

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460465

研究課題名(和文) ゲノム編集技術を用いたSOX2発現制御機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of SOX2 transcriptional regulation mechanism using genome editing technique

研究代表者

飯笹 久 (Iizasa, HISASHI)

島根大学・医学部・准教授

研究者番号：80306662

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：Cas9及びgRNA発現ベクター、相同組換えベクターを遺伝子導入し(ゲノム編集法)、乳がん細胞株MCF-7のSOX2遺伝子C末端側にVenus等の蛍光遺伝子を組み込んだ。相同組換え体の細胞株では、核に局在して緑色蛍光を発したが、その蛍光は弱く、蛍光顕微鏡で生細胞のまま細胞内の局在を解析するのは困難であった。加えて、親株と比較して細胞株ごとに細胞増殖にバラツキがあり、gRNAによるoff-targetが予想された。同様な結果は、他の遺伝子のゲノム編集でも認められた。そこで、in vitroでCas9タンパク質及びgRNA複合体を形成し、これを導入した。現在新たな相同組換え体の解析を行っている。

研究成果の概要(英文)：Cas9, gRNA expression vectors, and homologous recombination vector were transfected into breast cancer cell line MCF-7 using genome editing. fluorescent genes Venus was inserted into the C-terminal side of the SOX2 gene. In the cell line of the homologous recombinant, although it localized in the nucleus and emitted green fluorescence, the fluorescence was weak, and it was difficult to analyze the localization of intracellular cells as live cells by fluorescence microscopy. In addition, there was variation in cell proliferation for each cell line compared to the parent strain, and off-target by gRNA was predicted. Similar results were found in genomic editing of other genes. Therefore, Cas9 protein and gRNA complex were formed in vitro and introduced. Currently, we analyze new homologous recombinants.

研究分野：腫瘍学 RNA学

キーワード：ゲノム編集 幹細胞

1. 研究開始当初の背景

SOX2 [SRY (sex determining region Y)-box2] は、幹細胞特異的転写因子の1つであり、乳がん、胃がん、食道がんにおいて高い発現が認められる。乳がんにおけるSOX2の発現量は癌の悪性度と相関しており、SOX2ノックダウン乳がん細胞株では腫瘍形成が抑制される (Stolzenburg S et al. *Nuc Acid Res*, 2012)。また、SOX2の過剰発現は“がん幹細胞”を増加させる (Corominas-Faja B et al. *Cell Cycle*, 2013)。がん幹細胞は自己複製能を有し、抗がん剤に対して強い耐性を示すが、いまだその性質には不明な点が多い。SOX2発現制御因子は、USP22 (Sussman RT et al, *J Biol Chem*, 2013)、p21(Li H et al. *Cell Stem Cell*, 2012)、miR-429 (Li J et al. *Cancer Lett*, 2013)、miR-140 (Zhang Y et al. *J Biol Chem*, 2012)などが報告されている。しかしこれらはES細胞を用いて同定されており、乳がんでの影響は不明である。SOX2は核内にあり、生細胞における発現量を測定できない。Ellisらは、相同組換え法によりSOX2遺伝子とGFP-Neo^R遺伝子を置換し、マウス生細胞のSOX2発現量を報告している (Ellis P et al. *Dev Neurosci*, 2004)。一方がん細胞株では、染色体転座や遺伝子増幅があり通常の相同組換え技術は使えない。植物感染細菌 *Xanthomonas* の転写因子TALEから作成されたTALENや、細菌の防御システムを利用したCRISPR-Cas9などのゲノム編集は、ゲノムの決まった位置に切断面を導入するため、通常数kbは必要な遺伝子相同領域が、500-1kb程度でも相同組換え可能である。したがって、ゲノム編集システムを用いれば、生きているがん細胞株のSOX2発現量を、リアルタイムにモニタリングするシステムを構築し、SOX2発現制御因子を同定することができる。

2. 研究の目的

研究期間内に、乳がんにおける、転写因子、シグナル伝達系、miRNA、エンハンサー結合因子、受容体などのSOX2発現制御因子を明らかにする。そのために、ゲノム編集技術を用いてSOX2遺伝子をSOX2-蛍光遺伝子(融合遺伝子)に置換し、SOX2発現量を生きているがん細胞株でモニタリングするシステムを開発する。生化学的及び分子生物学的手法、ゲノム編集、動物実験を駆使して制御因子の全貌を明らかとする。

