

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24501354

研究課題名(和文) 新治療薬の開発を目指した、肝細胞癌特異的ピンポイントターゲティング

研究課題名(英文) Pinpoint targeting of hepatocellular carcinoma for new therapeutic application

研究代表者

梯 アンナ (KAKEHASHI, Anna)

大阪市立大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：60382222

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、CNPY2とCACHD1をノックダウン(kn)した肝癌細胞株の生存率と浸潤活性の減少がみられ、それにはNrf2、SP1、HNF1A及びc-mycとN-myc(CACHD1knのみ)の抑制が関与していた。COS細胞に遺伝子をノックインしたところ、成長率や浸潤活性の増加が認められ、TGFbetaの関与が示唆された。ヌードマウスxenograftモデルを用いた実験では、CNPY2knとCACHD1kn腫瘍の成長率や細胞増殖の有意な減少とアポトーシスの有意な上昇がみられた。今回の結果より、CNPY2及びCACHD1は肝細胞癌において新規治療のための分子ターゲットになりうる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Knockdown (kn) of CNPY2 and CACHD1 in hepatocellular cancer cell lines was found to suppress their cell survival, proliferation and invasion activity. Inactivation of Nrf2, CEBPA, HNF1A and FOXA2 in CNPY2kn and CACHD1kn cells, and c-myc and N-myc in CACHD1kn cells was predicted. CNPY2 and CACHD1 knock-in of COS1 and COS7 cells elevated their cell proliferation and invasion activities likely to be due to activation of TGFbeta signaling. Systemic CNPY2 and CACHD1 knockdown in hepatocellular cancer xenografts nude mice models significantly suppressed the growth of tumors due to inhibition of cell proliferation and induction of tumor cellular apoptosis. These findings demonstrate that CNPY2 and CACHD1 knockdown can inhibit the growth of liver cancer xenografts. CNPY2 and CACHD1 might have a potential as new molecular therapeutic targets for human liver cancer.

研究分野：肝細胞癌

キーワード：分子標的治療 肝臓癌 siRNA ヌードマウス

1. 研究開始当初の背景

わが国では年間約3万5000人の肝癌死亡者があり、男性では肺癌・胃癌に次いで癌死の第3位となっている。治療法には、肝切除や肝動脈塞栓術、穿刺療法があり、病状が初期から中期の場合は、肝切除が有効である。死亡率の劇的な低下には個別化治療に代表される新しい治療薬と戦略が必要である。

我々は、ヒト肝細胞癌組織及び実験動物を用いて発がんメカニズムの研究を行っており、これらの研究に網羅的プロテオーム解析を組み合わせて、前がん病変及び腫瘍における新規マーカーの検索を行ったところ、canopy 2 homolog (CNPY2)、cache domain containing 1 (CACHD1)、immediate early response 5-like (IER5L)及びWD and tetratricopeptide repeats 1 (WDTC1)の有意な発現増加が認められた。

2. 研究の目的

本研究は、肝細胞癌の新規治療のための有用なターゲットの発見と、肝発がんの機序の解明を目的としている。肝細胞癌株を用いて、これまでの我々の研究においてヒトや動物の肝細胞癌と前がん病変で有意な発現増加が認められた蛋白:CNPY2、CACHD1、IER5L及びWDTC1のsiRNAによるノックダウン(kn)を行い、*in vitro*機能解析を行った。また、COS細胞(アフリカミドリザル腎臓由来細胞株)を用いて目的蛋白をノックインし、機能解析を行った。さらに、Balb/cヌードマウスのxenograftモデルを用いて、*in vitro*で選択された目的蛋白に対するsiRNAの静脈内投与、または、安定ノックダウン細胞の移植により、がんに対するノックダウンの治療効果を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) CNPY2, CACHD1, IER5L及びWDTC1 siRNA ノックダウン及び確認

