

## 日中韓フォーサイト事業 平成24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. 採用期間

平成21年 8月1日～平成26年 7月31日

(4年度目)

### 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・教授・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) Breast Tumor Center, Sun Yat-Sen Memorial 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24年度研究交流目標

### 研究協力体制の構築

これまで構築した研究協力体制を維持し、発展させることを目指す。中国 Sun Yat-Sen University 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 microRNA 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 microRNA 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、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。さらに韓国 NCI は MassARRAY によるメチル化解析プラットフォームを提供する。

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。

さらに日中韓での研究協力体制維持のため、年 2~3 回の全体会議を開催する。なおセミナーでは日中韓の PI が集合するため、その際に会議を併せて行うことで効率化を図る。

#### 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。中国 Sun Yat-Sen University の Dr. Song の研究室では、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、それらの microRNA の機能解析を進めている。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ている。札幌医科大学では、癌細胞のエピゲノム解析を通して、microRNA の発現調節におけるエピジェネティックな機構を明らかにしつつある。本年度は、これまでの共同研究成果のひとつである新規乳癌関連遺伝子の解析を完了し、論文発表することを目指す。さらに本年度は中国からバイオインフォマティクスを専門とする研究者が新たに研究協力者として加わり、これまで行ったシーケンズデータの解析を促進することを目指す。

#### 若手研究者養成

今年度は韓国の若手研究者 2 名を札幌医大に受け入れて共同研究を行い、新規乳癌関連遺伝子についての研究実験を行う。また、日本から中国へ研究者 3 名を派遣し、共同研究を行う。これらにより、日本側若手研究者が中国・韓国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。検体提供側から解析側へサンプルを輸送することで共同研究を行うことは可能であるが、若手研究者自身が互いの研究室を訪れることで、研究方針および実験結果についてのディスカッションを行うことができるというメリットがある。さらに今年度は日本および中国においてセミナーを開催し、若手研究者の発表および討論の機会を確保することを目指す。

## 7. 平成 24 年度研究交流成果

### 7-1 研究協力体制の構築状況

韓国 Sookmyung Women's University の Dr. Park 研究室で同定した新規乳癌関連遺伝子の解析、および韓国国立がんセンター Dr. Lee 研究室で同定した新規癌関連遺伝子の解析のため、平成 24 年 4 月にそれぞれの研究室より各 1 名の若手研究者を札幌医大に受け入れ、共同研究を行った。また平成 24 年 4 月には、上海交通大学の Dr. Zhu の研究室へ日本人研究者 3 名を派遣し、共同研究および発表を行った。

平成 24 年度は、日本および中国においてセミナーを開催した。まず 9 月に札幌において「札幌癌エピジェネティクスセミナー2012」を開催し、日中韓から合計 40 名の参加者が得られた。また 11 月に中国広州において「広州癌エピジェネティクスセミナー2012」を開催した。このセミナーには、日中韓フォーサイト研究者が 32 名出席し、さらにフォーサイト事業参加研究者以外に中国人研究者 30 名が出席し、活発な討論が行われた。

さらに平成 25 年 3 月に、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。以上のように、複数回の共同研究・セミナー開催・会議を通して、研究協力体制を構築・維持した。

## 7-2 学術面の成果

平成 22 年度および 23 年度に、中国 Dr. Song 研究室の提供した乳癌検体を対象に、札幌医大のシークエンサーを用いて DNA メチル化の網羅的な解析を行った。平成 24 年度は得られたシークエンスデータを、Chinese Academy of Sciences-Max Planck Partner Institute for Computational Biology の Dr. Han 研究室に送り、バイオインフォマティクス解析を行った。これにより乳癌におけるメチル化候補遺伝子のリストが作成された。

韓国 Dr. Park 研究室で同定した新規乳癌関連遺伝子の乳癌臨床例における発現解析およびメチル化解析を札幌医大で行った。この遺伝子の詳細な機能は不明な点が多いが、膀胱癌など他の癌との関連が報告されており、有力な癌診断・治療標的になりうると考えられる。この遺伝子に関する論文は、現在投稿中である。