3. 研究の方法

[平成26年度]

(1) ゲノム編集によるSOX2発現モニタリング乳がん細胞株の樹立

TALENもしくはCRISPR-Cas9システムを用いて、乳がん細胞株 MCF-7 のSOX2遺伝子をSOX2-tdTomato遺伝子に置換し、3'側に

PGK promoter-GFP-Neo^R遺伝子を挿入する(図参照)。相同組換えはPCR法により確認する。コントロールとして、通常の発現ベクターに組込んだSOX2 cDNA-tdTomatoとGFP-Neo^R遺伝子の過剰発現株も作成する。tdTomato⁺細胞とtdTomato⁻細胞をセルソーターで分離し、SOX2発現量とtdTomatoの蛍光シグナルに相関性があるかを、qRT-PCR及びWestern Blottingで解析する。

(2) SOX2発現モニタリング細胞のヌードマウスへの移植

(1)で樹立した細胞株をヌードマウスに移植し、腫瘍中のtdTomato⁺細胞の局在を*in vivo*イメージングシステムIVISにより観察する。腫瘍をコラゲナーゼ処理及びGFP⁺細胞をセルソーターで分離する。tdTomato⁺細胞とtdTomato⁻細胞を分離し、RNA及びタンパク質を抽出する。同様な実験をSOX2過剰発現株でも行なう。また同時に腫瘍から凍結切片を作製し、GFP⁺細胞におけるtdTomato⁺細胞の局在を蛍光顕微鏡で観察する。更に、分離したtdTomato⁺細胞とtdTomato⁻細胞を別のヌードマウスへ移植し、腫瘍形成能を解析する。

(3) tdTomato⁺細胞のRNA/タンパク質プロファイルの解析

(2)抽出したRNAは、TORAY 3D arrayにてRNAとmiRNAを解析する。タンパク質は、二次元電気泳動を行い、SOX2過剰発現株で少なくtdTomato⁺細胞とtdTomato⁻細胞間で差があったスポットについてLC-MS/MS解析を行なう(連携研究者：蔵満保宏博士が行なう)。

[平成27年度以降]

(4) *in vivo*アッセイを用いたSOX2発現制御因子の同定

(1)で樹立した細胞株と同じ方法で、T47Dなどの乳がん細胞株で同じ実験系を構築する。(3)で発現変動した遺伝子について、siRNAを腫瘍部にelectroporation法を用いて遺伝子導入後tdTomatoの蛍光変化を確認し、SOX2発現量及び腫瘍形成能に変化があるかを確認する(T47Dもついても行なう)。また、同様にtdTomato⁻細胞に発現しているmiRNAの中からSOX2を標的とする予想されるものを、遺伝子導入する。

(5) ChIP-seqを用いたSOX2制御因子結合領域の同定

(4)でSOX2の発現が変動した遺伝子のうち、ゲノムDNAと結合すると予想されるタンパク質は、FLAGタグなどをNまたはC末端に付加し、ゲノムDNAとの結合を次世代シーケンサーによるChIP-seqにて解析する。プロモーターなどのSOX2遺伝子の近傍に結合したタンパク質は、ルシフェラーゼアッセイベクターを構築し、その影響を解析する。

(6) 受容体シグナル阻害剤を用いた SOX2 発現抑制

(4) で同定した遺伝子のうち、受容体もしくは受容体のシグナルカスケードに位置する遺伝子が含まれた場合、シグナル阻害剤や受容体に対する抗体を用いて SOX2 の発現が変動するか確認する。in vitro でも、SOX2 発現モニタリング細胞株にて阻害剤の影響を確認する。

(7) SOX2 を標的とした薬剤スクリーニング

(1)、(4) で樹立した細胞株に、(4) 及び(6) から予想される SOX2 発現抑制が可能な医薬品を、in vitro 及び in vivo で処理しその効果を確認する。また、抗がん剤との相互作用を確認する。