ヒト Huh-7, HepG2(細胞材料開発室、大阪、日本)(5×10^4 /well)において6.7 nM CNPY2、CACHD1、IER5L及びWDTC1のsiRNA(Silencer Select siRNA Cat.No.4392420; CNPY2 IDs: s20206 (1), s20208 (2); CACHD1 IDs: s33589 (1), s33591 (2); IER5L IDs: s196293 (1), s196295 (2); WDTC1 IDs: s22892 (1), s22891 (2); non-targeting 5nmol control siRNA (Silencer Select, Cat.No.: 4390843, Ambion, 東京, 日本)や Lipofectamine RNAiMAX (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)を用いて、24-ウェルプレートに遺伝子のRNAサイレンシングを行った。その後、細胞のRNA(RNeasy Mini Kit QIAGEN, Hilden, Germany)や蛋白質を抽出し、目的蛋白質の発現をウェスタン・プロット及び Real-time Quantitative (Q)-PCR で確認した。ラット肝癌細胞のRH-7777においてノックダウンを行ったが、目的蛋白の発現減少が不十分であった。

(1) mRNA 発現の検討

TaqMan プローブ及び TaqMan Gene Expression Assays (4351372) (Applied Biosystems, Japan)で設定されたプライマーを用いるリアルタイム定量的PCRを、次のmRNA発現の解析に使用した:CNPY2 (Hs00204549_m1), CACHD1 (Hs00326087_m1), IER5L (Hs01087507_s1), WDCT1 (Hs002488234_m1)。Eukaryotic 18S rRNA (4319413E) (Applied biosystems, Japan)を、内部対照として用いた。

(2) ウェスタン・プロット

細胞を CellLytic MT (Sigma, StLouis, MO, USA)バッファで懸濁し、さらに、25 mM Tris (pH 7.4), 100 mM NaCl 及び 1% Tween-20 を含んだ溶解バッファを加え、細胞を溶解した。ウェスタン・プロット解析には、次の抗体を使用した:CNPY2 (1:300, 14635-1-AP, Proteintech, USA), CACHD1 (1:100, HPA017202, Atlas, Sweden), IER5L (1:500, ab90889, Abcam, Japan) and rabbit monoclonal antibodies against WDTC1 (1:100, ab174294, Abcam, Japan)。

(3) 細胞生存アッセイ

細胞の成長率を調べるために、MTT 及び WST-8 アッセイ(Cell counting Kit, Wako, Japan)を使用した。

(4) 細胞浸潤アッセイ

癌細胞の浸潤活性を調べるために、BD BioCoat Matrigel Invasion Chamber (Becton, Dickinson and Company, Bedford, USA)を用いた。

(5) LC-MS/MS 解析

プロテオーム解析にはCNPY2及びCACHD1をノックダウンしたHuh7を用いた。9M Urea/2% Chaps 及び T-per バッファを用いてサンプルのホモジナイズを行った後、蛋白質を抽出した。それぞれの蛋白濃度はBCA Protein Assay Kit (Pierce, IL, USA)により測定した。トリプシン処理(16-18時間)後、それぞれの蛋白量を20 µgとし、DiNa-Al nano LC System (KYA Technologies, Tokyo, Japan)及びQSTAR Elite hybrid mass spectrometer (AB Sciex, Concord, ON, Canada)を用いて比較解析を行った。定量的比較のために各々のサンプルにiTRAQ試薬によるラベリングを下記のように行った。CNPY2 kn Huh7 (iTRAQ試薬114), CACHD1 kn Huh7 (iTRAQ試薬115)及びHuh7 siRNA control細胞(iTRAQ試薬116)においてそれぞれにラベリングを行った。得られたデータは95%の信頼区間で使用された。

(6) Ingenuity Pathway 解析 (IPA)

LC-MS/MSによってコントロールsiRNAkn Huh7細胞に比して、CNPY2kn 及び CACHD1kn細胞で過剰発現が確認された蛋白から、IPAを用いて機能解析、上流調節因子解析やネットワークの同定を行った。

(7) COS-1 と COS-7 細胞のトランスフェクション

本実験では NT-GFP Fusion TOP0 vector Expression kit (Life technologies, Japan) を用いて野生型の CNPY2 と CACHD1 遺伝子をクローニングし、Lipofectamine LTX and Plus Reagent (Life technologies, Japan) を使用して、COS 細胞にトランスフェクションし、Genecitin (Life technologies, Japan) selection を行い、CNPY2 や CACHD1 が安定発現した COS1 及び COS7 細胞の機能解析 (WST-8, 細胞浸潤アッセイ、LC-MS/MS 解析) を行った。

