を行なった。

## 4. 研究成果

(柱 1) TGF- $\beta$  および EMT のがん転移における役割

(1) 膵臓がんにおける Smad4 の役割とがん転移

TGF- $\beta$  ファミリーのシグナルは受容体によってリン酸化される R-Smad と、R-Smad と結合して Smad 複合体の形成に関わる Co-Smad からなる (引用文献 1)。TGF- $\beta$  ファミリーで共有される Co-Smad である Smad4 の異常は膵臓がん症例の半数で見られ、その異常は TGF- $\beta$  による増殖

抑制作用を喪失させることでがんの進展に寄与すると考えられていた。しかし、KRAS 遺伝子に異常が起こると TGF- $\beta$  は EMT を誘導することから、膵臓がん発生の早期から TGF- $\beta$  は腫瘍促進的に働くことを我々は提唱してきた。複数のがん関連遺伝子に変異が起こる中で SMAD4 の異常が膵臓がん細胞でどのような役割を果たすかは十分には明らかとなっていなかった。

ヒト膵臓がん細胞株 PANC-1 からゲノム編集により作製した SMAD4-KO 細胞と Smad4 再導入細胞株を用いて細胞機能を解析した。SMAD4-KO 細胞では TGF- $\beta$  による細胞増殖抑制、上皮細胞マーカーの発現抑制が低下したが、細胞運動性亢進作用には影響がなかった。また、足場非依存性増殖能とヌードマウスに皮下移植した際の腫瘍形成能にも有意な影響はなかった。一方、ある種の膵臓がん細胞株では無刺激状態でも TGF- $\beta$  ファミリー因子のシグナル経路が強く活性化していることを見いだした。また、複数の膵臓がん細胞株を用いた解析では、これまで知られていなかったサイトカイン受容体タンパクが膵臓がん細胞で Smad4 の調節を受けることが明らかとなり、膵臓がんの治療標的となりうると思われた。

## (2) 口腔扁平上皮がん細胞における TGF- $\beta$ 刺激によって誘導される EMT の解析

TGF- $\beta$  は口腔がん細胞に作用して細胞周期を G1 期に停止させて増殖を抑制すると同時に EMT を誘導する。これまではがん細胞は悪性化とともに TGF- $\beta$  による増殖抑制作用に抵抗性になった後に、TGF- $\beta$  によって EMT が誘導されると言う考えが主流であった。我々は TGF- $\beta$  誘導性 EMT と細胞周期との関連を明らかにするために細胞周期をモニタリングできる Fucci レポーターシステムを用いて、G1 期に移行して増殖が低下した細胞と S/G2/M 期に存在する増殖中の細胞を FACS で分取してこれらの細胞の特質を比較した。その結果、G1 期にあって増殖が停止した細胞の方が S/G2/M 期にある細胞より運動能が高く、EMT が誘導されているという、これまでの考え方を大きく変える結果を得た。さらに single-cell RNA seq による解析で、TGF- $\beta$  が誘導する EMT には従来知られていた EMT 転写因子である Slug を介する経路 (Slug 依存性経路) に加えて EMT 転写因子を介さない経路 (Slug 非依存性経路) が存在することを見出した。この現象の分子機序を解析した結果、TGF- $\beta$  標的遺伝子として新たに KRTAP2-3 を見出し、KRTAP2-3 が Slug 非依存性経路を介して EMT を誘導することを明らかにした (引用文献 2)。

## (3) トリプルネガティブ乳がん細胞(TNBC)における合成二重鎖 RNA アナログによる TGF- $\beta$ の抗 pyroptosis 作用の抑制作用

polyI:C は従来から研究に用いられているレチノイン酸誘導性遺伝子 (RIG-I) 様受容体 (RLR) を活性化する合成二本鎖 RNA (dsRNA) アナログであり、polyI:C の遺伝子導入は臨床試験でも評価されてきた。しかし、RLR による腫瘍抑制の詳細な分子機構、例えば他のシグナル伝達経路との相互作用などは十分には明らかとなっていない。我々は、polyI:C の細胞へのトランスフェクションにより、RLR 依存的に TGF- $\beta$  シグナルが抑制されることを明らかにした。また polyI:C による TGF- $\beta$  シグナルの抑制が、がん細胞死を促進し、それが恒常的活性型 Smad3 の強制発現により減弱することを見出した。さらに、polyI:C 導入による細胞死は、apoptosis ではなく pyroptosis の特徴を示すことが明らかとなった。また、マウスモデルを用いて、polyI:C 導入の効果を確認することができた。これらの結果から、polyI:C および関連する dsRNA アナログの腫瘍内への投与は、TGF- $\beta$  の抗 pyroptosis 機能阻害により、TNBC に対する治療法となる可能性があらることが示唆された (引用文献 3)。