4. 研究成果

Cas9 発現ベクター及び gRNA 発現ベクターを Addgene から購入し、乳がん細胞株 MCF-7 へ遺伝子導入した。ゲノム編集の効率を確認後、SOX2 遺伝子の C 末端側に eGFP を導入し、gRNA 編集部位に変異を挿入した相同組換えベクターと、Cas9, gRNA 発現ベクターを細胞株へ遺伝子導入した。相同組換え体の確認は、PCR 法により行った。その結果、細胞株は、一部の細胞が核に蛍光を発したが、eGFP では発現が弱く、細胞内の局在を判別するのが困難であった。

次に、eGFP の代わりに蛍光が強い Venus 遺伝子または mCherry 遺伝子を導入した。その結果、前述の結果と同様に、核内に蛍光が認められたが細胞株によっては蛍光が強くなく、一方細胞分裂中の細胞には強い蛍光が認められた。しかしながら、生細胞を用いた蛍光顕微鏡による SOX2 局在の観察は困難であった。また細胞株の増殖速度及び形態は、親株と比べ差が認められ、異なる細胞株でも違いが認められた。同じゲノム編集技術を用いて腫瘍悪性化に関与する ADAR1, ADAR2, ETS 遺伝子群、APOBEC 遺伝子群等の欠損株を複数の細胞株で作成したが、同様に細胞株ごとに表現型にバラツキが認められた。これらの結果は、gRNA による off target 効果が認められたことを示唆している。

そこで、次に Cas9 タンパク質と合成 gRNA を in vitro で混ぜてタンパク質-RNA 複合体を形成させ、これを lipofection 法にて遺伝子導入した。その結果、ゲノム編集効率は発現ベクターと比較して数分の一に低下したが、遺伝子欠損株が取得でき、遺伝子戻し実験等の結果から、off target 効果が低い均質の細胞株クローンを得ることができた。同様な結果は、複数の遺伝子、及び細胞株で確認できた。前述の相同組換え体について現在解析を行っている。

同時に、SOX2 プロモーターについて共同研究を行い、神経系の細胞において SOX2 プロモーターが重要であり、その転写制御に β -アミロイド前駆体が関わることを報告した (文献 9)。この報告は、SOX2 発現制御にはプロモーター領域が重要であることを示唆している。現在、プロモーター結合タンパク質として以前同定した遺伝子の欠損株を、ゲノム編集法にて作成し、解析を行っている。

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 32 件)

1. Kim H, Iizasa H, Kanehiro Y, Fekadu S, Yoshiyama H. Herpesviral microRNAs for cellular metabolism and immune responses. *Front Microbiol (in press)* 査読有
2. Nishikawa J, Iizasa H (2 番目, 11 人). The Role of Epigenetic Regulation in Epstein-Barr Virus-Associated Gastric Cancer. *Int J Med Mol Sci (in press)* 査読有
3. Wang Y, Kuramitsu Y (2 番目, 9 人). PI3K inhibitor LY294002, as opposed to wortmannin, enhances AKT phosphorylation in gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells. *Int J Oncol.* 50(2): 606-612, 2017. 査読有
4. Nishihara H, Kuramitsu Y (6 番目, 13 人). Identification of galectin-3 as a possible antibody target for secondary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 23(3):382-394, 2017. doi: 10.1177/1352458516655217. 査読有
5. Harada K, Kuramitsu Y (4 番目, 8 人). Induction of artificial cancer stem cells from tongue cancer cells by defined reprogramming factors. *BMC Cancer* 16(1): 548, 2016. doi:10.1186/s12885-016-2416-9. 査読有
6. Khaghanzadeh N, Kuramitsu Y (3 番目, 5 人). Immune-associated proteins with potential in vivo anti-tumor activities are up-regulated in lung cancer cells treated with umbelliprenin: A proteomic approach. *Oncol Lett* 12(6): 5295-5302, 2016. doi: 10.3892/ol.2016.5352. 査読有
7. Tokuda K, Kuramitsu Y (2 番目, 9 人). Changes in metabolic proteins in ex vivo rat retina during glutamate-induced neural progenitor cell induction. *Mol Cell Biochem* 419(1-2): 177-184, 2016. doi:10.1007/s11010-016-2769-z. 査読有
8. Fujiwara S, Kuramitsu Y (9 番目, 12 人). RipAY, a Plant Pathogen Effector Protein, Exhibits Robust γ -Glutamyl Cyclotransferase Activity When Stimulated by Eukaryotic Thioredoxins. *J Biol Chem* 291(13): 6813-6830, 2016. doi:10.1074/jbc.M115.678953. 査読有
9. Sarlak G, Iizasa H (4 番目, 8 人). Sox2