(8) CNPY2 及び CACHD1 の安定ノックダウン Huh7 肝細胞癌株の作成

pSilencer neo Expression Vector kit (Ambion, USA) を用いて CNPY2 及び CACHD1 の siRNA を Huh7 肝細胞癌株にトランスフェクションし、Genecitin selection を行い、安定ノックダウン細胞株を作成した。Real-time Q-PCR 及びウェスタン・ブロットを用いて CNPY2 及び CACHD1 の発現減少を確認した。

(9) CNPY2 及び CACHD1 ノックダウン *in vivo* xenograft モデル

実験 1 では 27 匹の 6 週齢 Balb/c ノードマウスを三群に分け、Huh7 肝細胞癌株を皮下に投与し、5 週間後に腫瘍が 9-11mm になった時点で、CNPY2 及び CACHD1 及びコントロール siRNA の静脈内 (i.v.) 投与を行い、その後 4 週間にわたり腫瘍のサイズの変化について解析した。一群にマウス 3 匹を siRNA 投与 3 日後に屠殺し、xenograft 内に Real-time Q-PCR 及びウェスタン・ブロットを用いて CNPY2 及び CACHD1 の発現減少を確認した。

実験 2 では 24 匹の 6 週齢 Balb/c ノードマウスを三群に分け、CNPY2 及び CACHD1 及びコントロール安定ノックダウン Huh7 細胞を皮下投与し、8 週間にわたり腫瘍のサイズの変化について解析した。屠殺した全動物について、全身の諸器官・組織の肉眼的病理学検査及び xenograft 腫瘍、肝臓、腎臓、脾臓、肺及び脳病理学検査を実施した。剖検時体重を用いて腫瘍及び器官重量体重比を算出した。実験 1 及び 2 のノードマウス xenograft において細胞増殖 (Ki-67) 及び分裂指数、またはアポトーシス (TUNEL) の解析を行った。

(10) 免疫組織化学的 Ki-67 及び TUNEL 検査

増殖活性検索のため Ki-67 一次抗体 (1:400, ab16667, Abcam) を用いて ABC 法にて免疫染色を行った。抗原の可視化は、3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) 反応により行った。アポトーシス検索のために TUNEL 法を用いた (ApopTaq Peroxidase in Situ Kit, Merck, Darmstadt, Germany)。各動物について腫瘍細胞の核を少なくとも 3000 個計測し、Ki-67 及び TUNEL 染色陽性細胞の標識率を算出した。

(11) 統計処理

平均の差については F 検定により、等分

散の場合は Student の t-検定 (両側検定) を用い、等分散でない場合には Welch の方法により行った。

4. 研究成果

(1) *In vitro* 機能解析:

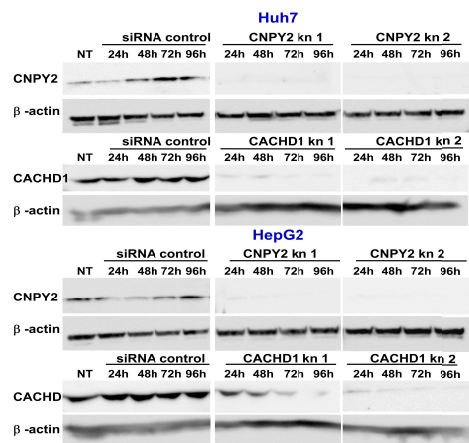
目的蛋白質のノックダウンの確認

CNPY2、CACHD1、IER5L 及び WDC1 のノックダウンを確認のため Real-time Q-PCR またはウェスタン・ブロットを行ったところ、ノックダウン群では目的遺伝子の mRNA や蛋白質の発現低下が認められた (表 1、図 1)。