## (柱 2) 透明化技術を応用したがん転移の分子機構

### (1) 組織透明化によるがん細胞周期の可視化

組織透明化技術は、現在、神経科学分野だけでなく、がん研究分野にも活用されている新しいイメージング技術である。我々はこれまで、組織透明化技術をがんの転移の研究に応用してきた (引用文献 4)。今回我々は、Fucci レポーターシステムを発現するがん細胞株 (ヒト肺がん細胞株 A549 とマウス乳がん細胞株 4T1) を用いて、組織透明化法により原発性および転移性腫瘍の細胞周期を可視化した。原発あるいは転移巣の Fucci レポーターの蛍光パターンは、様々な臓器の間で、さらには同じ臓器内のコロニーの間でも異なっていたが、肺や骨転移巣などでは中心部に G1 期の細胞が、周辺部では S/G2/M 期の細胞が特徴的に見られる傾向を示した。さらに、この Fucci レポーター発現細胞を用いて、抗がん剤の効果を評価した。用いた 3 種類の抗がん剤のうち、5-フルオロウラシル (5-FU) の投与では in vitro および in vivo の両方で 4T1-Fucci 細胞の G2/M 期での停止が誘導され、特徴的な蛍光パターンが得られた。このように、組織透明化手法と Fucci レポーターシステムの組み合わせは、がんの転移や薬剤耐性のメカニズムの解析に有用であると思われた (引用文献 5)。

### (2) 位相的データ解析による新たな血管・リンパ管構造評価法の確立とがん転移とリンパ管の機能的関連

近年、血管やリンパ管など脈管構造の解析に 3 次元画像が用いられることが増えているが、1 細胞レベルの詳細な解析には未だ免疫組織学的手法を用いた 2 次元の画像解析が一般的である。また、取得された画像の評価には脈管の分岐点や長さ、幅といったパラメータが利用されており、脈管構造を「形」から総合的に評価する手法はこれまで確立されていなかった。

今回、我々は組織透明化手法 CUBIC によりマウスのさまざまな臓器を透明化し、血管・リン

パ管を臓器のまま3次元かつ高解像度にて可視化することに成功した。さらに、名古屋大学大学院医学系研究科の島村徹平教授らのグループとの共同研究により、観察された画像から脈管の形の違いを解析するために、位相的データ解析の1つであるパーシステントホモロジーにより評価した。また、非同次ポアソン過程(NHPP)による解析で、血管の広がりや方向性を総合的に評価する方法を確立した。

マウス黒色腫細胞 B16F10 の尾静脈注射による肺転移モデルでのがん転移とリンパ管の CUBIC による可視化を行なった(図1)。転移したがん細胞とリンパ管の3次元の距離を解析した結果、がん細胞移植から10日後にはリンパ管が多く転移したがん細胞と接するようになっていることが明らかとなった。さらにパーシステントホモロジーによりがん転移後の肺のリンパ管を解析したところ、転移したがん細胞とリンパ管が接するよう見える数日前に一時的に構造が変化している可能性が示唆された。このことは、がん細胞がリンパ管と接触するようになる数日前に、がん細胞がリンパ管に何らかのシグナルを出すことで、効果を及ぼしているという現象を示唆するものと考えられた(引用文献6)。