- functionally interacts with β APP, the β APP intracellular domain and ADAM10 at a transcriptional level in human cells. *Neuroscience* 312:153-164, 2016. doi:10.1016/j.neuroscience.2015.11.022. 査読有
10. 村松正道、飯笹久. DNA/RNA 編集研究の新たな眺望. *Seikagaku* 88 (5): 555-556 (2016).doi:10.14952/SEIKAGAKU. 2016.880555 査読無
 11. 飯笹久. 疾患における A-to-I RNA 編集酵素 ADAR1 の役割. *Seikagaku* 88 (5): 593-599(2016).doi:10.14952/ SEIKAGAKU. 2016. 880593 査読無
 12. Zhang X, Kuramitsu Y (2 番目, 5 人). Endoplasmic reticulum protein profiling of heat-stressed Jurkat cells by one dimensional electrophoresis and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Cytotechnology*. 68(4): 1103-1113, 2016. doi: 10.1007/s10616-015-9867-8. 査読有
 13. Wang Y, Kuramitsu Y (2 番目, 7 人). CGK733-induced LC3 II formation is positively associated with the expression of cyclin-dependent kinase inhibitor p21Waf1/Cip1 through modulation of the AMPK and PERK/CHOP signaling pathways. *Oncotarget* 6(37): 39692-39701, 2015. doi: 10.18632/oncotarget.5625. 査読有
 14. Iizasa H (1 番目, 5 人). Dysbiotic infection in the stomach. *World J Gastroenterol* 21(40):11450-11457, 2015. doi:10.3748/wjg.v21.i40.11450. 査読有
 15. Wang Y, Kuramitsu Y (2 番目, 7 人). PERK/CHOP contributes to the CGK733-induced vesicular calcium sequestration which is accompanied by non-apoptotic cell death. *Oncotarget* 6(28): 25252- 25265, 2015. doi:10.18632/oncotarget.4487. 査読有
 16. Kuramitsu Y (1 番目, 7 人). High-mobility group box 1 and mitogen-activated Protein kinase activated Protein Kinase-2 are up-regulated in gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells. *Anticancer Res* 35(7): 3861-3865, 2015. 査読有
 17. Tokuda K, Kuramitsu Y (2 番目, 10 人). Up-regulation of DRP-3 long isoform during the induction of neural progenitor cells by glutamate treatment in the ex vivo rat retina. *Biochem Biophys Res Commun* 463(4): 593-599,2015. doi: 10.1016/j.bbrc. 2015. 05. 102. 査読有
 18. Kuramitsu Y (1 番目, 8 人). Inflammation-Related Tumor Progression in murine fibrosarcoma exhibited overexpression of sex-determining region y-box 2 (Sox2) compared to parental regressor cells. *Anticancer Res* 35(6): 3217-3221, 2015. 査読有
 19. Kitagawa T, Kuramitsu Y (10 番目, 11 人). Mutant screening for oncogenes of Ewing's sarcoma using yeast. *Appl Microbiol Biotechnol* 99(16): 6737-6744, 2015. doi: 10.1007/s00253-015-6621-2. 査読有
 20. Baron B, Kuramitsu Y (5 番目, 6 人). Resistance to gemcitabine in the pancreatic cancer cell line KLM1-R reversed by metformin action. *Anticancer Res* 235(4): 1941-1949, 2015. 査読有
 21. Wang Y, Kuramitsu Y (2 番目, 9 人). Cofilin-phosphatase slingshot-1L (SSH1L) is over-expressed in pancreatic cancer (PC) and contributes to tumor cell migration. *Cancer Lett* 360(2): 171-176, 2015. doi: 10.1016/j.canlet.2015.02.015. 査読有
 22. Baron B, Kuramitsu Y (3 番目, 4 人). Resistance to gemcitabine in the pancreatic cancer cell line KLM1-R abolished by metformin action. *Anticancer Res* 35(4): 1941-1949, 2015. 査読有
 23. Kanda T, Iizasa H (6 番目, 6 人). Clustered microRNAs of the Epstein-Barr virus cooperatively downregulate an epithelial cell-specific metastasis suppressor. *J Virol* 89(5): 2684-2697, 2015. doi:10.1128/JVI.03189-14. 査読有
 24. Wang Y, Kuramitsu Y (2 番目, 9 人). Gemcitabine induces poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) degradation through autophagy in pancreatic cancer. *PLoS One* 9(10): e109076, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0109076. 査読有
 25. Akada J, Kuramitsu Y (13 番目, 14 人). Proteomic characterization of Helicobacter pylori CagA antigen recognized by child serum antibodies and its epitope mapping by peptide array. *PLoS One* 9(8): e104611, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0104611. 査読有
 26. Nawata J, Kuramitsu Y (2 番目, 13 人). Active hexose-correlated compound down-regulates sex-determining region Y-box 2 of pancreatic cancer cells. *Anticancer Res* 4(9): 4807-4811, 2014. 査読有
 27. Kanda Y, Kuramitsu Y (3 番目, 17 人). Fascin regulates chronic inflammation-related human colon carcinogenesis by inhibiting cell anoikis. *Proteomics* 14(9):1031-1041, 2014. doi:10.1002/pmic.201300414. 査読有
 28. Nishikawa J, Iizasa H (3 番目), Kanehiro Y (4 番目, 13 人). Epstein-barr virus in gastric carcinoma. *Cancers* (Basel). m6 (4): 2259-2274, 2014. doi:10.3390/cancers6042259. 査読有
 29. Wang Y, Kuramitsu Y (2 番目, 8 人). Proteomic analysis indicates that overexpression and nuclear translocation of lactoylglutathione lyase (GLO1) is associated with tumor progression in murine fibrosarcoma. *Electrophoresis* 35(15): 2195-2202, 2014.