また、韓国国立がんセンターの Dr. Lee のグループが同定したがん関連遺伝子の発現解析を札幌医大で行った。機能解析の結果、この遺伝子は癌細胞の増殖および浸潤能に関与することが明らかとなった。今回の解析結果に関する論文は、現在投稿中である。

札幌医科大学では、癌エピジェネティック異常と microRNA に関する研究を進めていたが、平成 24 年度にはその成果を論文発表した。まず、miR-196a および長鎖 noncoding RNA である HOTAIR が、癌において同時に高発現し、悪性度や予後不良因子となることを報告した(Cancer Res, 2012)。また、microRNA 遺伝子の一つである miR-34b/c 遺伝子のメチル化と CpG アイランドメチル化形質との関係を解析した(Am J Pathol, 2012)。また、癌においてエピジェネティックに不活化される microRNA 遺伝子について、これまでの知見をまとめた総説を発表した(Mol Oncol, 2012)。

## 7-3 若手研究者養成

本研究には札幌医科大学の大学院生 6 名および若手の助教 5 名が参加している。さらに国内の協力研究者として、聖マリアンナ医科大学および愛知県がんセンターから大学院生・助教が参加している。札幌および中国広州でのセミナーや、韓国での会議の際に、札

幌医大の若手研究者および国内の若手協力研究者を多数参加させ、英語によるプレゼンテーションおよびディスカッションの機会を設けた。

平成 24 年 4 月に、韓国 Sookmyung Women's 大学および韓国がんセンターから若手研究者が札幌医大に派遣された際、札幌医大の若手研究者が DNA メチル化解析についての研究指導を行った。また、研究室ミーティングにおいて日韓双方の若手研究者がデータ発表およびディスカッションを行い、プレゼンテーションのトレーニングを行った。平成 24 年 11 月の広州セミナーでは、日本から 3 名の教授・部長クラスの研究者が教育講演を行うことで、中国の大学院生・若手研究者の教育に貢献した。

#### 7-4 社会貢献

癌は日本人における死亡原因第一位の疾患であり、高齢化社会が進行する中で、的確な診断法、優れた治療法のさらなる開発が求められている。本研究では、microRNA とエピジェネティクスの解析を通して新たな癌診断・治療法につなげることで社会に貢献することを目指している。平成 24 年度には、癌関連 microRNA 遺伝子のメチル化によるがん診断法の開発に関する研究や、乳癌関連遺伝子の機能解析することで新たな乳癌治療法につながる研究を行った。

#### 7-5 今後の課題・問題点

癌細胞株や臨床検体などのバイオマテリアルを用いた共同研究を日中韓で行う場合、中国から日本・韓国へ、あるいは日本・韓国から中国へバイオマテリアルを郵送する事に制限が大きいのが難点である。また、近年のシーケンスデータはギガバイト単位のデータ量が発生するため、研究室間でのデータのやりとりに苦労がある。今回は、DVD-R 数枚に記録したものを郵送したが、今後、より大容量のディスクやハードディスクでのやりとりが必要になるかもしれない。日中韓の間で、より高速で安定した通信ネットワークが確立されれば、より抜本的な解決になると考えられるが、それには時間がかかると推測される。

