

日中韓フォーサイト事業 平成 23 年度 実施報告書

1. 拠点機関

日本側拠点機関：	札幌医科大学
中国側拠点機関：	Sun Yat-Sen University (中山大学)
韓国側拠点機関：	Sookmyung Women's University (淑明女子大学校)

2. 研究交流課題名

(和文)：乳癌幹細胞の病理学的性質を規定する microRNA 機構の解明

(交流分野：癌エピジェネティクス)

(英文)：The microRNA mediated mechanisms underlying the pathological behavior of breast cancer initiating cells

(交流分野：cancer epigenetics)

研究交流課題に係るホームページ：

<http://web.sapmed.ac.jp/biochem2/A3%20foresight/index.html>

3. 開始年度

平成 21 年度 (3 年目)

4. 実施体制

日本側実施組織

拠点機関：札幌医科大学

実施組織代表者 (所属部局・職・氏名)：理事長・島本和明

研究代表者 (所属部局・職・氏名)：医学部・助教・鈴木 拓

事務組織：札幌医科大学附属産学・地域連携センター

相手国側実施組織 (拠点機関名・協力機関名は、和英併記願います。)

(1) 中国側実施組織：

拠点機関：(英文) Sun Yat-sen University

(和文) 中山大学

研究代表者 (所属部局・職・氏名)：(英文) Dept of Breast Surgery, No. 2 Affiliated Hospital・Professor, Vice president of the hospital・ERWEI SONG

協力機関：(英文) Shanghai Jiaotong University

(和文) 上海交通大学

(2) 韓国側実施組織：

拠点機関：(英文) Sookmyung Women's University

(和文) 淑明女子大学校

研究代表者(所属部局・職・氏名):(英文) Department of Biological Science・Professor・
JONG HOON PARK

協力機関:(英文) National Cancer Center

(和文) 国立がんセンター

5. 全期間を通じた研究交流目標

癌エピジェネティクス研究は、ポストゲノム時代における最も重要な研究課題のひとつである。癌は遺伝子の疾患であり、遺伝子変異は発癌を引き起こす主要なメカニズムのひとつとされている。近年ではこれに加え、DNA やヒストンのメチル化修飾により遺伝子の転写が抑制されるエピジェネティクス現象が注目されている。代表的なエピジェネティクスの例として、ゲノム上で遺伝子をコードする領域の DNA がメチル化すると、遺伝子の働きが抑制されることが知られている。癌細胞では、癌抑制遺伝子が過剰なメチル化により機能を失う、あるいは癌遺伝子がメチル化低下により活性化するという現象が頻繁に起きている。

また近年では、蛋白を作らない RNA 分子 (non-coding RNA) の一種である microRNA が、遺伝子制御に重要な役割を担っていることが急速に明らかにされつつある。これまで数百種類の microRNA が発見されており、特に発生・分化や細胞増殖の調節に関わっていると考えられている。癌では正常細胞と比べ、多くの microRNA 発現が変化しており、癌遺伝子あるいは癌抑制遺伝子として機能する microRNA が多数存在すると考えられている。

さらに、癌の増殖は一部の癌幹細胞と呼ばれる細胞が担っていると考えられている。癌幹細胞の正体については未だ不明な点が多く、他の多くの癌細胞と癌幹細胞を見分けるマーカーを発見するための努力が多くの研究者によりなされている。また、癌幹細胞の性質を規定する遺伝子を明らかにする事も重要である。これらの研究により、癌幹細胞を標的とした治療法の開発が促進されると期待されている。

今回我々は、3カ国においてそれぞれの持ちうる研究技術を共有し、共同研究および交流の場を設けることで、microRNA とエピジェネティクス、癌幹細胞という近年注目される分野を結びつけた研究を行うことで、乳癌幹細胞の病態における役割を明らかにし、世界をリードする研究成果を挙げることを目標とした。まず札幌医大では、癌のエピジェネティクス研究において多くの実績を残してきた。これまで、胃癌、大腸癌、肝臓癌、膵臓癌、乳癌、血液腫瘍など様々な癌においてメチル化異常を来す遺伝子を数多く同定し、論文発表を行っている。また、中国の Sun Yat-Sen University の Dr. Song の

研究室では、これまで乳癌幹細胞研究において特定の microRNA が重要な役割を果たすことを世界に先駆けて発表するなど顕著な業績を上げている。さらに韓国 Sookmyung Women's University の Dr. Park は癌の遺伝子プロファイルおよびマーカー研究において著明な成果を挙げている。本プロジェクトでは、これらの機関と共同研究を行うことで、乳癌幹細胞の性質を規定する microRNA を明らかにし、癌幹細胞を標的とした新たな治療法の開発につなげる成果をあげることを目標とする。

