

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：32645

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2019～2023

課題番号：19H05566・20K20474

研究課題名（和文）骨肉腫の脂肪分化転換を制御する遺伝子転写リプログラミングの分子機構解明

研究課題名（英文）Adipocytic transdifferentiation of osteosarcoma by global genetic reprogramming

研究代表者

山田 哲司（Yamada, Tesshi）

東京医科大学・医学部・客員教授

研究者番号：30221659

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 20,000,000円

研究成果の概要（和文）：クロマチン免疫沈降と次世代シーケンサーでNCB-0846に直接制御される遺伝子の網羅的な同定解析を行ったところ、MYCの上流プロモーターと下流のエンハンサー領域にTCF4の結合部位があり、またNCB-0846で制御される遺伝子の多くが、LDH1やPD-L1などのMYCの標的遺伝子であることが明らかになり、がん遺伝子MYCの転写抑制がNCB-0846の主な作用機序（Mode of Action）であることが明らかになった。実際に細胞株のMYC蛋白の発現量とNCB-0846への感受性はよく相関し、MYC遺伝子増幅細胞はNCB-0846に著しく高い感受性を示すことが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

集学的治療の発達により、四肢に限局する骨肉腫の治療成績は改善してきているものの、転移のある症例は未だ難治で、5年生存率は20-30%にとどまる。我々が開発した新規の低分子化合物NCB-0846は、骨肉腫に発現する広範な遺伝子群をリプログラミング（再構成）することで骨肉腫細胞に脂肪分化を誘導させることが明らかになっている。NCB-0846は化学療法に抵抗性を示す「がん幹細胞」を標的としており、治療薬として実用化できれば、骨肉腫の治療に新たな局面がもたらされるもの期待される。令和3年度に日本医療研究開発機構の革新的がん医療実用化研究事業に採択され、非臨床開発が進んでいる。

研究成果の概要（英文）：We found TRAF2 and NCK-interacting protein kinase (TNIK) is a transcriptional rheostat of OS cell fate. The expression level of TNIK mRNA was significantly increased in OS tissues relative to osteoblasts or mesenchymal stem cells. A small-molecule TNIK inhibitor NCB-0846 suppressed the expression of Wnt target transcription factors essential for maintaining the undifferentiated phenotype (SOX2, NANOG, OCT4, and MYC) and transformed OS cells into adipocytes through the induction of a cell lineage-specific transcription factor, PPAR. The compound is now under preclinical development aimed at investigational new drug (IND) application.

研究分野：cancer therapeutics

キーワード：骨肉腫

### 1. 研究開始当初の背景

我々が大腸がんの Wnt シグナルの抑制を目的として開発した、転写因子 T-cell factor-4 (TCF4) の共役因子である TRAF2 and NCK-interacting protein kinase (TNIK) の高次構造を変化させることで、その転写共役機能を抑制する allosteric modulator の NCB-0846 (Masuda et al., Nature Commun., 7:12586, 2016) が、MYC、SOX2、NANOG、OCT4 等の細胞分化に関わる遺伝子群、PPAR や FABP4 等の細胞系譜 (リニエージ) に関わる遺伝子群、さらには Cyclin D1/E2/A2 等の細胞周期に関わる遺伝子群を一斉に再構成 (リプログラミング) し、骨肉腫細胞を脂肪細胞へ分化転換させる従来にない特徴を持つ化合物であることが明らかになっていた (研究開始当初は未発表)。

### 2. 研究の目的

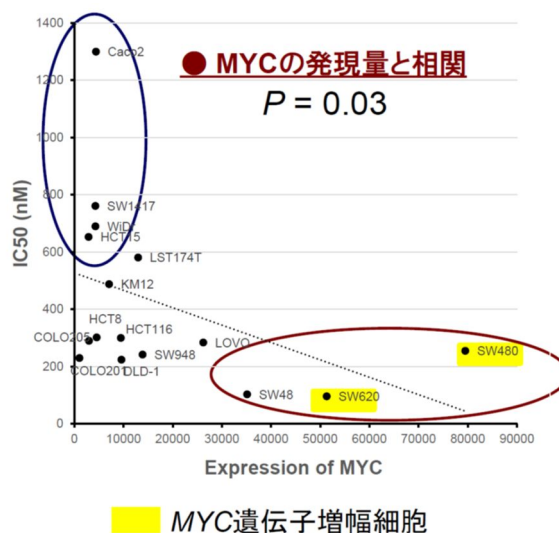
NCB-0846 による骨肉腫細胞の脂肪細胞への分化誘導に係る遺伝子リプログラミングの全体像を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