#### 7-6 本研究交流事業により発表された論文

平成 24 年度論文総数	4 本
うち、相手国参加研究者との共著	0 本
うち、本事業が JSPS の出資によることが明記されているもの	4 本

## 8. 平成24年度研究交流実績状況

### 8-1 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 26 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・教授 (英文) Hiromu Suzuki・Sapporo Medical University・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>		3/12	5/15	8/27
	実施計画 実績		3/12	4/12	7/24
	中国 <人/人日>	0/0		(5/15)	(5/15)
	実施計画 実績	0/0		(5/20)	0/0(5/20)
	韓国 <人/人日>	2/10	(3/12)		2/10 (3/12)
	実施計画 実績	2/10	(0/0)		2/10(0/0)
	合計 <人/人日>	2/10	3/12 (3/12)	5/15 (5/15)	10/37 (8/27)
	実施計画 実績	2/10	3/12 (0/0)	4/12 (5/20)	9/34 (5/20)
	② 国内での交流 16人/41人日				
日本側参加者数	28名 (12-1 日本側参加者リストを参照)				
中国側参加者数	22名 (12-2 中国側参加者リストを参照)				
韓国側参加者数	34名 (12-3 韓国側参加者リストを参照)				

<p>24年度の研 究交流活動</p>	<p>これまでに行った実験で得られたエピゲノムデータのバイオインフォマティクス解析を継続した。また、韓国 Sookmyung Women's University の Dr. Park 研究室が同定した新規乳癌関連遺伝子に関する研究を推進した。このため日本から研究者3名を中国へ派遣した。さらに遺伝子のメチル化解析実験のために、韓国から日本へ研究者2名を受け入れた。</p> <p>日中韓での研究協力体制維持のため、年2~3回の共同研究全体会議を開催した。</p>
<p>24年度の研 究交流活動から得 られた成果</p>	<p>乳癌エピゲノムデータの基礎的なバイオインフォマティクス解析を完了し、癌関連遺伝子および microRNA 同定のための基盤データが得られた。また新規乳癌関連遺伝子に関する研究を完成させ、成果として論文発表を見込んでいる。日中韓の若手研究者を交流させることで、研究方針および実験結果についてのディスカッションを行うことができ、国際的な視点を持つ若手研究者の育成に貢献した。</p>



## 8-2 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) 日本学術振興会日中韓フォーサイト事業「札幌癌エピジェネティクスセミナー2012」 (英文) JSPS A3 Foresight Program “Sapporo Cancer Epigenetics Seminar 2012“
開催期間	平成24年9月1日 ~ 平成24年9月2日 (2日間)
開催地(国名、都市名、会場名)	(和文) 日本、札幌、ホテルライフオート (英文) Japan, Sapporo, Hotel Lifort
日本側開催責任者 氏名・所属・職	(和文) 鈴木 拓・札幌医科大学・教授 (英文) Hiromu Suzuki・Sapporo Medical・Professor
相手国側開催責任者 氏名・所属・職 (※日本以外での開催の場合)	(英文)

### 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.	19/40
	B.	0/0
	C.	0/0
中国 〈人/人日〉	A.	8/24
	B.	0/0
	C.	0/0
韓国 〈人/人日〉	A.	13/39
	B.	0/0
	C.	0/0
合計 〈人/人日〉	A.	40/103
	B.	0/0
	C.	0/0

A. セミナー経費から旅費を負担

B. 共同研究・研究者交流から旅費を負担

C. 本事業経費から旅費を負担しない (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、癌エピジェネティクスおよび microRNA 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。		
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。さらに今回は、中国側の新たな研究協力者として、バイオインフォマティクスの専門研究者が参加して発表および討論に加わることで、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	セミナー会長：鈴木 拓（札幌医科大学） 事務局：丸山玲緒（札幌医科大学） 中国側連絡先： Erwei Song (Sun-Yat Sen University) 韓国側連絡先： Jong Hoon Park (Sookmyung Women's University)		
開催経費 分担内容 と金額	日本側	内容	金額
		会議費	400,000 円
		国内旅費	900,000 円
		合計	1,300,000 円
	中国側	内容	金額
		外国旅費	800,000 円
	韓国側	内容	金額
		外国旅費	1000,000 円

