

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25250018

研究課題名(和文) Wnt5aシグナルによるがんの悪性化の分子機構の解明とその分子標的薬の開発

研究課題名(英文) Elucidation of the molecular mechanism of the malignant transformation of cancer with the Wnt5a signal and development of the molecular target medicine

研究代表者

菊池 章 (Kikuchi, Akira)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：10204827

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,900,000円

研究成果の概要(和文)：がんをはじめとする種々の疾患において分泌蛋白質Wnt5aの高発現と病態の悪性化との関連が示唆されている。本研究において1)上皮細胞におけるWnt5aとその受容体の輸送機構とWnt5aによる細胞-基質接着の制御機構、2)Wnt5aによる新規がん細胞増殖機構、3)Wnt5aシグナルを高感度に検出するスクリーニング系の開発ならびにWnt5aシグナル阻害化合物の同定、4)腸管炎症病態におけるWnt5aシグナルによる増悪化機構の四点を明らかにした。これらの研究成果はWnt5aが関与する成体の様々な疾患の分子機構の解明に貢献し、Wnt5aシグナルを標的とする阻害剤開発に寄与すると考えている。

研究成果の概要(英文)：This project focused on the molecular actions of Wnt5a, a representative ligand for the  $\beta$ -catenin-independent pathway, which has been implicated in various adult diseases including cancer. We obtained following results. 1) In polarized epithelial cells, Wnt5a and its receptor were trafficked to the basolateral region to regulate the formation of inner cavity of cysts by promoting cell-extracellular matrix attachment. 2) Wnt5a-dependent cancer cells invasion was depend on receptor-mediated endocytosis, but not and Wnt5a-dependent cancer cells proliferation was. 3) We developed a high throughput screening system to detect Wnt5a-dependent signal effectively and identified two chemical compounds for the inhibition of Wnt5a signaling. 4) Wnt5a signal enhanced interleukin-12 production in dendritic cells to promote Th1 immune-response in colorectal inflammation. These results suggest that Wnt5a signaling could be a novel therapeutic target for cancer and inflammation disease.

研究分野：生化学

キーワード：Wnt5a Wntシグナル がん 炎症 エンドサイトーシス サイトカイン 炎症性腸疾患

## 1. 研究開始当初の背景

Wnt は分子量約 4 万の分泌性糖タンパク質で Wnt が細胞膜受容体に結合すると、 $\beta$ -カテニンを介して遺伝子発現を制御する  $\beta$ -カテニン経路、または  $\beta$ -カテニンに依存せずに細胞運動や極性を制御する  $\beta$ -カテニン非依存性経路が活性化される。がん研究領域において、 $\beta$ -カテニン経路を構成する adenomatous polyposis coli (APC)、 $\beta$ -カテニン、Axin 等のタンパク質の遺伝子変異と発がんとの関係が明らかにされてきた。私共は 1998 年に Axin 複合体における  $\beta$ -カテニンの分解モデルを提唱以来 (EMBO J. 1998, 1999; Mol. Cell. Biol. 1998, 1999; J. Biol. Chem. 1998, 1999)、 $\beta$ -カテニン経路の活性化機構の解明に貢献してきた (EMBO J. 2003; Mol. Cell. Biol. 2004; Dev. Cell, 2006, 2008; Nature, 2008; Cell, 2012; J. Cell Sci. 2010)。世界的にも 10 年以上にわたって、 $\beta$ -カテニン経路を阻害することにより、がんの治療に応用する試みがなされているが、まだ具体的な成果が得られていない。一方、 $\beta$ -カテニン非依存性経路の異常が、がんに関連することが、この数年間で私共を含む複数の研究室から報告された。私共は、 $\beta$ -カテニン非依存性経路を活性化する代表的リガンドである Wnt5a に着目して、Wnt5a タンパク質の精製方法を確立し (Biochem. J. 2006)、得られた精製 Wnt5a を用いた細胞生物学的な解析により、Wnt5a による  $\beta$ -カテニン非依存性経路の活性化機構や細胞接着と運動を制御する新たなシグナル経路を見出してきた (EMBO J. 2010 2 編; Nat. Commun. 2012; J. Cell Sci. 2012)。また、免疫組織学的解析により、胃癌 (237 症例) (Cancer Res. 2006) や前立腺癌 (98 症例) (Oncogene, 2010)、口腔癌 (49 症例) の 30% 以上の症例で Wnt5a が高発現することを見出し、Wnt5a の発現はこれらのがんの悪性度や予後不良に相関することを明らかにした。さらに、ヌードマウスを用いた *in vivo* 転移モデル実験において、Wnt5a をノックダウンすると胃癌細胞の肝転移能が抑制されること (Gastroenterology, 2009)、抗 Wnt5a ポリクローナル抗体の腹腔内投与により、胃癌細胞の転移が抑制されること (Mol. Cancer Ther., 2012) を見出した。したがって Wnt5a の発現はがん細胞の浸潤、転移能獲得に重要であり、Wnt5a が抗がん剤開発の分子標的になると考えた。