また近年では、マイクロアレイや次世代シーケンサーといった新技術による網羅的解析が進歩し、大量の研究データをいかに扱い、新たな知見をその中から探り出していくかという能力が要求される。本研究ではこれら最先端のテクノロジーを積極的に利用することで、網羅的解析時代に対応できる若手研究者の育成を目指す。

また本プロジェクトは、まず乳癌の幹細胞研究を目的としているが、本研究で構築される拠点およびネットワークそして人的つながりは、様々な癌研究においても重要と考えられる。特に、胃癌や大腸癌の幹細胞については未だ不明な点が多く、今回構築される共同研究体制を維持し、有効活用させていきたいと考えている。特に、中国における幹細胞研究技術、札幌医科大学のマイクロアレイ、次世代シーケンサー、エピジェネティクス研究技術を用いることで、今後の癌エピゲノムプロジェクトの推進が可能になると考えられる。さらにエピゲノムプロジェクトについて、アジアは大きく欧米の後塵を拝しているため、今回の事業で構築される拠点体制は重要であると考えられる。

6. 平成23年度研究交流目標

研究協力体制の構築

中国 Sun Yat-Sen 大学の Dr. Song 研究室では近年、乳癌幹細胞の性質をもつ細胞 (Tumor-initiating cell : 癌源細胞) の単離に成功し、乳癌源細胞の性質を規定する microRNA 候補を多数同定している。さらに同定した miRNA の機能および治療薬としての有用性の検証が進行している。これらの miRNA リストおよび機能解析データを日本および韓国に提供する。韓国 Sookmyung Women's University の Dr. Park 研究室は、昨年同定した新規乳癌関連遺伝子の機能解析を担当し、その結果を中国・日本へ提供する。韓国 National Cancer Center の Dr. Lee 研究室では MassARRAY を用いたハイスループット DNA メチル化解析が可能であることから、大規模な臨床検体の遺伝子解析を担当する。札幌医科大学は癌エピジェネティクス解析の経験を豊富に持ち、パイロシーケンサーおよび次世代シーケンサー SOLiD4 を設置している。そこでパイロシーケンスによるハイスループットな DNA メチル化解析および SOLiD4 を用いた網羅的な DNA メチル化・ヒストン修飾解析を担当する。

学術的観点

本研究では、microRNA およびエピゲノム解析を通して癌幹細胞の性質を規定する仕組みを明らかにすることを目的としている。中山大學 Dr. Song の研究室では、乳癌幹細胞の性質をもつ細胞（Tumor-initiating cell：癌源細胞）の単離に成功し、乳癌源細胞の性質を規定すると考えられる microRNA 候補を多数明らかにしている。本年度はそれらの microRNA の機能解析を進めることで発癌メカニズムの解明を目指すとともに、臨床応用可能な microRNA が同定できると期待される。韓国 Sookmyung Women's University の Dr. Park 研究室では新規乳癌関連遺伝子を同定し、さらにその遺伝子の調節にエピジェネティクスが関与することを明らかにした。この研究を推進することにより、乳癌発癌メカニズムとエピジェネティクスの関係が一層明らかにされることが期待される。札幌医科大学では、癌細胞における microRNA の発現を調節する上で、エピジェネティックな機構がどのように関わっているのかを明らかにする研究を進めている。これら3カ国の研究成果を組み合わせることで、癌幹細胞の本質を明らかにすることが出来るのみならず、新たながん治療戦略の基礎となる知見を得ることが期待される。

若手研究者養成

中国および韓国の若手研究者 1~2 名をそれぞれ札幌医大に短期間受け入れ、共同研究を行う。これにより日本側研究拠点の持つ技術および設備による共同研究を強力に推進する事ができる。さらに日本側若手研究者が中韓の研究者とコミュニケーションしながら共同研究を行う機会を得ることができる。また韓国、中国で行われるセミナーおよび共同研究会議に日本側若手研究者を 5~10 名派遣し、国際セミナーや会議での発表の機会を設ける。

7. 平成23年度研究交流成果

7-1 研究協力体制の構築状況

本研究で構築された研究教育拠点ネットワークは以下の通りである。中国 Sun Yat-Sen University の Dr. Song 研究室は癌幹細胞単離および培養技術、さらに癌生物学的研究の技術に優れており、乳癌研究の拠点となっている。韓国 Sookmyung Women's University の Dr. Park 研究室は遺伝子機能の生化学的な解析の拠点となっている。さらに韓国 National Cancer Center が協力機関として、メチル化解析プラットフォームおよび癌臨床検体を提供する。札幌医大はエピゲノム解析の拠点として DNA およびヒストンメチル化解析基盤を提供している。乳癌エピゲノム解析の共同研究は現在も進行中であり、今後もこのネットワークを生かして研究および若手研究者育成を継続する。

