

平成24年度 日中韓フォーサイト事業 終了時評価資料(進捗状況報告書)

1. 概要

研究交流課題名	乳癌幹細胞の病理学的性質を規定する microRNA 機構の解明		
日本側拠点機関名	札幌医科大学		
研究代表者 所属・職・氏名	札幌医科大学・助教・鈴木 拓		
相手国（地域）側	国名	拠点機関名	研究代表者 所属・職・氏名
	中国	中山大學	中山大學・教授・Erwei Song
	韓国	淑明女子大学校	淑明女子大学校・教授・Jong Hoon Park

2. 研究交流目標

申請時に計画した目標とその達成度について記入してください。

○申請時の研究交流目標

癌研究は、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。癌の増殖は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がその正体については不明な点が多い。癌幹細胞の性質を規定するものとして、エピジェネティックなゲノム修飾および microRNA が重要な役割を担っていると推測されている。中国 Sun Yat-Sen University (中山大學) の Dr. Erwei Song の研究室は、microRNA の機能を通して乳癌幹細胞の病態解明において世界をリードする研究成果を挙げている。韓国 Sookmyung Women's University (淑明女子大学校) では癌の遺伝子プロファイルおよび生化学的研究において成果を挙げている。また申請者は、癌における microRNA 遺伝子のエピジェネティクス異常を明らかにし、成果を報告している。今回我々は、それぞれの研究室が持つ技術および研究試料を共有し共同研究および交流の場を設けることで、日中韓の癌エピゲノム研究ネットワークを構築し、乳癌幹細胞の性質を規定する microRNA およびエピゲノム異常を明らかにすることを目標とした。

○目標に対する達成度

- 研究交流目標は十分に達成された。
 研究交流目標は概ね達成された。
 研究交流目標はある程度達成された。
 研究交流目標はほとんど達成されなかった。

【理由】

毎年のセミナー開催と研究者会議を通して、共同研究および研究者間の交流を推進することができた。また日中韓の間で相互に研究者派遣を行い、共同でエピゲノム解析実験を行った。特に若手研究者や大学院生の相互派遣を行うことで、若手研究者の育成に貢献した。学術的な成果としては、中国 Sun Yat-Sen 大学より提供された研究試料を札幌医大の研究施設でエピゲノム解析を行った。さらに韓国 Sookmyung Women's University で同定した新規乳癌関連遺伝子のメチル化解析を札幌医大において行った。これらの研究成果は今後 1 年程度で論文発表できる見込みであり、研究交流目標は概ね達成された。

3. 研究交流活動の成果

これまでの交流活動を通じての成果を「学術的側面」「若手研究者の育成」及び「日中韓における継続的な研究教育拠点の構築」の観点から記入してください。また、活動成果から発生した波及効果がある場合には記入してください。

○学術的側面

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。

○若手研究者の育成

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。

○日中韓における継続的な研究教育拠点の構築

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。

○成果の波及効果

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。

4. 研究交流活動の実施状況

(1)これまでの交流活動について、「共同研究」、「セミナー」及び「研究者交流」ごとに、交流人数・交流相手国・概略を記入してください。

○共同研究

日-中 延べ派遣人数人日数： 9人 35人日 延べ受入人数人日数： 2人 23人日

日-韓 延べ派遣人数人日数： 14人 50人日 延べ受入人数人日数： 2人 6人日

【概要】

日中韓の間に相互に研究者派遣を行い、共同研究を実施した。平成 22 年および平成 23 年に中国 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。平成 22 年 7 月には韓国 Sookmyung Women's University の大学院生が札幌医大へ派遣され、乳癌における遺伝子メチル化解析実験を行った。平成 22 年 2 月および同年 12 月に、日本側研究代表者および若手研究者が韓国 Sookmyung Women's University に派遣され教育講演を行った。また平成 23 年 12 月には日本側研究代表者が中国 Sun Yat-Sen 大学にて教育講演を行った。さらに平成 21 年 11 月中国、平成 22 年 10 月中国、平成 23 年 2 月韓国、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。