しかし、Wnt5a は疎水性、難溶性 (1% CHAPS と 0.5 M NaCl 存在下にて溶解化) タンパク質であり、易接着性 (培養ディッシュに吸着する) 等の性状を示す。生体内では分泌した Wnt5a は分泌細胞自身 (autocrine) または近傍の細胞 (paracrine) に作用すると考えられているが、Wnt5a が細胞内のどのような経路を通過して分泌され、分泌された後細胞外でどの分子と結合し、標的細胞に到達するのかが不明であった。私共はこれまでに Wnt5a の受容体である Frizzled2 がインテグリン 2 と複合体を形成することを明らかにしたが、Wnt5a による細胞-基質接着の分子機構は不明である。また、Wnt5a 依存性の受容体エンドサイトーシスが細胞運動を促進する Rac を活性化することを示したが、その詳細は明ら

かにはしていない。このような未解決の Wnt5a 諸問題を明らかにすることが、Wnt5a シグナルを標的とする阻害剤開発に寄与すると考え、本研究課題を提案するに至った。

## 2. 研究の目的

Wnt5a によるがんの悪性化の分子機構を理解するためには、まず第一に、細胞内外での Wnt5a の輸送機構を解明することが必須であった。私共は Wnt11 と Wnt3a の細胞内輸送に、これらの Wnt の翻訳後修飾とクラスリンやアダプタータンパク質 (AP) が関与することを明らかにした (J. Cell Sci. 2013)。他の Wnt と比較しながら、Wnt5a の輸送機構を明らかにすることは Wnt 研究分野の進展に大きく貢献する。第二の目的は、Wnt5a による細胞基質接着の制御機構を解明することであった。がん細胞の浸潤、転移には基質への接着が重要な意味をもち、その理解は細胞極性決定の分子機構の理解にも繋がる。また、最近高発現した Wnt5a によってある種のがん細胞増殖が促進されるという報告がある。そのため、Wnt5a によるがん細胞増殖機構を明らかにすることも重要な目的となる。さらに、本研究がこれらの研究成果を基に、Wnt5a の分泌を阻害する化合物ならびに Wnt5a と受容体 (Fz2 と Ror2) の結合を阻害する化合物の同定と阻害機構を明らかにすることを第三の目的とした。また、近年、種々の炎症性疾患病態と Wnt5a との関連が示唆されてきており、加えて、慢性炎症病態と発がんとの関連も示唆されている。そこで第四の目的として、個体レベルでの炎症病態における Wnt5a シグナルの機能を明らかにすることを目指した。

上記の目的を達成するために、下記の方法を用いて、成果を得た。

## 3. 研究の方法

### Wnt5a の輸送機構と Wnt5a による細胞-基質接着機構の解析

Wnt5a の生化学的性状を明らかにするため、糖鎖と脂質の翻訳後修飾を質量分析法によって解析した。極性化した上皮細胞における Wnt や Wnt 受容体の輸送機構はトランスウェルにイヌ腎上皮細胞 (MDCK) 細胞を播種することにより極性化させ、Wnt とその受容体の輸送経路を解析した。具体的には頂端部と側底部の培養液中に分泌された Wnt はブルーセファロースによって定量し、Wnt 受容体や細胞膜表面に結合する Wnt はビオチン化することによって定量した。また、マトリゲル内で MDCK 細胞を培養し、内腔側に頂端膜、基質側に側底膜を有する球状のシストを形成させ、Wnt の極性分泌や Wnt 受容体の局在を免疫染色によって解析した。Wnt5a の細胞内輸送と細胞-基質接着の関連については MDCK 細胞における Wnt5a の極性分泌による FAK や Paxillin のリン酸化や Rac の活性化、ならびにシストの内腔形成に対する影響を解析した。