このような広範な遺伝子転写のリプログラミングは、スーパーエンハンサー領域の DNA メチル化やヒストンアセチル化等のエピゲノミック制御によるクロマチンリモデリングに起因すると理解されていたため、クロマチン免疫沈降と次世代シーケンサーを用いたゲノム網羅的な遺伝子同定と発現解析を行い、NCB-0846 が作用する遺伝子転写制御領域 (エンハンサー・プロモーター) と被制御遺伝子を同定することから開始した。

### 4. 研究成果

クロマチン免疫沈降と次世代シーケンサーで NCB-0846 に直接制御される遺伝子の網羅的な同定解析を行ったところ、MYC の上流プロモーターと下流のエンハンサー領域に TCF4 の結合部位があり、また NCB-0846 で制御される遺伝子の多くが、LDH1 や PD-L1 などの MYC の標的遺伝子であることが明らかになり、がん遺伝子 MYC の転写抑制が NCB-0846 の主な作用機序 (Mode of Action) であることが明らかになった。実際に細胞株の MYC 蛋白の発現量と NCB-0846 への感受性はよく相関し、MYC 遺伝子増幅細胞は NCB-0846 に著しく高い感受性を示すことが明らかになった (右図)。



我が国では OncoGuide NCC や FoundationOne CDx などの「がん遺伝子パネル検査」が保険収載され、個々のがん患者のドライバー遺伝子を特定して最適な治療薬を選択する所謂「ゲノム医療」の推進が期待されている。MYC は全悪性腫瘍のうち最も高頻度 (14%) に遺伝子増幅するがん遺伝子 (Oncogene) であり、多くの製薬企業がその阻害薬開発を試みているが、今日でも成功したものは無い。

そのため、NCB-0846 を MYC 遺伝子増幅腫瘍の新たな治療薬として実用化するため、NCB-0846 の誘導体 285 種を MYC の発現抑制でスクリーニングし、低濃度で MYC の発現を完全に抑制し、MYC 遺伝子の増幅のある腫瘍細胞に対して低濃度で、選択的に殺細胞効果を示す新たなキナゾリン誘導体 YMD-0046 を発見した。

YMD-0046 は有効な治療法がなく難治性の MYC 遺伝子増幅腫瘍に対する第一選択薬として実用化できることが期待できることから、令和 3 年度に YMD-0046 の非臨床開発を日本医療研究開発機構の革新的がん医療実用化研究事業に研究開発課題「がん遺伝子 MYC の転写を標的とした治療薬の開発」に応募した。幸いにも採択されたことから、本研究課題を延長し、治療薬としての実用化のための研究開発を平行して進めることに変更した。

#### 1: Masuda M, Yamada T.

Utility of Reverse-Phase Protein Array for Refining Precision Oncology. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1188:239-249.

**2: Masuda M, Chen WY, Miyanaga A, Nakamura Y, Kawasaki K, Sakuma T, Ono M, Chen CL, Honda K, Yamada T.**

Correction: Alternative mammalian target of rapamycin (mTOR) signal activation in sorafenib-resistant hepatocellular carcinoma cells revealed by array-based pathway profiling.

*Mol Cell Proteomics.*

2020 Jan;19(1):223.

**3: Yamada T.**

Quantification of Biomarker Proteins Using Reverse-Phase Protein

*Arrays. Proteomics Clin Appl.* 2020 Jul;14(4):e1900120.

**4: Sugano T, Yoshida M, Masuda M, Ono M, Tamura K, Kinoshita T, Tsuda H, Honda K, Gemma A, Yamada T.**

Prognostic impact of ACTN4 gene copy number alteration in hormone receptor-positive, HER2-negative, node-negative invasive breast carcinoma.

*Br J Cancer.* 2020 Jun;122(12):1811-1817.

**5: Miyanaga A, Masuda M, Motoi N, Tsuta K, Nakamura Y, Nishijima N, Watanabe SI, Asamura H, Tsuchida A, Seike M, Gemma A, Yamada T.** Whole-exome and RNA sequencing of pulmonary carcinoid reveals chromosomal rearrangements associated with recurrence.

*Lung Cancer.* 2020 Jul;145:85-94.

**6: Sekita T, Yamada T, Kobayashi E, Yoshida A, Hirozane T, Kawai A, Uno Y, Moriyama H, Sawa M, Nagakawa Y, Tsuchida A, Matsumoto M, Nakamura M, Nakayama R, Masuda M.** Feasibility of Targeting Traf2-and-Nck-Interacting Kinase in Synovial Sarcoma.

*Cancers (Basel).* 2020 May 16;12(5):1258.

**7: Sugano T, Masuda M, Takeshita F, Motoi N, Hirozane T, Goto N, Kashimoto S, Uno Y, Moriyama H, Sawa M, Nagakawa Y, Tsuchida A, Seike M, Gemma A, Yamada T.**

Pharmacological blockage of transforming growth factor- $\beta$  signalling by a Traf2- and Nck-interacting kinase inhibitor, NCB-0846.