整理番号	S-2
セミナー名	(和文) 日本学術振興会日中韓フォーサイト事業「広州癌エピジェネティクスセミナー2012」 (英文) JSPS A3 Foresight Program “Guangzhou Cancer Epigenetics Seminar 2012”
開催期間	平成24年11月10日 ~ 平成24年11月11日 (2日間)
開催地(国名、都市名、会場名)	(和文) 中国、広州、中山大学 (英文) China, Guangzhou, Sun-Yat Sen University
日本側開催責任者 氏名・所属・職	(和文) 鈴木 拓・札幌医科大学・教授 (英文) Hiromu Suzuki・Sapporo Medical University・Professor
相手国側開催責任者 氏名・所属・職 (※日本以外での開催の場合)	(英文) Erwei Song・Sun-Yat Sen University・Professor

#### 参加者数

派遣先 派遣元	セミナー開催国 ( 中国 )	
日本 〈人/人日〉	A.	7/28
	B.	0/0
	C.	0/0
中国 〈人/人日〉	A.	0/0
	B.	0/0
	C.	17/51
韓国 〈人/人日〉	A.	0/0
	B.	0/0
	C.	8/24
合計 〈人/人日〉	A.	7/28
	B.	0/0
	C.	25/75

A. セミナー経費から旅費を負担

B. 共同研究・研究者交流から旅費を負担

C. 本事業経費から旅費を負担しない (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	<p>今回は中国・広州でのセミナーであり、日中韓のA3フォーサイトメンバーによる研究発表およびディスカッションを行うとともに、A3参加研究者以外にも関連分野の中国の研究者を多く招き、講演および討議に参加していただくことを目的とした。</p>		
セミナーの成果	<p>各研究グループの研究発表および進捗状況の把握が期待される点は、これまでのセミナーと同様である。さらに今回は中国での開催ということで、A3参加研究者以外にも関連する分野の中国人研究者を多く招き、研究発表していただいた。発表内容は、がん幹細胞、新規がん関連遺伝子、microRNA、ナノ分子のがん治療への応用など多岐にわたり、非常に充実したセミナーとなった。今回のセミナーで癌エピジェネティクス、癌分子生物学、そしてそれらの臨床応用など最新の知見を幅広く得ることができ、今後の研究推進に向けた新たなアイデアや人脈形成につながることを期待される。</p>		
セミナーの運営組織	<p>セミナー会長：Erwei Song (Sun Yat-Sen University) 事務局：Jianing Chen (Sun Yat-Sen University) 日本側連絡先：鈴木 拓 (札幌医科大学)</p>		
開催経費 分担内容 と概算額	日本側	内容 外国旅費	金額 600,000 円
	中国側	内容 会議費	金額 800,000 円
		国内旅費	1,000,000 円
韓国側	内容 外国旅費	金額 700,000 円	
		合計	1,800,000 円

### 8-3 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。

## 9. 平成24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		8/27	5/15	13/42
	実績		10/40	4/12	14/52
中国 <人/人日>	実施計画	8/16		(5/15)	8/16(5/15)
	実績	8/24		(5/20)	8/24(5/20)
韓国 <人/人日>	実施計画	14/34	(11/36)		14/34(11/36)
	実績	15/49	(8/24)		15/49(8/24)
合計 <人/人日>	実施計画	22/50	8/27 (11/36)	5/15 (5/15)	35/92 (16/51)
	実績	23/73	10/40 (8/24)	4/12 (5/20)	37/125 (13/44)

※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
51 / 132 <人/人日>	35 / 81 <人/人日>

#### 10. 平成24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	2,169,420 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	1,144,600 円	
	謝金	0 円	
	備品・消耗品購入費	2,334,718 円	
	その他経費	494,032 円	
	外国旅費・謝金等に係る消費税	57,230 円	
	計	6,200,000 円	研究交流経費配分額以内であること
委託手数料		620,000 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		6,820,000 円	

#### 11. 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	1,663,638 円	13/41
第2四半期	2,207,097 円	44/114
第3四半期	1,003,945 円	11/39
第4四半期	1,325,320 円	4/12
計	6,200,000 円	72/206