- doi: 10.1002/elps.201300497. 査読有
30. Sarvari J, Kuramitsu Y (3 番目, 7 人). Comparative Proteomics of Sera From HCC Patients With Different Origins. *Hepat Mon* 14(1): e13103, 2014. doi:10.5812/hepatmon.13103. 査読有
 31. Sai Y, Iizasa H (4 番目, 6 人). Basic fibroblast growth factor is essential to maintain endothelial progenitor cell phenotype in TR-BME2 cells. *Biol Pharm Bull* 37(4): 688-693, 2014. 査読有
 32. Suenaga S, Kuramitsu Y (2 番目, 7 人). Active hexose-correlated compound down-regulates HSP27 of pancreatic cancer cells, and helps the cytotoxic effect of gemcitabine. *Anticancer Res* 34(1):141-146, 2014. 査読有
- [学会発表] (計 30 件)
1. 金廣優一、飯笹久 (4 番目, 5 人). EBV 感染は胃上皮細胞のミトコンドリア DNA に APOBEC3 依存的な変異を導入する. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. 札幌コンベンションセンター (北海道), 2016/10/25
 2. 南保明日香、飯笹久 (3 番目, 6 人). Epstein-Barr ウイルス由来エキソソームの機能解析. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. 札幌コンベンションセンター (北海道) 2016/10/25
 3. Hyoji Kim、飯笹久、金廣優一 (3 番目, 5 人). EB ウイルスがコードする BART microRNA プロモーターの制御機構. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. 札幌コンベンションセンター (北海道) 2016/10/25
 4. 飯笹久、金廣優一 (2 番目, 5 人). EBV 感染は胃上皮細胞において APOBEC3 依存的なミトコンドリア DNA 変異を誘導する. 第 75 回日本癌学会学術集会. パシフィコ横浜 (横浜) 2016/10/7.
 5. Kanehiro Y, Iizasa H (4 番目, 5 人). EBV infection induces APOBEC3-dependent mitochondrial DNA mutation in epithelial cells. 17th International Symposium on EBV. University of Zürich (University Tower), Zürich, Switzerland, 2016/8/10
 6. Timmy Richardo、金廣優一、飯笹久 (4 番目, 5 人). EBV の胃上皮細胞への感染は、APOBEC3 の発現誘導を介して、ミトコンドリア DNA に変異を導入する. 第 31 回中国四国ウイルス研究会. 鳥取大学農学部大講義室 (鳥取) 2016/7/10
 7. Hyoji Kim、飯笹久、金廣優一 (3 番目, 5 人). EB ウイルス由来 BART microRNA プロモーター制御機構の解析. 第 31 回中国四国ウイルス研究会. 鳥取大学農学部大講義室 (鳥取) 2016/7/10
 8. 飯笹久、金廣優一 (4 番目, 5 人). Epstein-Barr ウイルス由来 BART microRNA 転写制御領域の解析. 第 13 回 EB ウイルス研究会. 東京医科歯科大学 (東京) 2016/7/9
 9. Iizasa H (1 番目, 3 人). Epstein-Barr virus-encoded microRNA miR-BART6 regulates viral latency and induces epithelial-mesenchymal transition. “Nasopharyngeal carcinoma” Gordon Research Conference. The Hong Kong University of Science and Technology, Hong Kong, 2016/6/28
 10. 金廣優一、飯笹久 (4 番目, 5 人). EBV の胃上皮細胞への感染は、APOBEC3 の発現誘導を介して、ミトコンドリア DNA に変異を導入する. 第 30 回ヘルペスウイルス研究会 (座長). セミナーハウスクロス・ウェーブ府中 (東京) 2016/6/18
 11. Hyoji Kim、飯笹久、金廣優一 (3 番目, 5 人). Evaluation of genomic instability of cells infected with Epstein-Barr virus. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会. 福岡国際会議場 (福岡) 2015/11/24
 12. 飯笹久 (1 番目, 8 人). RNA 編集酵素 ADAR2 は、ヒト悪性中皮腫において oncomiR のプロセッシングと悪性を制御する. 第 74 回日本癌学会学術集会. 名古屋国際会議場 (名古屋) 2015/10/8
 13. 項慧慧、飯笹久 (3 番目, 11 人). 低酸素環境下で増強するヒト悪性胸膜中皮腫細胞の運動・浸潤能における HIF1 および MUC1 の役割. 第 74 回日本癌学会学術集会. 名古屋国際会議場 (名古屋) 2015/10/8
 14. 飯笹久、金廣優一 (3 番目, 7 人). ピロリ菌は胃上皮細胞に感染した EB ウイルスの増殖を促す. 第 68 回日本細菌学会中国・四国支部総会. 岡山大学鹿田キャンパス (岡山) 2015/10/3
 15. 項慧慧、飯笹久 (3 番目, 11 人). 低酸素環境下で増強するヒト悪性胸膜中皮腫細胞の運動・浸潤能における HIF1 および MUC1 の役割. 第 95 回北海道医学大会腫瘍系分科会 (第 112 回北海道癌談話会例会) 北大医学部学友会館フラテ (札幌) 2015/9/12
 16. 項慧慧、飯笹久 (3 番目, 11 人). 低酸素刺激によって増強するヒト悪性胸膜中皮腫細胞の運動・浸潤能における HIF1 および MUC1 の役割. 第 24 回日本がん転移学会学術集会. シテイプラザ大阪 (大阪) 2015/7/23
 17. Timmy Richardo、飯笹久、金廣優一、吉山裕規. EBV 感染に伴う細胞ゲノム不安定性について. 第 12 回 EB ウイルス研究会. ビックバード出雲 (島根) 2015/7/20
 18. 飯笹久 (1 番目, 10 人). RNA 編集酵素 ADAR2 は、oncomiR プロセッシングを制御する. 第 17 回日本 RNA 学会年会. ホテルライフオード札幌 (札幌) 2015/7/16
 19. Iizasa H (1 番目, 14 人). A-to-I RNA editing enzyme ADAR2 regulates malignancy in human pleural mesothelioma. “RNA editing” Gordon Research Conference. Renaissance Tuscany II Ciocco Resort in Lucca, Barga, Italy 2015/3/9.
 20. 坂田健一郎、飯笹久 (12 番目, 12 人). RNA 編集酵素 ADAR2 の発現抑制は悪性中皮腫