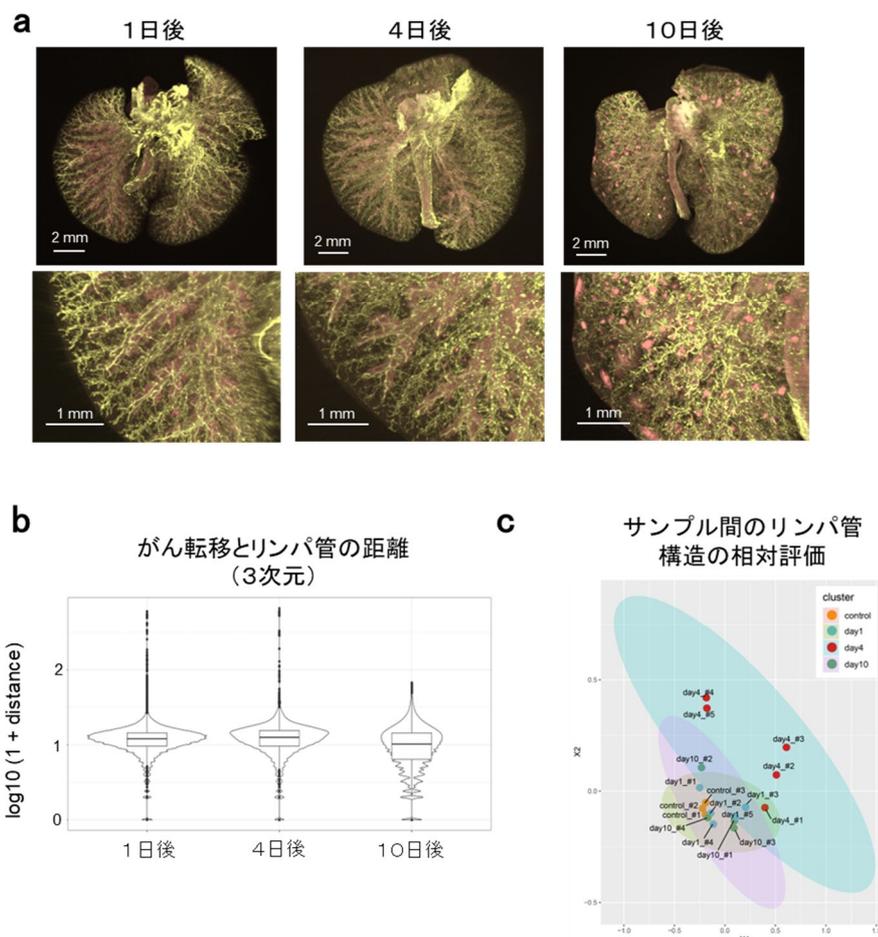


図1. 肺転移モデルでのがん転移およびリンパ管の可視化

赤色タンパク質 mCherry を発現したマウス黒色腫細胞 B16F10 を Prox1-GFP マウスの尾静脈から注射し、肺転移を誘導した。(a) B16F10 細胞の移植から1日後、4日後、10日後の肺リンパ管(黄色)および B16F10 の転移(赤色)を示す。下段は拡大図。(b) B16F10 細胞のがん転移とリンパ管との距離を3次元で測定した結果を示す。(c) B16F10 細胞の移植から1日後(day1)、4日後(day4)、10日後(day10)および対照群(control)の肺リンパ管についてパーシステントホモロジーで解析した結果を示す。移植から4日後、すなわちがん細胞とリンパ管の距離が近くなる数日前に、肺リンパ管のパターンの変化が起こることを示唆する(引用文献6より転載)。

#### <引用文献>

- Miyazawa K, Itoh Y, Fu H, Miyazono K. Receptor-activated transcription factors and beyond: multiple modes of Smad2/3-dependent transmission of TGF- $\beta$  signaling. *J Biol Chem*. 2024; 300 (5): 107256. doi: 10.1016/j.jbc.2024.107256.
- Takahashi Kazuki, Podyma-Inoue KA, Saito M, Sakakitani S, Sugauchi A, Iida K, Iwabuchi S, Koinuma D, Kurioka K, Konishi T, Tanaka S, Kaida A, Miura M, Hashimoto S, Okada M, Uchihashi T, Miyazono K, Watabe T. TGF- $\beta$  generates a population of cancer cells residing in G1 phase with high motility and metastatic potential via KRTAP2-3. *Cell Rep*. 2022; 40 (13): 111411. doi: 10.1016/j.celrep.2022.111411.