表 1. CNPY2/18rRNA、CACHD1/18rRNA、IER5L/18rRNA 及び WDC1/18rRNA の定量的発現

	Huh7		HepG2	
	Ct ratio	Ct ratio	Ct ratio	Ct ratio
Control kn	1.00±0.22	1.00±0.11		
CNPY2 kn-1	0.01±0.00	0.06±0.01		
CNPY2 kn-2	0.01±0.00	0.06±0.02		
CACHD1 kn-1	0.07±0.03	0.09±0.01		
CACHD1 kn-2	0.11±0.05	0.08±0.00		
IER5L kn-1	0.06±0.01	0.06±0.08		
IER5L kn-2	0.04±0.03	0.06±0.02		
WDC1 kn-1	0.11±0.02	0.08±0.03		
WDC1 kn-2	0.11±0.01	0.10±0.01		

図 1. CNPY2、CACHD1 ノックダウン 及び control ヒト肝細胞癌株における CNPY2 及び CACHD1 の蛋白質の発現



NT: non treated

(2) ノックダウンした細胞の生存率及び浸潤活性

CNPY2 及び CACHD1 をノックダウンした Huh7 及び HepG2 肝細胞癌株において、コントロール siRNA 群に対して有意な細胞生存率の抑制が認められた (表 2)。CNPY2 kn 群において浸潤活性の有意な抑制が認められ、CACHD1 kn では抑制傾向が認められた。また、CACHD1 kn HepG2 細胞の浸潤活性の有意な増加が認められた。

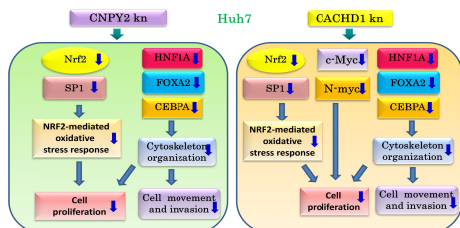
表 2. CNPY2 kn 及び CACHD1 kn 細胞生存率及び浸潤活性

	Huh7		HepG2	
	Cell viability, %	Cell viability, %	Invasion, %	Invasion, %
Control kn	100.0±12.2	100.0±6.9	100.0±32.8	100.0±23.9
CNPY2 kn-1	55.3±18.0 ^b	64.8±13.5 ^b	31.6±17.5 ^a	12.8±36.0 ^a
CNPY2 kn-2	56.8±19.3 ^a	65.8±3.5 ^c	46.3±16.8 ^a	2.4±40.3 ^a
CACHD1 kn-1	28.9±15.8 ^b	61.3±8.7 ^c	80.5±7.1	226.6±73.9
CACHD1 kn-2	12.8±10.0 ^c	66.7±5.8 ^c	80.2±10.3	190.6±47.5

^aP<0.05; ^bP<0.01; ^cP<0.001; ^dP<0.0001 vs Control kn

(3) プロテオーム及び IPA 解析
 CNPY2 kn 及び CACHD1 kn 細胞のプロテオーム解析により細胞骨格系(keratin 8, 18, 19 など)及び細胞ストレス関連蛋白質の低発現が認められた。IPA による上流調節因子の解析では CNPY2 kn と CACHD1 kn 細胞において、nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (NFE2L2 (Nrf2)、CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), alpha (CEBPA), hepatocyte nuclear factor 1A (HNF1A), forkhead box A2 (FOXA2) (CNPY2 kn, CACHD1 kn)、または c-myc と N-Myc (CACHD1 kn のみ)の活性の抑制が認められた(図2)。

図2. CNPY2 kn, CACHD1 kn ヒト肝細胞癌株 Huh7 における上流調節因子の抑制



(4) CNPY2 及び CACHD1 ノックインした COS1 と COS7 細胞の生存率、浸潤活性及び蛋白発現

CNPY2 及び CACHD1 遺伝子を COS1 及び COS7 細胞にノックインしたところ、CACHD1 ノックイン細胞の生存率の優位な上昇と CNPY2 ノックイン細胞の成長率の上昇傾向が観察された。また、ノックイン細胞の浸潤活性はいずれも有意な増加が認められた(表3)。

表3. CNPY2 及び CACHD1 とノックイン COS1 と COS7 細胞の生存率及び浸潤活性

	Cell viability,%	Invasion,%
COS1 control	100.0±3.8	7.3±0.5
COS1 CNPY2 kn in	130.0±12.3	12.5±2.7 ^a
COS1 CACHD1 kn in	153.3±6.3 ^c	15.1±1.6 ^b
COS7 control	100.0±2.3	3.7±0.7
COS7 CNPY2 kn in	107.2±8.4	10.4±2.4 ^b
COS7 CACHD1 kn in	124.6±5.3 ^b	11.2±4.1 ^a