### Wnt5a によるがん細胞増殖機構の解明

これまで、がん細胞における Wnt5a の高発現は浸潤・転移といったがんの悪性化に関与することが知られてきたが、最近、ある種のがん細胞では Wnt5a が、がん細胞の増殖を促進することが報告された。そこで、Wnt5a を

高発現する種々のがん細胞株を用いて、Wnt5a のノックダウンを行い、その細胞増殖能を測定した。また、私共は塩野義製薬との共同研究により抗 Wnt5a モノクローナル抗体を作製し、このモノクローナル抗体によるがん細胞の運動能と増殖能に対する影響を解析した。

#### Wnt5a シグナル阻害化合物の探索

Wnt5a が活性化する細胞内シグナル経路は多様であるため、Wnt5a シグナルを効果的に、且つ、特異的に阻害する方法としては、Wnt5a と受容体との結合を阻害することが重要である。そこで、ハイスループットの化合物探索を可能にするための Wnt5a シグナル特異的レポーター系の構築と、それを用いた Wnt5a 阻害化合物を探索した。具体的には、 $\beta$ -カテニン経路特異的 1 回膜貫通型受容体 LRP6 の細胞外領域を Wnt5a 受容体 Ror2 の細胞外領域に置換した Ror2-LRP6 キメラ受容体を作製した。本来、Wnt5a は LRP6 を介して  $\beta$ -カテニン経路の活性化を誘導しないが、このキメラ受容体は Wnt5a 刺激依存性に  $\beta$ -カテニン経路を活性化する。そこで、Ror2-LRP6 キメラ受容体安定発現 CHO 細胞に、 $\beta$ -カテニン経路特異的ルシフェラーゼレポーター導入した安定株を 384 well plate に撒き、5  $\mu$ M の化合物を添加後、Wnt5a で 6 時間刺激を行い、luciferase の発光を FDSS マイクロプレートリーダーを用いて検出した。探索に用いた化合物ライブラリーは、大阪大学産学連携本部が所有する 3500 種類の化合物から成るものである。

#### Wnt5a シグナルによる炎症応答制御機構の解明

これまでに、私共は Wnt5a ヘテロマウスがデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 誘発性腸管炎症に耐性を示すことを見出した。Wnt5a や Wnt5a 受容体 Ror2 の単純 KO マウスは胎生致死となるため、成体での Wnt5a シグナルの欠損を行うためには Wnt5a や Ror2 の時期・組織特異的コンディショナルノックアウト (cKO) マウスを作製する必要があった。私共は Wnt5a flox マウスを既に作製しており、Ror2 flox マウスは神戸大学・南康博先生より提供していただいた。そこで、上記 flox マウスに全身性にタモキシフェン (Tm) 誘導性 CreER が発現する CAG-CreER マウス、腸管上皮組織特異的 (Villin-Cre)、血球系細胞特異的 (Mx-Cre) Cre Tg マウスを掛け合わせた Wnt5a cKO もしくは Ror2 cKO マウスを DSS 誘発性腸管炎症モデルに導入し、腸管炎症に耐性を示す表現型を個体レベルで解析した。具体的には、2.5% DSS 含有水投与後の体重変化、便の形状、血便・出血等の病理症状をスコア化し、実験開始時の体重の 80% 以下になる時点まで観察した。その後、消化管を中心に各臓器を採取し、免疫組織学的解析や炎症性サイトカインの発現解析を行った。この個体レベルでの表現型の解析から、Wnt5a シグナルの欠損によって引き起こされる腸管炎症耐性の主たる要因となる Wnt5a 産生 (発現) 細胞と Wnt5a 応答細胞が明らかになった。そこで、腸管炎症に耐性を示す Wnt5a や Ror2 の cKO マウスから Wnt5a 応答細胞の