○セミナー

日本 延べ開催回数： 2回、延べ参加人数人日数 日本側： 35人 81人日、中韓側： 21人 64人日

中国 延べ開催回数： 0回、延べ参加人数人日数 日本側： 0人 0人日、中韓側： 0人 0人日

韓国 延べ開催回数： 1回、延べ参加人数人日数 日本側： 12人 37人日、中韓側： 13人 42人日

【概要】

平成 22 年 3 月日本、平成 22 年 6 月韓国、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 A 3 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 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ィクスを中心に、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。

○研究者交流（「共同研究」「セミナー」の枠組み以外での派遣・受入）

日-中 延べ派遣人数人日数： 0人 0人日 延べ受入人数人日数： 0人 0人日

日-韓 延べ派遣人数人日数： 0人 0人日 延べ受入人数人日数： 0人 0人日

【概要】

実施せず

(2) 本事業における、「日本側拠点機関の実施体制」、「中国・韓国の拠点機関との協力体制」、「日本側拠点機関の事務支援体制」について記入してください。

○日本側拠点機関の実施体制（拠点機関としての役割・国内の協力機関との協力体制等）

札幌医大にはマイクロアレイ解析装置、パイロシークエンサー装置、次世代シークエンサーSOLiD4などが設置されており、エピゲノム解析の拠点として本事業に参加した。網羅的なエピゲノム解析実験に次世代シークエンサーSOLiD4を用い、遺伝子ごとの定量的なDNAメチル化解析にはパイロシークエンサーが用いられた。具体的な研究の実施は以下の通りである。乳癌エピゲノム解析のため、中国 Sun Yat-Sen Universityより大学院生が札幌医大に派遣され、SOLiD4シークエンサーを用いた実験を行った。新規乳癌関連遺伝子のメチル化解析のため、韓国 Sookmyung Women's Universityより大学院生が札幌医大に派遣され、パイロシークエンサーを用いた実験を行った。国内の研究力体制として、聖マリアンナ医科大学の研究協力が札幌医大を訪れ、パイロシークエンサー装置を用いた実験を行った。また中国および韓国で行われた共同研究では、聖マリアンナ医科大学、愛知県がんセンター、国立がん研究センターの研究協力が連携し、相手国との連絡・調整などを行った。日本でのセミナー実施の際は、拠点機関としてプログラム作成、会場運営、参加者宿泊手配などの開催全般の実務を担当した。

○中国・韓国の拠点機関との協力体制（各国の役割分担・ネットワーク構築状況等）

中国 Sun Yat-Sen UniversityのDr. Song研究室は乳癌臨床検体の提供、乳癌細胞の分離・培養、乳癌細胞の生物学的解析を担当した。検体のやりとりおよび共同実験のために、Sun Yat-Sen University大学から研究者が札幌医大へ派遣された。Shanghai Jiaotong UniversityのDr. Zhuは、癌エピゲノム研究に関して豊富な経験と知識を有しており、研究者会議およびセミナーではアドバイザーとして活発な討論のために大きく貢献した。韓国 Sookmyung Women's UniversityのDr. Park研究室は、乳癌関連遺伝子の同定ならびに遺伝子機能解析などの生化学的解析を担当した。また共同実験のため、Dr. Park研究室より研究者が札幌医大へ派遣された。韓国 National Cancer Center (NCC)のDr. Lee研究室は、研究協力機関としてMassARRAYによるDNAメチル化解析プラットフォームを提供した。Dr. Parkの協力研究者であるYonsei大学のDr. Kimは免疫学および遺伝子転写制御の専門家として本研究にアドバイスし、同じく協力研究者であるPohang University of Science and TechnologyのDr. Rhoは分子生物学の専門家として本研究にアドバイスした。

○日本側拠点機関の事務体制（拠点機関全体としての事務運営・支援体制等）

札幌医大付属産学・地域連携センターが本事業を支援し、事務運営および適正な予算執行を行った。また日本でのセミナー開催の際は事務局として支援した。

5. この課題に関連した主な発表論文名・著者名

研究代表者あるいは参加研究者が実施期間中に既に発表した論文等で、この交流の成果であり、本事業名が明記されているものを記載してください。研究代表者・参加研究者の氏名にはアンダーラインを付してください。また、相手国の参加研究者との共著論文には、文頭の番号に○印を付し、その場合、中国・韓国いずれの研究者との共著論文かが分かるように備考欄に国名を記入してください。