3. Tamura Y, Morikawa M, Tanabe R, Miyazono K, Koinuma D. Anti-pyroptotic function of TGF- $\beta$  is suppressed by a synthetic dsRNA analogue in triple negative breast cancer cells. **Mol Oncol**. 2021; 15 (5): 1289-1307. doi: 10.1002/1878-0261.12890.
4. Takahashi Kei, Kubota SI, Ehata S, Ueda HR, Miyazono K. Protocol for imaging and analysis of mouse tumor models with CUBIC tissue clearing. **STAR Protoc**. 2020; 1 (3): 100191. doi: 10.1016/j.xpro.2020.100191.
5. Takahashi Kei, Tanabe R, Ehata S, Kubota SI, Morishita Y, Ueda HR, Miyazono K. Visualization of the cancer cell cycle by tissue-clearing technology using the Fucci reporter system. **Cancer Sci**. 2021; 112 (9): 3796-3809. doi: 10.1111/cas.15034.
6. Takahashi Kei, Abe K, Kubota SI, Fukatsu N, Morishita Y, Yoshimatsu Y, Hirakawa S, Kubota Y, Watabe T, Ehata S, Ueda HR, Shimamura T, Miyazono K. An analysis modality for vascular structures combining tissue-clearing technology and topological data analysis. **Nat Commun**. 2022; 13 (1): 5239. doi: 10.1038/s41467-022-32848-2.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Takahashi-Yamashiro Kei, Miyazono Kohei	4. 巻 129
2. 論文標題 Tissue clearing method in visualization of cancer progression and metastasis	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Upsala Journal of Medical Sciences	6. 最初と最後の頁 e10634~
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.48101/ujms.v129.10634	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 Miyazawa Keiji, Itoh Yuka, Fu Hao, Miyazono Kohei	4. 巻 300
2. 論文標題 Receptor-activated transcription factors and beyond: multiple modes of Smad2/3-dependent transmission of TGF- signaling	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 107256 ~ 107256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2024.107256	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 Tokizaki Shiori, Podyma Inoue Katarzyna A., Matsumoto Takehisa, Takahashi Kazuki, Kobayashi Miho, Ibi Haruka, Uchida Shizuka, Iwabuchi Sadahiro, Harada Hiroyuki, Hashimoto Shinichi, Miyazono Kohei, Shirouzu Mikako, Watabe Tetsuro	4. 巻 115
2. 論文標題 Inhibition of transforming growth factor signals suppresses tumor formation by regulation of tumor microenvironment networks	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 211 ~ 226
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.16006	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 Kei, Abe Ko, Kubota Shimpei I., Fukatsu Noriaki, Morishita Yasuyuki, Yoshimatsu Yasuhiro, Hirakawa Satoshi, Kubota Yoshiaki, Watabe Tetsuro, Ehata Shogo, Ueda Hiroki R., Shimamura Teppei, Miyazono Kohei	4. 巻 13
2. 論文標題 An analysis modality for vascular structures combining tissue-clearing technology and topological data analysis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5239~
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-022-32848-2	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 Takahashi Kazuki, Podyma-Inoue Katarzyna A., Saito Maki, Sakakitani Shintaro, Sugauchi Akinari, Iida Keita, Iwabuchi Sadahiro, Koinuma Daizo, Kurioka Kyoko, Konishi Toru, Tanaka Susumu, Kaida Atsushi, Miura Masahiko, Hashimoto Shinichi, Okada Mariko, Uchihashi Toshihiro, Miyazono Kohei, Watabe Tetsuro	4. 巻 40
2. 論文標題 TGF- generates a population of cancer cells residing in G1 phase with high motility and metastatic potential via KRTAP2-3	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 111411 ~
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2022.111411	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 Ehata Shogo, Miyazono Kohei	4. 巻 10
2. 論文標題 Bone Morphogenetic Protein Signaling in Cancer; Some Topics in the Recent 10 Years	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 883523~
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2022.883523	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 Tamura Yusuke, Tsutsumi Shuichi, Miyazono Kohei, Koinuma Daizo	4. 巻 113
2. 論文標題 PolyI:C attenuates transforming growth factor signaling to induce cytostasis of surrounding cells by secreted factors in triple negative breast cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 940 ~ 949