*Br J Cancer.* 2021 Jan;124(1):228-236.

**8: Hirozane T, Masuda M, Sugano T, Sekita T, Goto N, Aoyama T, Sakagami T, Uno Y, Moriyama H, Sawa M, Asano N, Nakamura M, Matsumoto M, Nakayama R, Kondo T, Kawai A, Kobayashi E, Yamada T.**

Direct conversion of osteosarcoma to adipocytes by targeting TNIK.

*JCI Insight.* 2021 Feb 8;6(3):e137245.

**9: Nagakawa Y, Nakagawa N, Takishita C, Uyama I, Kozono S, Osakabe H, Suzuki K, Nakagawa N, Hosokawa Y, Shirota T, Honda M, Yamada T, Katsumata K, Tsuchida A.**

Reconsideration of the Appropriate Dissection Range Based on Japanese Anatomical Classification for Resectable Pancreatic Head Cancer in the Era of Multimodal Treatment.

*Cancers (Basel).* 2021 Jul 19;13(14):3605.

**10: Kasahara K, Enomoto M, Udo R, Tago T, Mazaki J, Ishizaki T, Yamada T, Nagakawa Y, Katsumata K, Tsuchida A.**

Prognostic value of preoperative high-sensitivity modified Glasgow prognostic score in advanced colon cancer: a retrospective observational study.

*BMC Cancer.* 2022 Jan 3;22(1):20.

**11: Kukimoto-Niino M, Shirouzu M, Yamada T.**

Structural Insight into TNIK Inhibition.

*Int J Mol Sci.* 2022 Oct 27;23(21):13010.

**12: Ota Y, Iwasaki K, Miyoshi K, Enomoto M, Yamada T, Nagakawa Y.**

Malignant Melanoma Arising from Esophageal Melanosis and Synchronous with Esophageal Squamous Cell Carcinoma.

*Am J Case Rep.* 2023 Feb 4;24:e938617.

**13: Udo R, Mazaki J, Hashimoto M, Tago T, Kasahara K, Ishizaki T, Yamada T, Nagakawa Y.**

Predicting the prognosis of lower rectal cancer using preoperative magnetic resonance imaging

with artificial intelligence.

*Tech Coloproctol.* 2023 Aug;27(8):631-638.

**14: Mazaki J, Ishizaki T, Kuboyama Y, Udo R, Tago T, Kasahara K, Yamada T, Nagakawa Y.**

Long-term outcomes of robot-assisted laparoscopic surgery versus conventional laparoscopic surgery for rectal cancer: single-center, retrospective, propensity score analyses.