(1) 学術雑誌等(紀要・論文集等も含む)に発表した論文又は著書

・査読がある場合、印刷済み及び採録決定済のものに限り、査読中・投稿中のものは除く。

整理番号	著者名	事業名明記箇所	タイトル	掲載誌名	巻号	掲載頁番号(開始-終了)	発表年	発表月	国内海外	査読有無	備考
1	<u>Igarashi S, Suzuki H, Niinuma T, Shimizu H, Nojima M, Iwaki H, Nobuoka T, Nishida T, Miyazaki Y, Takamaru H, Yamamoto E, Yamamoto H, Tokino T, Hasegawa T, Hirata K, Imai K, Toyota M, Shinomura Y.</u>	巻末 5122 頁	A Novel Correlation between LINE-1 Hypomethylation and the Malignancy of Gastrointestinal Stromal Tumors.	Clinical Cancer Research	16	5114-5123	2010	11	海外	有	
2	<u>Suzuki H, Yamamoto E, Nojima M, Kai M, Yamano HO, Yoshikawa K, Kimura T, Kudo T, Harada E, Sugai T, Takamaru H, Niinuma T, Maruyama R, Yamamoto H, Tokino T, Imai K, Toyota M, Shinomura Y.</u>	巻末 2073 頁	Methylation-associated silencing of microRNA-34b/c in gastric cancer and its involvement in an epigenetic field defect.	Carcinogenesis	31	2066-2073	2010	12	海外	有	
3	<u>Suzuki H, Takatsuka S, Akashi H, Yamamoto E, Nojima M, Maruyama R, Kai M, Yamano HO, Sasaki Y, Tokino T, Shinomura Y, Imai K, Toyota M.</u>	巻末 5657 頁	Genome-wide profiling of chromatin signatures reveals epigenetic regulation of MicroRNA genes in colorectal cancer.	Cancer Research	71	5646-5658	2011	9	海外	有	
4	<u>Niinuma T, Suzuki H, Nojima M, Noshok K, Yamamoto H, Takamaru H, Yamamoto E, Maruyama R, Nobuoka T, Miyazaki Y, Nishida T, Bamba T, Kanda T, Ajioka Y,</u>	巻末 1135 頁	Upregulation of miR-196a and HOTAIR drive malignant character in gastrointestinal stromal tumors	Cancer Research	72	1126-1136	2012	3	海外	有	

Taguchi T, Okahara S, Takahashi H, Nishida Y, Hosokawa M, Hasegawa T, Tokino T, <u>Hirata</u> <u>K, Imai K, Toyota</u> <u>M, Shinomura Y.</u>										
--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

(2) 国際会議における発表

- ・著者(参加研究者を含む全員の氏名を、論文等と同一の順番で記載すること)、題名、発表した学会名、開催場所、論文等の番号、月・年を記載すること。発表者に○印を付すこと。
- ・口頭・ポスターの別、査読の有無を区分して記載すること

整理番号	著者名	事業名明記箇所	題名	学会名	場所	口頭ポスター	番号	発表年	発表月	査読有無
1	○Toyota M, Suzuki H, Akashi H, Takatsuka S, Yamamoto E, Nojima M, Shinomura Y, Imai K.	巻頭・巻末 29 頁	Cancer epigenome analysis by massive parallel sequencing.	THE 5TH ASIAN EPIGENOMICS MEETING & A3 SYMPOSIUM 2010	Jeju, Korea	口演	SII-03	2010	6	有
2	○Suzuki H, Toyota M	59 頁	Genome-wide profiling of chromatic signatures reveals epigenetic regulation of microRNA genes in colorectal cancer	20th Korean Genome Organization Annual Conference	Osongsangmyeong, Korea	口演	S10-1	2011	9	有

(3) 国内学会・シンポジウム等における発表

実績なし