^aP<0.05; ^bP<0.01; ^cP<0.001 vs Control

COS 細胞のプロテオーム及び IPA による上流調節因子の解析では、vimentin や他の細胞骨格系蛋白質の高発現が示され、CNPY2 及び CACHD1 蛋白質が TGF-beta シグナリング関連蛋白質であることが認められた。

(5) In vivo xenograft モデル(実験1及び実験2):生存率、一般状態及び最終体重

屠殺時のマウスの生存率は、全群で 100% であった。一般状態、摂餌量及び摂水量に特に影響はみられなかったが、control siRNA i.v. 投与群(実験1)及び control Huh7 xenograft (実験2)ヌードマウスの最終体重の有意な減少が見られた。

(6) 肉眼的病理学検査、xenograft 腫瘍サイズ

実験1(CNPY2 siRNA 投与3週間後;CACHD1 siRNA 投与2週間後)及び実験2(CNPY2 kn 細胞投与3週間後;CACHD1 kn 細胞投与2週間後)における CNPY2 及び CACHD1 をノック

ダウンした xenograft 腫瘍のサイズの有意な減少が認められた(図3)。

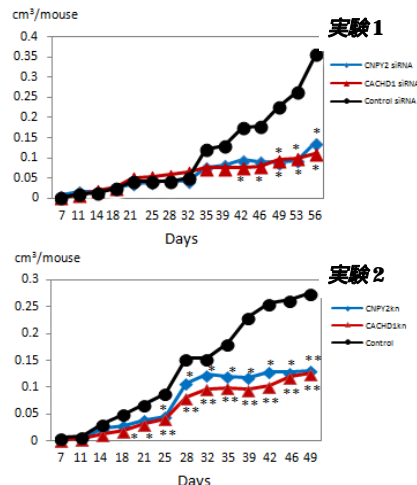


図3. 実験1及び実験2における xenograft 腫瘍のサイズ

(7) 腫瘍重量及び腫瘍重量体重比

屠殺時のマウスの平均腫瘍重量及び腫瘍重量体重比では、CNPY2 siRNA 投与群(実験1)、CNPY2 kn 投与群(実験2)及び CACHD1 siRNA 投与群(実験1)、CACHD1 kn 投与群(実験2)において統計学的に有意な低値がみられた(表4)。

(8) Xenograft 細胞増殖及びアポトーシスの変動(Ki-67 標識率、細胞分裂指数及び TUNEL 標識率)

Xenograft の Ki-67 標識率及び細胞分裂指数は、CNPY2 siRNA 投与群(実験1)、CNPY2 kn 投与群(実験2)及び CACHD1 siRNA 投与群(実験1)、CACHD1 kn 投与群(実験2)では統計学的に有意な減少がみられた(表4)。また、アポトーシス標識率が全群のノックダウン xenograft 腫瘍群において統計学的に有意な増加を示した(表4)。

表4. Xenograft の重量、Ki-67 標識率、細胞分裂指数及び TUNEL 標識率

	Tumor weight,g	Ki67,%	Apoptosis (TUNEL),%	Mitotic index,%
実験1				
Control siRNA	4.0±2.9	0.52±0.07	0.004±0.002	0.021±0.006
CNPY2 siRNA	0.8±0.5 ^a	0.41±0.05 ^c	0.010±0.005 ^a	0.008±0.004 ^c
CACHD1 siRNA	0.9±1.1 ^a	0.35±0.05 ^c	0.011±0.004 ^b	0.008±0.002 ^b
実験2				
Control kn	3.9±2.6	0.49±0.06	0.001±0.000	0.016±0.002
CNPY2 kn	1.7±1.1 ^a	0.27±0.04 ^d	0.006±0.003 ^c	0.007±0.002 ^d
CACHD1 kn	1.3±0.8 ^a	0.27±0.03 ^d	0.006±0.003 ^b	0.007±0.001 ^d