初代培養細胞を単離し、Wnt5a-Ror2 シグナルの欠損が引き起こす炎症耐性の要因を探索するため、生化学・分子生物学的手法を用いて解析を行った。加えて、Wnt5a 産生細胞や Wnt5a 応答細胞に Wnt5a の強制発現を行うことで、Wnt5a シグナルが増強した際の炎症性サイトカイン産生能や免疫応答シグナルへの影響を解析した。

#### 4. 研究成果

##### Wnt5a の輸送機構と Wnt5a による細胞-基質接着機構の解析

Wnt5a の翻訳後修飾について解析した結果、244番のSにパルミトレイン酸が付加され、114番と326番のNに高マンノース型、312番のNに混成型糖鎖が付加されていることを明らかにした。極性化MDCK細胞におけるWnt5aの細胞外分泌を解析した結果、Wnt5aはクラスリンとAP1を介して側底部に分泌されることを見出した。極性化上皮細胞における膜タンパク質の頂端部への輸送シグナルの一つにN結合型糖鎖が報告されている。私共はWnt11が頂端部へ分泌されることを見出しており、Wnt5aとWnt11の糖鎖修飾の違いを考えるとWnt11のN末端側に付加される複合型糖鎖が極性分泌に関連すると考えられた。そこで、Wnt5aのN末端側に糖鎖修飾部位を挿入したWnt5aL68Nを作製し、糖鎖修飾と極性分泌を解析した。その結果、Wnt5aL68Nは複合型糖鎖が付加され、極性化MDCK細胞において頂端部へ分泌された。したがって、Wntの極性分泌においてN末端側に複合型糖鎖が付加されると側底部よりも頂端部への輸送シグナルが優位に働き、Wntが頂端部へ分泌されると考えられた。

極性化MDCK細胞においてWnt5a受容体の輸送経路について解析した結果、Fz2とRor2は側底部に局在した。また、Wnt5aを頂端部から作用させてもWntシグナルは活性化されないが、側底部から刺激するとWnt5aシグナルが活性化された。したがって、WntとWnt受容体が極性化上皮細胞の同じ領域に輸送されることにより、効率よくWntシグナルが活性化されると考えられる。3次元培養条件におけるMDCK細胞のシスト形成において、Wnt5aの発現や分泌を抑制するとシストの内腔形成が遅延することから、この内腔形成にWnt5aシグナルが関与することが示唆された。また、Wnt5aの発現抑制や分泌阻害によってFAKやPaxillinのリン酸化、Rac活性が抑制され、それらの表現型はWnt5aL68Nではレスキューされないが、野生型Wnt5aによってレスキューされた。したがって、極性化されたMDCK細胞においてFz2とRor2受容体が側底側に局在することを合わせて考えると、側底側においてWnt5aシグナルが活性化され、FAKとPaxillinのリン酸化やRacの活性化を介して細胞-ECM接着が促進されることにより、内腔形成が促進されることが示唆された。

##### Wnt5a によるがん細胞増殖機構の解明

Wnt5a が内在性に高発現することが判明している肺がん細胞株 A549 と Calu-6、子宮頸癌細胞株 HeLaS3、食道癌細胞株 KYSE-70 と

TE-11 において、siRNA による Wnt5a や受容体のノックダウンを行い、その細胞増殖能の検討を行った。その結果、Wnt5a シグナルの欠損によって細胞増殖能が減弱した。そこで、Wnt5a shRNA を導入した A549 細胞と HeLaS3 細胞をヌードマウスの皮下に移植し、個体レベルでの皮下腫瘍の増殖能を解析し、Wnt5a のノックダウンが個体での腫瘍増殖能も抑制することを明らかにした。