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15241	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 Ogami Tomohiro, Tamura Yusuke, Toss Kim, Yuki Keiko, Morikawa Masato, Tsutsumi Shuichi, Aburatani Hiroyuki, Miyazawa Keiji, Miyazono Kohei, Koinuma Daizo	4. 巻 171
2. 論文標題 MAB21L4 regulates the TGF- induced expression of target genes in epidermal keratinocytes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 399 ~ 410
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvab141	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 Tamura Yusuke, Morikawa Masato, Tanabe Ryo, Miyazono Kohei, Koinuma Daizo	4. 巻 15
2. 論文標題 Anti pyroptotic function of TGF is suppressed by a synthetic dsRNA analogue in triple negative breast cancer cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Oncology	6. 最初と最後の頁 1289 ~ 1307
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1878-0261.12890	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 Kei, Tanabe Ryo, Ehata Shogo, Kubota Shimpei I., Morishita Yasuyuki, Ueda Hiroki R., Miyazono Kohei	4. 巻 112
2. 論文標題 Visualization of the cancer cell cycle by tissue clearing technology using the Fucci reporter system	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 3796 ~ 3809
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15034	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 Kei, Kubota Shimpei I., Ehata Shogo, Ueda Hiroki R., Miyazono Kohei	4. 巻 1
2. 論文標題 Protocol for Imaging and Analysis of Mouse Tumor Models with CUBIC Tissue Clearing	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 STAR Protocols	6. 最初と最後の頁 100191 ~ 100191
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xpro.2020.100191	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29件 (うち招待講演 12件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 帯金明日香、横山隆志、齋藤正夫、宮澤恵二
2. 発表標題 SMAD4ノックアウト膵がん細胞の細胞機能と遺伝子発現の検討 (ポスター)
3. 学会等名 日本生化学会関東支部会 (山梨)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ogikubo K, Nishida J, Takahashi K, Morikawa M, Ehata S, Koinuma D, Miyazono K.
2. 発表標題 Identification of genes and their regulatory mechanisms associated with high malignancy of triple-negative breast cancer (ポスター)
3. 学会等名 12th AACR-JCA Joint Conference: Breakthrough in Cancer Research : Translating Knowledge into Practice (Maui, U.S.A.) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Miyazono K.
2. 発表標題 Plasticity of cancer cells and mechanisms of TGF- $\beta$ -induced cancer metastasis
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会 (横浜) (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鯉沼代造、田村佑介、森川真大、堤修一、田邊諒、宮園浩平
2. 発表標題 トリプルネガティブ乳がん細胞におけるPoly(ADP-ribose)によるTGF- $\beta$ シグナル抑制を介したパイロトーシス誘導及び細胞増殖抑制機構 (口演)
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会 (横浜)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ogikubo K, Nishida J, Takahashi K, Morikawa M, Ehata S, Koinuma D, Miyazono K.
2. 発表標題 Identification of the mechanisms of malignant progression of triple-negative breast cancer via epigenetic changes (Oral/Poster)
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会 (横浜)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 井上カタジナアンナ、高橋和樹、須河内昭成、飯田溪太、岩淵禎弘、鯉沼代造、栗岡恭子、小西徹、田中普、戒田篤志、三浦雅彦、橋本真一、岡田眞里子、内橋俊大、宮園浩平、渡部徹郎
2. 発表標題 TGF- は増殖が低下して運動能が上昇したがん細胞集団を形成することで口腔がんの転移を亢進する（特別シンポジウム1「がん研究における女性研究者」）
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会（横浜）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 時崎詩織、井上カタジナアンナ、高橋和樹、松本武、白水美香子、原田浩之、渡部徹郎。
2. 発表標題 全てのTGF- アイソフォームを標的とした新規Fc融合タンパク質製剤の開発（口演）
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会（横浜）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Inoue KA.
2. 発表標題 TGF- generates cancer cells residing in G1 phase with high motility by inducing Slug/HMGA2-independent EMT (oral)
3. 学会等名 Virtual TGF- Meeting (Uppsala, Sweden) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Miyazono K.
2. 発表標題 Multiple roles of TGF- signaling in cancer metastasis
3. 学会等名 FASEB Science Research Conferences 2022 - The TGF- Superfamily Conference: Signaling in Development and Disease (Malahide, Ireland) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮園浩平
2. 発表標題 TGF- による血管・リンパ管新生の制御と可視化
3. 学会等名 第46回日本リンパ学会総会（東京）（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Inoue KA, Takahashi K, Saito M, Sakakitani S, Konishi T, Koinuma D, Sugauchi A, Kaida A, Yoshimatsu Y, Uchihashi T, Miura M, Miyazono K, Watabe T.