^aP<0.05; ^bP<0.01; ^cP<0.001; ^dP<0.0001 vs Control

今回の研究で、*in vitro* 機能解析により、CNPY2 及び CACHD1 は肝癌細胞の増殖をコントロールする蛋白質であることが認められ、それは細胞骨格系蛋白質や c-myc 及び N-myc (CACHD1 のみ)に関連している。また、CNPY2 及び CACHD1 は肝細胞癌の骨格関連蛋白質であり、TGF-beta シグナリングを活性化することによって、細胞浸潤活性を促進することが考えられる。ヌードマウス xenograft モデル

では、CNPY2 及び CACHD1 の発現を抑えること
によって、xenograft の細胞増殖の抑制とア
ポトーシスの誘導が観察され、それは腫瘍の
成長率の抑制に関わると考えられる。CNPY2
(別名は MSAP, TMEM4) は細胞の小胞体や細
胞膜の蛋白質であり、神経芽細胞腫では細胞
骨格(ミオシンの調節性軽鎖)を増やすこと
によって、神経突起の発育をコントロールす
ると言われている。CACHD1 はカルシウムイ
オン輸送の関連蛋白質であることが知られ
ている。今回の結果より、候補蛋白質として
CNPY2 及び CACHD1 の肝細胞癌における新機能
が明らかとなり、新規治療のための分子ター
ゲットになりうる可能性が示された。

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 12 件)

1. Kakehashi A., Hagiwara A., Imai N., Wei M., Fukushima S., Wanibuchi H. Induction of cell proliferation in the rat liver by the short-term administration of ethyl tertiary-butyl ether. J Toxicol Pathol; 28: 27-32, 2015. (査読有)
DOI:10.1293/tox.2014-0056
2. Wei M., Fujioka M, Yamano S, Shimomura E, Ishii N, Kakehashi A., Takeshita M., Wanibuchi H. Determination of Hepatotoxicity and Its Underlying Metabolic Basis of 1,2-dichloropropane in Male Syrian Hamsters and B6C3F1 Mice. Toxicol Sci, 2015. (査読有) DOI:10.1093/toxsci/kfv045
3. Kakehashi A., Kato A., Ishii N., Wei M., Morimura K., Fukushima S., Wanibuchi H. Valerian Inhibits Rat Hepatocarcinogenesis by Activating GABA(A) Receptor-Mediated Signaling. PLoS One, 9:e113610, 2014. (査読有) DOI:10.1371/journal.pone.0113610
4. Kakehashi A., Fukushima S., Wei M., Wanibuchi H. Threshold in Carcinogenicity of Genotoxic Carcinogens. J. Carcinogenesis and Mutagenesis, S3-006, 2014. (査読有)
DOI: 10.4172/2157-2518.S3-006
5. Morisaki T., Yashiro M., Kakehashi A., Inagaki A., Kinoshita H., Fukuoka T., Kasashima H., Masuda G., Sakurai K., Kubo N., Muguruma K., Ohira M., Wanibuchi H., Hirakawa K. Comparative Proteomics Analysis of Gastric Cancer Stem Cells. PLoS One, 9, e110736, 2014. (査読有)
DOI:10.1371/journal.pone.0110736
6. Kuwae Y., Kakehashi A., Wakasa K., Wei M., Yamano S., Ishii N., Ohsawa M., Wanibuchi H. Paraneoplastic Malignant Antigen-Like 1 as a Potential Prognostic Biomarker in Human Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. Pancreas, 44(1): 106-115, 2014. (査読有)