*J Robot Surg.* 2024 Apr 3;18(1):157.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Kukimoto-Niino M, Shirouzu M, Yamada T.	4. 巻 23
2. 論文標題 Structural Insight into TNIK Inhibition.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 13010
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms232113010	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 Kasahara Kenta, Enomoto Masanobu, Udo Ryutaro, Tago Tomoya, Mazaki Junichi, Ishizaki Tetsuo, Yamada Tesshi, Nagakawa Yuichi, Katsumata Kenji, Tsuchida Akihiko	4. 巻 22
2. 論文標題 Prognostic value of preoperative high-sensitivity modified Glasgow prognostic score in advanced colon cancer: a retrospective observational study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Cancer	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） 10.1186/s12885-021-09113-8	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 Nagakawa Yuichi, Nakagawa Naoya, Takishita Chie, Uyama Ichiro, Kozono Shingo, Osakabe Hiroaki, Suzuki Kenta, Nakagawa Nobuhiko, Hosokawa Yuichi, Shirota Tomoki, Honda Masayuki, Yamada Tesshi, Katsumata Kenji, Tsuchida Akihiko	4. 巻 13
2. 論文標題 Reconsideration of the Appropriate Dissection Range Based on Japanese Anatomical Classification for Resectable Pancreatic Head Cancer in the Era of Multimodal Treatment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 3605 ~ 3605
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers13143605	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 Hirozane Toru, Nakayama Robert, Yamaguchi Sayaka, Mori Tomoaki, Asano Naofumi, Asakura Keisuke, Kikuta Kazutaka, Kawaida Miho, Sasaki Aya, Okita Hajime, Nakatsuka Seishi, Ito Tsutomu	4. 巻 20
2. 論文標題 Recurrent malignant peripheral nerve sheath tumor presenting as an asymptomatic intravenous thrombus extending to the heart: a case report	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 World Journal of Surgical Oncology	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） 10.1186/s12957-021-02473-2	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 Takenoshita Shinichi, Asano Naofumi, Kasahara Tomoki, Hirozane Toru, Yamaguchi Sayaka, Mori Tomoaki, Ohkita Hajime, Nakayama Robert, Nakamura Masaya, Matsumoto Morio	4. 巻 -
2. 論文標題 Secondary peripheral chondrosarcoma arising from solitary osteochondroma of the clavicle: A case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Science	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) 10.1016/j.jos.2021.12.001	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 Yung David, Asano Naofumi, Hirozane Toru, Yamaguchi Sayaka, Mori Tomoaki, Susa Michiro, Okita Hajime, Morioka Hideo, Horiuchi Keisuke, Nakayama Robert	4. 巻 -
2. 論文標題 Malignant transformation of metastatic giant cell tumor of bone in a patient undergoing denosumab treatment: A case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Science	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) 10.1016/j.jos.2021.07.004	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 Yung David, Arai Manabu, Matsumoto Shunsuke, Sato Takeshi, Hirozane Toru, Yamaguchi Sayaka, Asano Naofumi, Hasegawa Tomonobu, Nakayama Robert	4. 巻 -
2. 論文標題 Sequential imaging of hyperplastic callus formation in Osteogenesis Imperfecta type V: A case report and review of the literature	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Science	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) 10.1016/j.jos.2021.04.009	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 Hirozane Toru, Masuda Mari, Sugano Teppei, Sekita Tetsuya, Goto Naoko, Aoyama Toru, Sakagami Takato, Uno Yuko, Moriyama Hideki, Sawa Masaaki, Asano Naofumi, Nakamura Masaya, Matsumoto Morio, Nakayama Robert, Kondo Tadashi, Kawai Akira, Kobayashi Eisuke, Yamada Tesshi	4. 巻 6
2. 論文標題 Direct conversion of osteosarcoma to adipocytes by targeting TNIK	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 e137245
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.137245	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 Sugano Teppei, Masuda Mari, Takeshita Fumitaka, Motoi Noriko, Hirozane Toru, Goto Naoko, Kashimoto Shigeki, Uno Yuko, Moriyama Hideki, Sawa Masaaki, Nagakawa Yuichi, Tsuchida Akihiko, Seike Masahiro, Gemma Akihiko, Yamada Tesshi	4. 巻 124
2. 論文標題 Pharmacological blockage of transforming growth factor- signalling by a Traf2- and Nck-interacting kinase inhibitor, NCB-0846	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 228 ~ 236
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41416-020-01162-3	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 Sekita Tetsuya, Yamada Tesshi, Kobayashi Eisuke, Yoshida Akihiko, Hirozane Toru, Kawai Akira, Uno Yuko, Moriyama Hideki, Sawa Masaaki, Nagakawa Yuichi, Tsuchida Akihiko, Matsumoto Morio, Nakamura Masaya, Nakayama Robert, Masuda Mari	4. 巻 12
2. 論文標題 Feasibility of Targeting Traf2-and-Nck-Interacting Kinase in Synovial Sarcoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 1258 ~ 1258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers12051258	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 Miyanaga Akihiko, Masuda Mari, Motoi Noriko, Tsuta Koji, Nakamura Yuka, Nishijima Nobuhiko, Watanabe Shun-ichi, Asamura Hisao, Tsuchida Akihiko, Seike Masahiro, Gemma Akihiko, Yamada Tesshi	4. 巻 145
2. 論文標題 Whole-exome and RNA sequencing of pulmonary carcinoid reveals chromosomal rearrangements associated with recurrence	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Lung Cancer	6. 最初と最後の頁 85 ~ 94
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.lungcan.2020.03.027	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 M, Yamada T	4. 巻 1188
2. 論文標題 Utility of Reverse-Phase Protein Array for Refining Precision Oncology	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Adv Exp Med Biol.	6. 最初と最後の頁 239-249
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-981-32-9755-5_13	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 Yamada T	4. 巻 14
2. 論文標題 Quantification of Biomarker Proteins Using Reverse-Phase Protein Arrays	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proteomics Clin Appl.	6. 最初と最後の頁 e1900120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/prca.201900120	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 Sugano T, Yoshida M, Masuda M, Ono M, Tamura K, Kinoshita T, Tsuda H, Honda K, Gemma A, Yamada T	4. 巻 122
2. 論文標題 Prognostic impact of ACTN4 gene copy number alteration in hormone receptor-positive, HER2-negative, node-negative invasive breast carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Br J Cancer.	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41416-020-0821-y	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Yamada T, Nishizuka SS, Mills GB, Liotta LA	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 266
3. 書名 Reverse Phase Protein Arrays	

〔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	弘實 透  (Hirozane Toru)  (70594539)	慶應義塾大学・医学部(信濃町)・助教   (32612)	

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