- 細胞の増殖・運動・浸潤性を低下させる。平成 26 年度北海道歯学会秋季学術大会。北海道大学歯学部講堂（札幌）2014/11/28
21. 坂田健一郎、飯笹久(12 番目, 12 人)。RNA 編集酵素 ADAR2 は悪性胸膜中皮腫細胞の増殖・運動・浸潤性を制御する。第 73 回日本癌学会学術集会。パシフィコ横浜（横浜）2014/9/26
22. 中澤誠多朗、飯笹久 (2 番目, 8 人)。変異型 p53R248Q と R248W のヒト口腔がん細胞の悪性形質に及ぼす影響。第 73 回日本癌学会学術集会。パシフィコ横浜（横浜）2014/9/26
23. 飯笹久、藏満保宏 (5 番目, 11 人)。パラペックル構成因子 NonO は、SOX2 プロモーター制御を介してがん幹細胞様表現型を抑制する。第 73 回日本癌学会学術集会。パシフィコ横浜（横浜）2014/9/25
24. 坂田健一郎、飯笹久(12 番目, 12 人)。RNA 編集酵素 ADAR2 の発現抑制は悪性胸膜中皮腫細胞の悪性度を低下させる。第 94 回北海道医学大会腫瘍系分科会（第 110 回北海道癌談話会例会）北大医学部学友会館フラテ（札幌）2014/9/13
25. 飯笹久、藏満保宏 (4 番目, 10 人)。RNA-DNA 結合タンパク質 NonO は、SOX2 プロモーター制御を介して乳癌幹細胞様表現型をコントロールする。第 16 回日本 RNA 学会年会。ウインクアイチ（名古屋）2014/7/24
26. 坂田健一郎、飯笹久(12 番目, 12 人)。RNA 編集酵素 ADAR2 の発現抑制は悪性中皮腫細胞の増殖・運動・浸潤性を低下させる。第 16 回日本 RNA 学会年会。ウインクアイチ（名古屋）2014/7/24
27. Yoshiyama H, Iizasa H (2 番目, 6 人)。Epstein-Barr Virus genes, BNLF2a and BNLF2b, are latently expressed and contribute viral tumorigenicity. 16th International Symposium on EBV. Brisbane Convention and Exhibition Centre, Brisbane, Australia, 2014/7/17.
28. 中澤誠多朗、飯笹久 (2 番目, 8 人)、変異 p53 R248Q は口腔扁平上皮癌細胞の運動・浸潤能を増強させる。第 23 回日本がん転移学会学術集会。金沢市文化ホール&金沢ニューグランドホテル(金沢) 2014/7/10
29. 飯笹久、金廣優一(他 4 名)。遺伝子欠損による上皮細胞の感染性喪失を指標とした EB ウイルス感染機構の解明。第 11 回 EB ウイルス研究会。国立感染症研究所(東京) 2014/6/27
30. 坂田健一郎、飯笹久(12 番目, 12 人)。RNA 編集酵素 ADAR2 の発現抑制は悪性胸膜中皮腫細胞の悪性度を低下させる。文科省新学術研究領域・がん支援「化学療法基盤支援活動」第 3 回シンポジウム アカデミアからの抗がん剤創薬に向けて天然物の有効利用。万国津梁館オーシャンホール A（沖縄）2014/5/12