次に、Wnt5a 依存性に細胞運動と細胞増殖が亢進される HeLaS3 細胞を用いて、抗 Wnt5a モノクローナル抗体の抗腫瘍効果を検討した。その結果、モノクローナル抗体の添加によって、Wnt5a 依存性受容体エンドサイトーシスが抑制され、且つ Rac1 の活性化に伴う細胞運動能の減弱が観察された。一方で、抗 Wnt5a モノクローナル抗体の添加は、細胞増殖能には影響を示さなかったため、HeLaS3 細胞の増殖制御に関わるシグナル経路には、受容体エンドサイトーシスを介さない可能性が示唆された。そこで、HeLaS3 細胞に Wnt5a siRNA を導入して、既知の Wnt5a シグナル下流のシグナル分子の活性化を網羅的に解析した。その結果、Wnt5a による細胞増殖が Src の活性化を介して促進されることが判明した。また、Wnt5a 依存性受容体エンドサイトーシスに関するクラスリンに対する阻害剤での処理やノックダウンを行い細胞増殖能の検討を行った結果、Wnt5a による細胞増殖には受容体エンドサイトーシスが関与しないことが明らかになった。よって、抗 Wnt5a モノクローナル抗体の作用機構の解析を通して、Wnt5a が受容体エンドサイトーシスを介して細胞運動能を制御する一方で、受容体エンドサイトーシスを介さずに細胞増殖制御を行うという新たな知見が得られた (Sci. Rep., 2015)。

### Wnt5a シグナル阻害化合物の探索

Wnt5a シグナル阻害化合物を探索した結果、3500 種類の化合物のうち、Wnt5a による luciferase 遺伝子の発現を 60%以上阻害する化合物が 85 種類同定された。そのうち受容体のアゴニストやアンタゴニストなど細胞外で作用する可能性の高い 15 種類の化合物を選別し、二次スクリーニングを行った。二次スクリーニングは化合物の濃度依存性と共に、細胞毒性および Wnt5a シグナルへの特異性に関して、Wnt3a に対する阻害効果を調べることにより明らかにした。この二次スクリーニングの結果、細胞毒性が低く、Wnt5a シグナルへの特異性の高い二つの化合物を同定した。

### Wnt5a シグナルによる炎症応答制御機構の解明

全身性時期特異的に Wnt5a を欠失する CAG-CreER Wnt5a cKO マウスと血球系細胞特異的 Mx-Cre Wnt5a cKO マウス、腸管上皮特異的 Villin-Cre Wnt5a cKO マウスを作製し、これら Wnt5a cKO マウスを DSS 誘発性腸管炎症モデルに導入し、その表現型の解析を行った。その結果、Wnt5a ヘテロマウスと同様に DSS 誘発性腸管炎症に耐性を示したものは、CAG-CreER Wnt5a cKO マウスのみであった。この結果から、少なくとも血球系細胞と腸管

上皮における Wnt5a は腸管炎症に関与しないことが判明した。そのため、以降の実験は CAG-CreER Wnt5a cKO (Wnt5a cKO) マウスを用いて行った。

DSS 投与後の間質領域の細胞において、Wnt5a の発現が亢進するが、どの細胞種において Wnt5a が高発現するのかを観察するために免疫染色を行った結果、Wnt5a 発現細胞は Vimentin 陽性線維芽細胞であることが判明した。この線維芽細胞での Wnt5a の高発現は、ヒトの潰瘍性大腸炎 (UC) や Crohn's 病患者由来の潰瘍部においても同様に観察された。以上の結果から、マウスとヒトの腸管炎症病態において高発現する Wnt5a の主たる産生細胞は線維芽細胞であることが明らかになった。

次に、Wnt5a cKO マウスでの DSS 誘発性腸管炎症の耐性の要因を探るために、DSS 処理後の大腸組織片を用いて、各種炎症性サイトカインの発現を RT-PCR と ELISA によって解析した。その結果、DSS により腸管炎症が誘発された際の IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-12、IFN- $\gamma$  等の炎症性サイトカインの発現が Wnt5a cKO マウスにおいて減弱していた。そこで、腸管における T 細胞系譜の FACS 解析を行った。その結果、Wnt5a cKO マウスでは、IFN- $\gamma$  産生 CD4 陽性 T 細胞 (Th1 細胞) の割合が特異的に減少していることが明らかになった。以上の結果から、腸管炎症病態において、線維芽細胞由来の Wnt5a が、Th1 細胞の誘導に関与していることが示唆された。また、Wnt5a 受容体 Ror2 の血球系特異的 Ror2 cKO でも、Wnt5a cKO マウスと同様に腸管炎症耐性の表現型を示したことから、Wnt5a 応答細胞が血球系細胞であることが示唆された。

