

課題番号	LS001
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成23年度)**

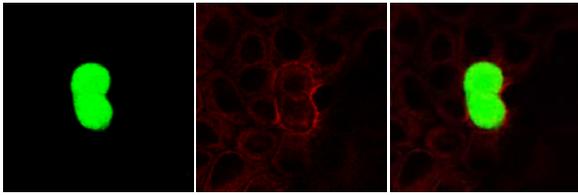
本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	正常上皮細胞と癌細胞の相互作用 - 新規な癌治療法の開発を目指して-
研究機関・ 部局・職名	北海道大学・遺伝子病制御研究所・教授
氏名	藤田 恭之

1. 当該年度の研究目的

<p>1) <u>正常上皮細胞と他のタイプの変異細胞との相互作用の解析</u> 正常細胞と変異細胞の境界で起こる現象が Ras や Src などのがんタンパク質の変異に特異的に起こるのかを明らかにするために、様々な他の変異についても解析する。</p> <p>2) <u>正常上皮細胞と変異細胞間の認識メカニズムおよびシグナル伝達機構の解明</u> 正常上皮細胞と変異細胞がお互いをどのように認識し、どのように反応しているのか、それに関わる分子を様々な生化学的手法を用いて精力的にスクリーニングしていく。</p> <p>3) <u>マウスを用いた in vivo のシステムの開発および解析</u> マウスにおいて、上皮細胞層でモザイク様のがん遺伝子やがん抑制遺伝子に変異を起こした後、ビデオで経時的に変異細胞とそれを取り巻く正常細胞の動態の変化を観察していくようなシステム開発をてがける。</p>

2. 研究の実施状況

<p>1) 哺乳類培養上皮細胞である MDCK 細胞を用いて、がん抑制タンパク質 Scribble をテトラサイクリン依存性にノックダウンする MDCK pTR Scribble shRNA 細胞を確立した。この細胞を用いて研究を進めた結果、正常上皮細胞と Scribble ノックダウン細胞の間で生存を争う細胞競合が起こり、Scribble ノックダウン細胞がアポトーシスによって細胞死を起こし、上皮細胞層から除かれることが明らかとなった。この研究成果は Journal of Cell Science 誌にて発表された。</p> <p>2) 正常 MDCK 細胞と MDCK ts-v-Src 細胞の細胞上清と抗リン酸化チロシン抗体ビーズを用い、正常細胞と Src 細胞の混合培養条件でのみ免疫沈降されるタンパク質を2つ見出した。mass spectrometry によりそれらが細胞骨格タンパク質 vimentin と filamin であることを明らかにした。さらに、これらの分子が Src 変異細胞を取り囲む正常上皮細胞内に蓄積しており、Src 変異細胞を上皮細胞層から押し出す現象に関わっていることが分かった。これらのデータは、正常上皮細胞が Src 変異細胞の存在を感知し、変異細胞を駆</p>	 <p align="center">Src cells vimentin Merge</p> <p>図 Src細胞に隣接する正常上皮細胞内での vimentin の集積</p>
--	---

様式19 別紙1

逐する能力があることを示唆している。この研究成果については、現在論文投稿準備中である。さらに、SILAC など他の生化学的スクリーニングにて正常上皮細胞と変異細胞の境界で機能する複数の分子の同定に成功している。現在、スクリーニングを続けるとともに、同定された分子について解析を進めている。

3) 正常な上皮管腔形成過程において、ごく少数の上皮細胞のみに時空間制御的にモザイク状に遺伝子変異を生じさせるようなマウスモデルの作成を進めてきた。具体的には、タモキシフェン誘導性の Cre-loxP システムを利用する事により腸管上皮細胞においてモザイク状に変異 Kras 遺伝子を発現するマウスの開発を進めている。これまでのところ、loxP-[stop codon]-loxP-KrasV12-IRES-eGFP コンディショナル・ノックインマウスと Villin-Cre/ER トランスジェニックマウスを入手することができた。これらを掛け合わせることで世界初の細胞競合のマウスモデルシステムを開発していく準備が順調に進められた。さらに、慶応大学の佐藤博士との共同研究にて腸管の組織培養システムの確立に成功した。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 4 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 4 件</p> <ul style="list-style-type: none"> Hogan, C., Kajita, M., Lawrenson, K., and Fujita, Y. (2011) Interactions between normal and transformed epithelial cells: their contributions to tumorigenesis. <i>Int. J. Biochem. Cell Biol.</i>, 43: 496-503. ISSN: 1357-2725. Fujita, Y. (2011) Interface between normal and transformed epithelial cells —A road to a novel type of cancer prevention and treatment. <i>Cancer Science</i>, 102(10); 1749-1755. ISSN: 1349-7006. Howard, S., Deroo, To., Fujita, Y., and Itasaki, N. (2011) A positive role of cadherin in Wnt/β-catenin signalling during epithelial-mesenchymal transition. <i>PLoS ONE</i>, 6, e23899. Norman, M, Wisniewska, K. A., Lawrenson, K., Garcia-Miranda G., Tada M., Kajita M., Mano, H., Ishikawa, S., Ikegawa, M., Shimada, T., and Fujita, Y. (2012) Loss of Scribble causes cell competition in mammalian cells. <i>Journal of Cell Science</i>, 125(1): 59-66. ISSN: 0021-9533. <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 7 件</p>	<p>専門家向け 計 6 件</p> <ul style="list-style-type: none"> The 7th Asia Pacific IAP Congress (Symposium) Yasuyuki Fujita「The interface between normal and transformed epithelial cells」(Taipei) May20-24, 2011 Taiwan Society of Pathology Taiwan Division of IAP Gordon Research Conference (Symposium) Yasuyuki Fujita「The interface between normal and transformed epithelial cells」(Mount Snow Resort) June19, 2011 Gordon Research Conference 第 63 回細胞生物学会(シンポジウム) Yasuyuki Fujita「Interactions between normal and transformed epithelial cells in mammals—A novel approach for cancer prevention, detection and treatment」(札幌市)6月 27~29 日 日本細胞生物学会 第 20 回日本 Cell Death 学会学術集会(シンポジウム) 藤田 恭之「正常上皮細胞と変異細胞の相互作用—新規癌治療法の開発を目指して—」(東京都)7月 29 日~30 日 日本 Cell Death 学会 第 70 回日本癌学会学術総会(シンポジウム) Yasuyuki Fujita「Interface between normal and transformed epithelial cells」(名古屋市) 10 月 3~5 日 日本癌学会 第 34 回日本分子生物学会年会(シンポジウム) Yasuyuki Fujita「Interface between normal and Src-transformed epithelial cells in mammalian cell culture systems」(横浜市) 12 月 7~10 日 日本分子生物学会 <p>一般向け 計 1 件</p> <ul style="list-style-type: none"> 平成 23 年 11 月 19 日 第 60 回サイエンスカフェ・札幌 藤田 恭之「おしくらさいぼう押されてなくなれ！」(紀伊國屋書店札幌本店)