DOI:10.1097/MPA.0000000000000220

7. Takada J., Hoshi M., Oebisu N., Ieguchi M., Kakehashi A., Wanibuchi H., Nakamura H. A comparative study of clinicopathological features between simple bone cysts of the calcaneus and the long bone. Foot Ankle Int. 35(4):374-82, 2014. (査読有)
DOI:10.1177/1071100713519600
8. Tanaka M., Mun S., Harada A., Ohkawa Y., Inagaki A., Sano S., Takahashi K., Izumi Y., Osada-Oka M., Wanibuchi H., Yamagata M., Yukimura T., Miura K., Shiota M., Iwao H. Hsc70 contributes to cancer cell survival by preventing Rab1A degradation under stress conditions. PLoS One, 9, e96785, 2014. (査読有)
DOI:10.1371/journal.pone.0096785
9. Yamada T., Wei M., Toyoda T., Yamano S., Wanibuchi H. Inhibitory effect of raphanobrassica on Helicobacter pylori-induced gastritis in Mongolian gerbils. Food Chem Toxicol, 70, 107-113, 2014. (査読有) DOI:10.1016/j.fct.2014.04.037
10. Tago Y., Fujii T., Wada J., Kato M., Wei M., Wanibuchi H., Kitano M. Genotoxicity and subacute toxicity studies of a new astaxanthin-containing Phaffia rhodozyma extract. J Toxicol Sci, 39, 373-382, 2014. (査読有) DOI:10.2131/jts.39.373
11. Wakui S., Mutou T., Takahashi H., Ikegami M., Wanibuchi H., Fukushima S. Vascular endothelial growth factor mRNA levels as a biomarker for short-term N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine-induced rat bladder carcinogenesis bioassay. J Appl Toxicol, 2014. (査読有) DOI: 10.1002/jat.3021
12. Tanaka M., Yamaguchi M., Shiota M., Kawamoto Y., Takahashi K., Inagaki A., Osada-Oka M., Harada A., Wanibuchi H., Izumi Y., Miura K., Iwao H., Ohkawa Y. Establishment of neutralizing rat monoclonal antibodies for fibroblast growth factor-2. Monoclon Antib Immunodiagn Immunother. 33, 261-269, 2014. (査読有) DOI: 10.1089/mab.2013.0085.

[学会発表](計 20 件)

1. 梯アンナ, 桑江優子, 石井直美, 藤岡正喜, 魏 民, 鰐淵英機. ヒト肝細胞癌における新規分子マーカーとして CNPY2 および CACHD1 の同定. 104 回日本病理学会総会, 4 月 30~5 月 2 日, 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市), 2015.
2. 石井直美, 梯アンナ, 楠元久美子, 藤岡正喜, 魏 民, 桑江優子, 大沢政彦, 鰐淵英機. 104 回日本病理学会総会, 4 月 30~5 月 2 日, 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市), 2015.
3. 三島胡桃, 山野莊太郎, 山田健二, 藤岡正喜, 魏 民, 鰐淵英機. 腎細胞癌肺転移新規

モデルの構築及び評価．第 14 回分子予防環境医学研究会，2 月 13～14 日，大阪市立大学医学部（大阪府・大阪市）2015.

4. 下村衣里、魏 民、藤岡正喜、山野荘太郎、梯アンナ、鰐淵英機．1,2-DCP 投与によるハムスターおよびマウスの肝毒性メカニズムの検討．第 14 回分子予防環境医学研究会，2 月 13～14 日，大阪市立大学（大阪府・大阪市）2015.

5. 山野荘太郎、三島胡桃、山田健二、平山幸良、藤岡正喜、魏 民、鰐淵英機．腎臓がんモデルを用いた発がん機構の解明及び転移モデルへの応用．平成 26 年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ，2 月 5～6 日，琵琶湖ホテル（滋賀県・大津市）2015.

6. 梯アンナ、石井真美、魏 民、藤岡正喜、鰐淵英機．肝細胞癌における新規分子マーカーとして CNPY2 および CACHD1 の同定．第 31 回日本毒性病理学会学術総会及び学術集会，1 月 29～30 日，タワーホール船堀（東京都・江戸川区）2015.

7. 下村衣里、魏 民、藤岡正喜、山野荘太郎、梯アンナ、鰐淵英機．ハムスター BOP 二段階膵胆管発がんモデルを用いた 1,2-dichloropropane(1,2-DCP) の発がん修飾作用の検討．第 31 回日本毒性病理学会学術総会及び学術集会，1 月 29～30 日，タワーホール船堀（東京都・江戸川区）2015.

8. 藤岡正喜、魏 民、山野荘太郎、下村衣里、三島胡桃、鰐淵英機．非遺伝毒性肝臓がん物質ダンマル樹脂の発がんメカニズムの検討．第 31 回日本毒性病理学会学術総会及び学術集会，1 月 29～30 日，タワーホール船堀（東京都・江戸川区）2015.