未分化 (naïve) T 細胞から Th1 細胞への分化誘導は、主として樹状細胞より分泌される IL-12 によって誘導されることが判明している。そこで、血球系細胞のうち樹状細胞に注目し、LPS 依存性炎症性サイトカインの発現解析を行った。その結果、Wnt5a や Ror2 cKO マウス由来の樹状細胞では、LPS 刺激後の IL-12、IL-6、IL-23 等の発現が減弱することが判明した。また、これら cKO マウス由来の腸管樹状細胞と脾臓由来の naïve T 細胞との共培養実験を行った結果、Wnt5a シグナルの欠損により naïve T 細胞から Th1 細胞への分化誘導能が減弱することが明らかになった。

そこで、樹状細胞での Wnt5a シグナルの欠損による影響を検討するため、Wnt5a と Ror2 cKO マウス由来の樹状細胞を用いて、LPS-TLR4 シグナルに関して解析を行った。しかし、Wnt5a シグナルの欠損による LPS-TLR4 シグナルへの直接の影響は観察されなかった。そのため、樹状細胞の IL-12 (*IL-12b*) プロモーターを ChIP assay によって解析した。その結果、Wnt5a と Ror2 cKO マウス由来樹状細胞では、LPS 刺激依存性の RNA ポリメラーゼ II や NF $\kappa$ B の *IL-12b* プロモーターへのリクルート量が減少し、且つヒストンのアセチル化の程度も減弱していた。このことから、Wnt5a シグナルの欠損が、IFN- $\gamma$ -STAT1 シグナルによる priming 効果を減弱させていることが示唆された。実際に、樹状細胞の IFN- $\gamma$  シグナル応答性を検討した結果、Wnt5a シグナルの欠損により、IFN- $\gamma$  依存性 STAT1 経路の活性

化が減弱することが明らかになった。以上の結果から、樹状細胞での Ror2 を介した Wnt5a シグナルが、IFN- $\gamma$ -STAT1 シグナルを増強させることで IL-12 の産生を促進することが明らかになった。その結果、Th1 細胞への分化が促されて Th1 応答が高まる結果、腸管炎症病態の増悪化に繋がることが明らかになった (Sci. Rep., 2015)。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 14 件)