7-2 学術面の成果

乳癌の癌幹細胞性質を規定する microRNA を同定するため、microRNA 発現プロファイルおよ

び乳癌細胞のエピゲノムを網羅的に解析することが必須である。この目的を達成するため、札幌医大の次世代シーケンサーを用いて、中国 San Yat-Sen University の Dr. Song 研究室が提供した正常乳腺細胞および乳癌細胞のゲノム DNA メチル化プロファイルを解析した。これにより乳癌細胞エピゲノムの把握が可能となり、microRNA 遺伝子のエピジェネティックな制御の解明が加速される。実験は平成 22 年及び 23 年の 2 年にわたって実施され、合計細胞株 4 検体、臨床検体 20 検体からシーケンスデータを得ることができた。韓国 Sookmyung Women's University の Dr. Park 研究室では新規乳癌関連遺伝子を同定した。この遺伝子は乳癌発癌において重要な役割を担っていると考えられ、新たな乳癌診断および治療標的としての応用が期待されている。札幌医大におけるメチル化解析実験によって、この遺伝子が DNA メチル化により制御されている事が明らかとなった。札幌医大では癌細胞のヒストン修飾を網羅的に解析し、癌においてエピジェネティックに不活化される microRNA 遺伝子を多数同定した。

7-3 若手研究者養成

日中韓の間で相互に大学院生および若手研究者を派遣し、共同実験を行った。とくに札幌医大では平成 22 年および 23 年に中国および韓国それぞれより若手研究者を受け入れ、日本側の若手研究者とともに共同実験およびセミナーでの討論を行った。またセミナーや研究会議において、大学院生や若手研究者にも研究発表を担当させることで、英語でのプレゼンテーション発表習得の機会を得ることが出来た。また日中韓の PI が、お互いの研究機関を訪問して大学院講義や教育講演を行うことで、若手研究者の教育に貢献した。

7-4 社会貢献

本研究で得られた microRNA 解析データおよび乳癌検体のエピゲノムデータは、新規の癌関連遺伝子や診断マーカー探索のために貴重な基盤データとなる。また本研究で構築された研究者ネットワークは乳癌以外の癌研究においても有用である。本事業によって日中韓の研究者間のネットワークが広がることで、新たな共同研究がスタートする契機となっている。例として愛知県がんセンター近藤博士と Shanghai Jiatong University の Dr. Zhu との間で肝癌のメチル化異常に関する共同研究が開始された。さらに札幌医大と韓国 National Cancer Center の Dr. Lee 研究室の間で胃癌のメチル化に関する共同研究が計画中である。

7-5 今後の課題・問題点

これまでの日中韓の共同研究を通して我々は、乳癌におけるエピゲノムおよび microRNA の解析を行ってきた。その結果、(1)乳癌におけるゲノムワイドな DNA メチル化 (メチローム) データの取得、(2) 新規乳癌関連遺伝子を同定、(3) 癌関連 microRNA を複数同定、などの成果を得た。今後の研究交流課題として、(1)これまでの成果をまとめ上げて論文発表する、(2) これまでの成果を応用し診断および治療標的として応用しうる知見につながる

知見を得ることを目指す。これらの目標を達成するために共同研究を継続し、定期的にセミナーを開催することで日中韓の研究拠点間の連携を強化し、さらに将来の共同研究へとつなげることを目指す。

7-6 本研究交流事業により発表された論文

平成23年度論文総数	3本
相手国参加研究者との共著	0本

8. 平成23年度研究交流実績概要

8-1 共同研究

日中韓の間で相互に研究者派遣を行い、共同研究を実施した。平成23年9月に中国 Sun Yat-Sen University より大学院生が札幌医大へ派遣され、次世代シーケンサーを用いた乳癌エピゲノムの解析実験を行った。これにより乳癌におけるメチル化異常を網羅的に把握し、microRNA 遺伝子のエピジェネティックな制御を明らかにするために基盤的データが得られた。この実験は、平成22年からの実験の延長であり、さらなるデータの蓄積を目的として行われた。シーケンス実験は同年12月に完了し、データの解析が進行中である。