〔図書〕(計 4 件)

1. 飯笹久 (1 番目, 3 人)。EB ウイルス関連胃癌における最近の話題 (EB ウイルス関連胃癌)。診断と治療社, 東京, p32-35 (2016)。
2. 金廣優一、Timmy Richardo、飯笹久、吉山裕規。EB ウイルスの胃上皮細胞への感染と不死化 (EB ウイルス関連胃癌)。診断と治療社, 東京, p53-59 (2016)。
3. 飯笹久 (1 番目, 2 人)。組換え EB ウイルス作製法 (EB ウイルス改訂第 3 版)。診断と治療社, 東京, p188-191(2015)
4. Thirion M, Iizasa H (5 番目, 5 人)。.. “MicroRNAs and oncogenic human viruses.” MicroRNAs: Key Regulators of Oncogenesis. (Ed. Sadegh Babashah) Springer, p155-182 (2014).

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
<http://yoshiyama-lab.org>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

飯笹久 (IIZASA Hisashi)
島根大学・医学部・准教授
研究者番号：80306662

(2) 連携研究者

藏満保宏 (KURAMITU Yasuhiro)
山口大学・医学部・准教授
研究者番号：50281811

(3) 研究分担者

金廣優一 (KANEHIRO Yuichi)
島根大学・医学部・助教
研究者番号：60609197