1. Matsumoto, S., Kurimoto, T., Taketo, M., Fujii, S., and Kikuchi, A. Wnt-Myb pathway suppresses KIT expression to control the timing of salivary proacinar differentiation and duct formation. *Development* in press
2. Kimura, H., Fumoto, K., Shojima, K., Nojima, S., Osugi, Y., Tomihara, H., Eguchi, H., Shintani, Y., Endo, E., Inoue, M., Doki, Y., Okumura, M., Morii, E., and Kikuchi, A. CKAP4 is involved in tumor progression as a Dickkopf1 receptor. *J Clin. Invest.* in press
3. Mihara, E., Hirai, H., Yamamoto, H., Tamura-Kawakami, K., Matano, M., Kikuchi, A., Sato, T., and Takagi, J. Active and water-soluble form of lipidated Wnt protein is maintained by a serum glycoprotein afamin/ $\alpha$ -albumin. *eLife*, 5, e11621, 2016.
4. Abedini, A., Zamberlam, G., Lapointe, E., Tourigny, C., Boyer, A., Paquet, M., Hayashi, K., Honda, H., Kikuchi, A., Price, C., and Boerboom, D. WNT5a is required for normal ovarian follicle development and antagonizes gonadotropin responsiveness in granulosa cells by suppressing canonical WNT signaling. *FASEB J.* 30(4):1534-1547, 2016.
5. Sato, A., Kayama, H., Shojima, K., Matsumoto, S., Koyama, H., Minami, Y., Nojima, S., Morii, E., Honda, H., Takeda, K., Kikuchi, A. The Wnt5a-Ror2 axis promotes the signaling circuit between interleukin-12 and interferon- $\gamma$  in colitis. *Sci. Rep.*, 5, 10536, 2015.
6. Ibuka, S., Matsumoto, S., Fujii, S., Kikuchi, A. The P2Y2 receptor promotes Wnt3a and EGF-induced epithelial tubular formation of IEC6 cells by binding to integrins. *J Cell Sci.*, 128(11):2156-2168, 2015.
7. Shojima, K., Sato, A., Hanaki, H., Tsujimoto, I., Nakamura, M., Hattori, K., Sato, Y., Dohi, K., Hirata, M., Yamamoto, H., and Kikuchi, A. Wnt5a promotes cancer cell invasion and proliferation by receptor-mediated endocytosis-dependent and -independent mechanisms, respectively. *Sci. Rep.* 27; 5:8042, 2015.
8. Yamamoto, H., Awada, C., Matsumoto, S., Kaneiwa, T., Sugimoto, T., Takao, T., and Kikuchi, A. Basolateral secretion of Wnt5a in polarized epithelial cells is required for apical lumen formation. *J. Cell Sci.* 128(5):1051-1063, 2015.
9. Fujii, S., Matsumoto, S., Nojima, S., Morii, E., and Kikuchi, A. Arl4c expression in colorectal and lung cancers promotes tumorigenesis and may represent a novel therapeutic target. *Oncogene*, 34(37):4834-4844, 2015
10. Matsumoto, S., Fujii, S., Sato, A., Ibuka, S., Kagawa, Y., Ishii, M., and Kikuchi, A. A combination of Wnt and growth factor signaling induces Arl4c expression to form epithelial tubular structures. *EMBO J.* 33, 702-718, 2014
11. Kagawa, Y., Matsumoto, S., Kamioka, Y., Mimori, K., Naito, Y., Ishii, T., Okuzaki, D., Nishida, N., Maeda, S., Naito, A., Kikuta, J., Nishikawa, K., Nishimura, J., Haraguchi, N., Takemasa, I., Mizushima, T., Ikeda, M., Yamamoto, H., Sekimoto, M., Ishii, H., Doki, Y., Matsuda, M., Kikuchi, A., Mori, M., and Ishii, M. Cell Cycle-Dependent Rho GTPase Activity Dynamically Regulates Cancer Cell Motility and Invasion In Vivo. *PLoS ONE*. 8, e83629, 2013
12. Gon, H., Fumoto, K., Ku, Y., Matsumoto, S., and Kikuchi, A. Wnt5a signaling promotes apical and basolateral polarization of single epithelial cells. *Mol. Biol. Cell.* 24, 3764-74, 2013
13. Yamamoto, H., Awada, C., Hanaki, H., Sakane, H., Tsujimoto, I., Takahashi, Y., Takao, T., and Kikuchi, A. Apicobasal secretion of Wnt11 and Wnt3a in polarized epithelial cells is regulated by distinct mechanisms. *J. Cell Sci.* 126, 2931-2943, 2013.
14. Kiyohashi, K., Kakinuma, S., Kamiya, A., Sakamoto, N., Nitta, S., Yamanaka, H., Yoshino, K., Fijuki, J., Murakawa, M., Kusano-Kitazume, A., Shimizu, H., Okamoto, R., Azuma, S., Nakagawa, M., Asahina, Y., Tanimizu, N., Kikuchi, A., Nakauchi, H., Watanabe, M. Wnt5a signaling mediates biliary differentiation of fetal hepatic stem/progenitor cells. *Hepatology* 57, 2502-2513, 2013.

〔学会発表〕(計 15 件)

1. Kikuchi, A. Implication of Arl4c expression in tubulogenesis and tumorigenesis. 第 31 回国際生物学賞記念シンポジウム、平成 27 年 12 月 5 日、京都
2. Kikuchi, A. Fine-tuning of differentiation and morphogenesis of tubular organs by Wnt signaling.