平成23年9月、日本側研究代表者が、韓国で開催された Korean Genome Organization (KOGO)の年会において、Sookmyung Women's University の Dr. Park が主催したセッションで講演を行った。また同年12月には日本側研究代表者が、中国 Sun Yat-Sen にて教育講演を行った。さらに平成24年2月韓国において、3カ国の研究代表者および若手研究者による全体会議を行い、進捗状況の報告および討論を行った。

平成24年2月には、韓国において A3 フォーサイト共同研究会議を開催した。この会議では日中韓の全研究代表者および主要な研究者が出席し、共同研究の進捗状況についての発表・討議を行った。また日中韓それぞれのグループから大学院生および若手研究者が参加し、国際会議での演題発表および質疑応答を経験した。

8-2 セミナー

平成23年7月日本においてセミナーを開催した。日中韓の A3 フォーサイト研究者 20~30 名が参加し、研究発表および討論が行われた。セミナーには日中韓の A3 代表研究者全員が参加して研究の進捗状況を報告するとともに、大学院生など若手研究者にも演題発表の

機会を持たせることで、研究者間の交流を深めることを目指した。演題は癌エピジェネテイクスを中心に、microRNA、癌幹細胞、免疫、ゲノム解析など幅広い研究内容が発表され、セミナー参加者にとって有益な情報が提供された。若手研究者にとっては、英語でのプレゼンテーションを経験し、中韓の研究者と討論する貴重な機会となった。セミナーでは毎回活発な討論が行われ、研究推進に向けた新たなアイデアを得ることができた。

8-3 研究者交流（共同研究、セミナー以外の交流）

該当なし

9. 平成23年度研究交流実績人数・人日数

9-1 相手国との交流実績

派遣先		日本	中国	韓国	合計
派遣元		<人/人日>	<人/人日>	<人/人日>	
日本 <人/人日>	実施計画		5/20	10/40	15/60
	実績		1/3	7/27	8/30
中国 <人/人日>	実施計画	3/11		(5/20)	3/11(5/20)
	実績	4/14		(4/16)	4/14(4/16)
韓国 <人/人日>	実施計画	12/36	(5/20)		12/36
	実績	11/33	0/0		11/33
合計 <人/人日>	実施計画	15/47	5/20	10/40 (5/20)	30/107 (5/20)
	実績	15/47	1/3	7/27 (4/16)	23/77 (4/16)

※各国別に、研究者交流・共同研究・セミナーにて交流した人数・人日数を記載してください。(なお、記入の仕方の詳細については「記入上の注意」を参考にしてください。)

※日本側予算によらない交流についても、カッコ書きで記入してください。(合計欄は()をのぞいた人・日数としてください。)

9-2 国内での交流実績

実施計画	実績
37 / 89 <人/人日>	36 / 105 <人/人日>

10. 平成23年度研究交流実績状況

10-1 共同研究

—研究課題ごとに作成してください。—

整理番号	R-1	研究開始年度	平成21年度	研究終了年度	平成24年度
研究課題名	(和文) 乳癌幹細胞の病理学的性質を規定する microRNA 機構の解明 (英文) The microRNA mediated mechanisms underlying the pathological behavior of breast cancer initiating cells				
日本側代表者 氏名・所属・職	(和文) 鈴木 拓・札幌医科大学・助教 (英文) Hiromu Suzuki・Sapporo Medical University・Assistant professor				
相手国側代表者 氏名・所属・職	Erwei Song・Sun Yat-sen University・Professor Jong Hoon Park・Sookmyung Women's University・Professor				
交流人数 (※日本側予算によらない交流についても、カッコ書きで記入のこと。)	① 相手国との交流				
	派遣先	日本	中国	韓国	計
	派遣元	<人/人日>	<人/人日>	<人/人日>	<人/人日>
	日本 <人/人日>	実施計画	5/20	10/40	15/60
		実績	1/3	7/27	8/30
	中国 <人/人日>	実施計画	1/5	(5/20)	1/5 (5/20)
		実績	1/5	(4/16)	1/5 (4/16)
	韓国 <人/人日>	実施計画	2/6	(5/20)	2/6 (5/20)
		実績	0/0	0/0	0/0
	合計 <人/人日>	実施計画	3/11	5/20 (5/20)	10/40 (10/40)
		実績	1/5	1/3 (4/16)	7/27 (4/16)
	② 国内での交流 29人/87人日				
23年度の研究 交流活動	Dr. Song 研究室より提供された乳癌検体におけるエピゲノム解析をさらに推進した。Dr. Park 研究室にて同定された新規乳癌関連遺伝子のエピジェネティクス解析を推進した。札幌医大にて同定された遺伝子のメチル化を Dr. Song 研究室の乳癌検体を用いて解析した。これらを実施するため、大学院生など若手研究者の相互派遣、および日中韓の国際ミーティングを行った。				
研究交流活動 成果	幹細胞性質を規定する microRNA および遺伝子を同定し、網羅的なエピゲノム解析データと統合することで、発癌メカニズムを明らかにすると共に、				