様式19 別紙1

<p>図書 計1件</p>	<p>「がんの浸潤・転移」—臨床と基礎—高井義美、藤田恭之ら共著 正常細胞との競合と協調 p181-191、ISBN978-4-525-42081-9</p>
<p>産業財産権 出願・取得状 況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● 研究室ホームページ http://www.igm.hokudai.ac.jp/oncology/index.html ● 電子書籍による研究紹介 http://costep.hucc.hokudai.ac.jp/ebooks/fujita/index.html?highlightwords=藤田恭之#page=3 ● 北海道大学ホームページ上で最先端次世代を取得した研究者の研究内容を特別に紹介 http://or.research.hokudai.ac.jp/next/resercher/fujita/
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>札幌紀伊國屋書店にて一般聴衆(約200人参加)向けにサイエンスカフェを開催し、研究内容について2時間ほど紹介を行った。また、電子書籍を作成し、一般向けに研究内容を分かりやすく記載した。これについては、朝日新聞の取材を受け、大きな反響を呼んだ。また、北海道大学のホームページで特別に一般向けに研究を分かりやすく解説するリンクを設けた。さらに、札幌の FM 番組に出演し、1時間ほど研究内容について啓蒙的な解説をおこなった。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計2件</p>	<p>北海道新聞、平成24年2月6日(夕刊)、6ページ、「副作用のない癌治療」 朝日新聞、平成24年3月31日(朝刊)、10ページ、「科学易しく 北大の養成講座が7年」</p>
<p>その他</p>	<p>平成24年3月1日 FM ドラマシティで1時間(午後8-9時)研究室でおこなっているがん研究について語った (http://www.igm.hokudai.ac.jp/oncology/event/event06.html)。</p>

4. その他特記事項

特記すべきことなし。

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	126,000,000	81,600,000	7,500,000	36,900,000	0
間接経費	37,800,000	24,480,000	2,250,000	11,070,000	0
合計	163,800,000	106,080,000	9,750,000	47,970,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	74,170,942	7,500,000	0	81,670,942	78,470,688	3,200,254	0
間接経費	23,580,000	2,250,000	0	25,830,000	25,830,000	0	0
合計	97,750,942	9,750,000	0	107,500,942	104,300,688	3,200,254	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	71,152,050	共焦点レーザー走査型顕微鏡、ImageQuant LAS4010システム、倒立型リサーチ顕微鏡等
旅費	1,890,282	研究成果発表旅費等(APIAP,GRC, 日本CellDeath学会、日本癌学会、日本分子生物学会等)
謝金・人件費等	5,215,027	博士研究員人件費、技術補助員人件費等
その他	213,329	学会参加費等
直接経費計	78,470,688	
間接経費計	25,830,000	
合計	104,300,688	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
アルファイメ ジャーミニ 外	Alpha Innotech社	1	945,000	945,000	2011/4/6	北海道大学
オートクレーブ	(株)TOMY精工	1	526,050	526,050	2011/4/21	北海道大学
ImagerQuant LAS4010システム	GEヘルスケア社	1	7,500,000	7,500,000	2011/4/27	北海道大学
バイオシェーカー 外	タイテック(株)	1	1,566,421	1,566,421	2011/4/28	北海道大学
超微量分光光度計	ThemoFish Scientific社	1	1,806,000	1,806,000	2011/4/28	北海道大学
フレーム中央大型 実験台 外	(株)ダルトン	1	1,832,250	1,832,250	2011/5/30	北海道大学
CO2インキュベ ーター	ThemoFish Scientific社	1	840,000	840,000	2011/6/8	北海道大学
共焦点レーザー走 査型顕微鏡 外	オリンパス(株)	1	25,102,735	25,102,735	2011/8/8	北海道大学
倒立型リサーチ顕 微鏡 外	オリンパス(株)	1	6,669,734	6,669,734	2011/8/8	北海道大学