9. 三島胡桃、山野荘太郎、魏 民、鰐淵英機．ラット同所同種移植による新規腎癌肺転移モデルの確立及び評価．第 31 回日本毒性病理学会学術総会及び学術集会，1 月 29～30 日，タワーホール船堀（東京都・江戸川区）2015.

10. 下村衣里、魏 民、藤岡正喜、山野荘太郎、梯アンナ、鰐淵英機．ハムスター BOP 二段階膵胆管発がんモデルを用いた 1,2-dichloropropane(1,2-DCP) の発がん修飾作用の検討．第 31 回日本毒性病理学会学術総会及び学術集会，1 月 29～30 日，タワーホール船堀（東京），（東京都・江戸川区）2015.

11. 梯アンナ、石井真美、桑江優子、房 赫、藤岡正喜、魏 民、鰐淵英機．ヒト肝細胞癌における新治療ターゲットの検索：CNPY2 及び CACHD1．第 73 回日本癌学会学術総会，9 月 25～27 日，パシフィコ横浜（神奈川県・横浜市）2014.

12. 魏 民、下村衣里、藤岡正喜、山野荘太郎、梯アンナ、石井真美、武下正憲、房 赫、鰐淵英機．ハムスター化学発がんモデルを用いた 1,2-dichloropropane の発がん修飾作用の検討．第 73 回日本癌学会学術総会，9 月 25～27 日，パシフィコ横浜（神奈川県・横浜市）2014.

13. 石井真美、梯アンナ、桑江優子、大澤政彦、魏 民、鰐淵英機．ヒト NASH 肝細胞癌に

おけるプロテオーム解析を用いた分枝メカニズムの検討．第 73 回日本癌学会学術総会，9 月 25～27 日，パシフィコ横浜（神奈川県・横浜市）2014.

14. 藤岡正喜、魏 民、山野荘太郎、梯アンナ、石井真美、下村衣里、三島胡桃、房 赫、鰐淵英機．gpt delta ラットを用いた 2-AAF の肝発がん性および変異原性の包括的評価モデルの検討．第 73 回日本癌学会学術総会，9 月 25～27 日，パシフィコ横浜（神奈川県・横浜市）2014.

15. 石井真美、梯アンナ、魏 民、佐谷秀行、鰐淵英機．ヒト肝細胞癌組織における癌幹細胞マーカーとしての CD44v9 の検討．第 11 回日本病理学会カンファレンス，8 月 1～2 日，六戸ホテル神戸（兵庫県・神戸市）2014.

16. 福島昭治、魏 民、梯アンナ、鰐淵英機．化学発がん物質のリスク評価における閾値問題．第 41 回日本毒性学会学術年会，7 月 2～4 日，神戸コンベンションセンター（兵庫県・神戸市）2014.

17. Yamano S., Wei M., Fujioka M., Wanibuchi H., Cancer initiating cell of lung squamous cell carcinoma in mice might be derived from the bronchiolar alveolar stem cell. 39th ESMO Congress, 26-30 September, Madrid (Spain), 2014.

18. 梯アンナ、桑江優子、石井真美、魏 民、鰐淵英機．ヒト肝細胞癌における LC-MS/MS 及び *in vitro* 機能解析を用いた新規特異的候補分子ターゲットの検討．103 回日本病理学会総会，4 月 23～25 日，広島国際会議場（広島県・広島市）2014.

19. 梯アンナ、魏 民、福島昭治、鰐淵英機．ラット肝発がんにおける Valerian の予防効果．第 13 回分子予防環境医学研究会，2 月 13～14 日，和歌山県民文化会館（和歌山県・和歌山市）2014.

20. 梯アンナ、石井真美、藤岡正喜、魏 民、鰐淵英機．肝発がんにおける LC-MS/MS 及び *in vitro* 機能解析を用いた新規特異的候補分子の検討．第 30 回日本毒性病理学会総会および学術集会，1 月 30～31 日，あわぎんホール（徳島県・徳島市）2014.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梯 アンナ (KAKEHASHI Anna)

大阪市立大学・医学（系）研究科（研究院）
講師

研究者番号：60382222

(2) 研究分担者

鰐淵 英機 (WANIBUCHI Hideki)

大阪市立大学・医学（系）研究科（研究院）

教授

研究者番号：90220970