	診断・治療に応用しうる知見を得た。	
日本側参加者数		
	26 名	(13-1 日本側参加者リストを参照)
中国側参加者数		
	13 名	(13-2 中国側参加研究者リストを参照)
韓国側参加者数		
	25 名	(13-3 韓国側参加研究者リストを参照)

10-2 セミナー

—実施したセミナーごとに作成してください。—

整理番号	S-1
セミナー名	(和文) JSPS 札幌 A3 フォーサイト癌エピジェネティクスセミナー2011
	(英文) JSPS A3 foresight cancer epigenetics seminar 2011
開催時期	平成23年 7月 9日 ~ 平成23年 7月10日 (2日間)
開催地(国名、都市名、会場名)	(和文) 日本・札幌市・ホテルニューオータニ
	(英文) Japan, Sapporo, Hotel New Otani
日本側開催責任者 氏名・所属・職	(和文) 鈴木 拓・札幌医科大学・助教
	(英文) Hiromu Suzuki・Sapporo Medical University・Assistant Professor
相手国側開催責任者 氏名・所属・職 (※日本以外で開催の場合)	

参加者数

派遣先 派遣元	セミナー開催国 (日本)	
	A.	
日本 〈人/人日〉	A.	7/18
	B.	0/0
	C.	0/0
中国 〈人/人日〉	A.	3/9
	B.	0/0
	C.	0/0
韓国 〈人/人日〉	A.	11/33
	B.	0/0
	C.	0/0
合計 〈人/人日〉	A.	21/60
	B.	0/0
	C.	0/0

A. セミナー経費から負担

B. 共同研究・研究者交流から負担

C.本事業経費から負担しない（参加研究者リストに記載されていない研究者は集計しないでください。）

セミナー開催の目的	今回のセミナーでは共同研究をより発展させるために、癌エピジェネティクスおよび miRNA に関する最新の研究成果を発表するとともに今後の研究方針に関する意見・情報交換を行う。セミナーには日中韓の A 3 代表研究者全員が参加して研究の進捗状況を報告するとともに、大学院生など若手研究者にも演題発表の機会を持たせることで、研究者交流を深めることを目的とする。また A 3 参加メンバー以外にも関連分野の研究者を招き、講演および討議に参加して頂くことを目指す。		
セミナーの成果	各研究グループの研究結果を報告することで共同研究全体の進捗状況を把握することができた。また大学院生など若手研究者にも演題発表させることで、国際セミナーでの発表経験を積み、日中韓の研究者交流を深めることができた。また A 3 フォーサイト参加者以外に、札幌医大の関連分野の研究者 2 名に最新の研究データをプレゼンテーションして頂いた。これにより活発な討論が行われ、今後の研究推進に向けた新たなアイデアを得ることができた。		
セミナーの運営組織	セミナー事務局：鈴木 拓（札幌医科大学）		
開催経費 分担内容 と金額	日本側	内容	金額
		会議費	1,065,947 円
		国内旅費	802,740 円
		合計	1,868,687 円
	中国側	内容	金額
		外国旅費	400,000 円
	韓国側	内容	金額
		外国旅費	1,000,000 円

10-3 研究者交流（共同研究、セミナー以外の交流）

計画通り研究者交流は実施せず。

11. 平成23年度経費使用総額

	経費内訳	金額	備考
研究交流経費	国内旅費	3,075,220 円	国内旅費、外国旅費の合計は、研究交流経費の50%以上であること。
	外国旅費	558,300 円	
	謝金	0 円	
	備品・消耗品購入費	2,178,118 円	
	その他経費	1,160,447 円	
	外国旅費・謝金等に係る消費税	27,915 円	
	計	7,000,000 円	研究交流経費配分額以内であること
委託手数料		700,000 円	研究交流経費の10%を上限とし、必要な額であること。また、消費税額は内額とする。
合計		7,700,000 円	

12. 四半期毎の経費使用額及び交流実績

	経費使用額（円）	交流人数<人/人日>
第1四半期	963,800 円	12/33
第2四半期	2,614,614 円	25/73
第3四半期	1,953,209 円	14/48
第4四半期	1,468,377 円	8/28
計	7,000,000 円	59/182