- BMB2015(第38回日本分子生物学会年会、第88回日本生化学会大会 合同大会)、平成27年12月4日、神戸
3. 菊池章、上皮管腔形成研究を基盤にしたがん治療のための新規標的分子の同定。Identification of new molecular targets for cancer therapy based on the study of epithelial tubular formation. 第74回日本癌学会学術総会、平成27年10月9日、名古屋
  4. 菊池章、増殖因子シグナルによる上皮形態形成の分化と制御、第6回Molecular Cardiovascular Conference、平成27年9月5日、福岡
  5. Kikuchi, A. Fine-tuning regulation of salivary gland morphogenesis and differentiation by Wnt signaling. 新学術領域第2回国際シンポジウム「Epithelial Tubulology」、平成27年8月22日、北海道
  6. 菊池章、Wnt5aシグナル伝達 その異常のがんと炎症における意義、第48回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会、平成27年7月10日、香川
  7. Kikuchi, A. Epithelial tubulogenesis by growth factor signaling and tumorigenesis due to its abnormality. The 39th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. December 14th, 2014. Osaka
  8. Kikuchi, A. Wnt5a signaling; its implication in cancer and inflammation. University of Washington and Kobe University International Joint Symposium. December 15<sup>th</sup>, 2014. Kobe
  9. Kikuchi, A. Epithelial tubular formation by a combination of growth factor signaling and tumorigenesis due to its abnormality. 14th Japanese-German Cancer Workshop, November 14-16, 2014, Berlin, Germany.
  10. Kikuchi, A. Regulation of tubulogenesis by growth factor signaling and its implication in tumorigenesis. 第87回日本生化学会大会、平成26年10月17日、京都
  11. 菊池章、増殖因子シグナルによる上皮管腔組織形成とその破綻による発がん。第73回日本癌学会総会、平成26年9月26日、横浜
  12. Kikuchi, A. Development of epithelial tube formation by growth factor signaling and tumorigenesis due to its abnormality. 2014 KSBMB Annual Meeting, May 14-16, 2014, COEX, Seoul, Korea.
  13. 菊池章、上皮管腔構造形成のメカニズムと細胞のがん化。第103回日本病理学会総会、平成26年4月25日、広島
  14. 菊池章、上皮管腔組織形成とその異常によるがん。山村雄一記念ライフホール開設講演会。平成26年4月23日、大阪

15. 菊池章、上皮管腔組織形成とその異常によるがん。愛媛大学プロテオサイエンスセンター第1回学術シンポジウム、平成26年3月1日、愛媛大学  
〔図書〕(計1件)

1. Kikuchi, A., Matsumoto, S., Fumoto, K., and Sato, A. Modulation of Wnt Signaling by Endocytosis of Receptor Complexes. *Wnt Signaling*. Chapter 8 in *Wnt signaling in Development and Disease*, Edited by Stefan Hoffer and Randol Moon, John Wiley and Sons, Inc. 2014

〔産業財産権〕

出願状況(計3件)

1. 名称: CKAP4を標的分子とした抗腫瘍剤  
発明者: 菊池章  
権利者: 菊池章  
種類: 特許  
番号: PCT/JP2016/052485  
出願年月日: 2016年1月28日  
国内外の別: 海外
2. 名称: CKAP4を標的分子とした抗腫瘍剤  
発明者: 菊池章  
権利者: 菊池章  
種類: 特許  
番号: K20140017  
出願年月日: 2015年2月27日  
国内外の別: 国内
3. 名称: ヒトがんにおけるAr14cの高発現と発現抑制による抗腫瘍効果の発見  
発明者: 菊池章  
権利者: 菊池章  
種類: 特許  
番号: K20140141  
出願年月日: 2014年9月9日  
国内外の別: 国内

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/molbio/bc/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菊池 章 (KIKUCHI AKIRA)

大阪大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号: 10204827

(2) 研究分担者

麓 勝己 (FUMOTO KATSUMI)

大阪大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号: 40467783

(3) 研究分担者

松本 真司 (MATSUMOTO SHINJI)

大阪大学・大学院医学系研究科・特任助教(常勤)

研究者番号: 20572324