2. 発表標題 TGF- $\beta$ -induced cell cycle arrest is correlated with increased migration and metastasis of oral squamous carcinoma cells (口演)
3. 学会等名 第46回日本リンパ学会総会（東京）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Miyazono K.
2. 発表標題 TGF- $\beta$ signaling in progression of cancer
3. 学会等名 The 10th Sweden-Japan Academic Network Seminar (Stockholm, Sweden) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮園浩平
2. 発表標題 TGF- $\beta$ ファミリーを標的としたがん治療戦略（教育講演）
3. 学会等名 第25回日本がん分子標的治療学会学術集会（online）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高橋恵生、宮園浩平
2. 発表標題 組織透明化のがん研究への応用（シンポジウム）
3. 学会等名 第25回日本がん分子標的治療学会学術集会（online）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Inoue KA, Takahashi K, Sakakitani S, Koinuma D, Sugauchi A, Saito M, Kaida A, Yoshimatsu Y, Uchihashi T, Miura M, Miyazono K, Watabe T.
2. 発表標題 Activation of epithelial-mesenchymal transition program in oral cancer cells under TGF- $\beta$ -induced cell cycle arrest. on-line conference（優秀発表賞）
3. 学会等名 FASEB Science Research Conference; The TGF- $\beta$ Superfamily: Signaling in Development and Disease（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Miyazono K.
2. 発表標題 TGF- $\beta$ signaling and its roles in progression of cancer (Oral; Introduction Course for Current Cancer Research)
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会（横浜、hybrid）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高橋恵生、宮園浩平
2. 発表標題 組織透明化手法のがん研究への応用（日本癌学会奨励賞受賞講演）
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会（横浜、hybrid）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高橋和樹、井上カタジナアンナ、榎谷振太郎、小西徹、須河内昭成、齋藤万樹、戒田篤志、鯉沼代造、吉松康裕、内橋俊大、古郷幹彦、三浦雅彦、宮園浩平、渡部徹郎
2. 発表標題 TGF- により細胞周期が静止した口腔扁平上皮がん細胞は上皮間葉移行の誘導を介して運動・転移能が亢進する
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会（横浜、hybrid）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮園浩平
2. 発表標題 TGF- シグナルとがん：最近の研究と今後の展望（特別講演）
3. 学会等名 第66回日本口腔外科学会総会・学術大会（幕張）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 井上カタジナアンナ、榎谷振太郎、高橋和樹、原田浩之、渡部徹郎
2. 発表標題 口腔扁平上皮がん細胞の上皮間葉移行を標的とした新規治療薬の開発
3. 学会等名 第66回日本口腔外科学会総会・学術大会（幕張）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Miyazono K.
2. 発表標題 TGF- signaling in progression of cancer (Core Symposia: Molecular carcinogenesis; Footprints and future)
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会（広島）（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Katsuno Y, Miyazono K, Derynck R.
2. 発表標題 Chronic TGF- exposure drives stabilized EMT, tumor stemness and drug resistance with vulnerability to mTOR inhibition (Oral Session)
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会 (広島)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tamura Y, Koinuma D, Miyazono K.
2. 発表標題 A mechanism of therapeutic potency of polyI:C in the experimental model of triple negative cancer (Oral Session)
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会 (広島)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takahashi K, Ehata S, Miyazono K.
2. 発表標題 Analysis of tumor microenvironment with tissue-clearing technology (ワークショップ 微小環境・血管新生・低酸素)
3. 学会等名 第24回日本がん分子標的治療学会学術集会 (徳島、online)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>東京大学大学院医学系研究科・病因・病理学専攻・応用病理学  <a href="http://beta-lab.umin.ac.jp/index.html">http://beta-lab.umin.ac.jp/index.html</a></p>
--

## 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	宮澤 恵二 (MIYAZAWA Keiji) (40209896)	山梨大学・大学院総合研究部・教授 (13501)	
研究分担者	K A 井上 (INOUE Katarzyna Anna) (90302877)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教 (12602)	
研究分担者	赤木 蓉子 (勝野蓉子) (AKAGI Yoko) (70771004)	東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・客員研究員 (12601)	削除：2021年4月2日

	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	山城 恵生 (高橋恵生) (TAKAHASHI-YAMASHIRO Kei) (30836226)	東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・客員研究員 (12601)	
研究協力者	鯉沼 代造 (KOINUMA Daizo) (80375071)	東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・准教授 (12601)	2021年4月1日より2023年3月31日まで
研究協力者	江幡 正悟 (EHATA Shogo) (90506726)	和歌山県立医科大学・医学部・教授 (24701)	2021年4月1日より2022年3月31日まで

## 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1件

国際研究集会 Mini Symposium on Molecular Oncology & The Final Lecture of Professor Kohei Miyazono	開催年 2022年～2022年
--	--------------------

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			
スウェーデン	Uppsala University			