

課題番号	LS097
------	-------

**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	遺伝子改変マウスを用いた間葉系細胞の腫瘍化メカニズムの解明
研究機関・ 部局・職名	長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授
氏名	伊藤 公成

1. 当該年度の研究目的

1. これまでの研究の蓄積から、骨肉腫発症にかかわる新規がん遺伝子候補を見出した。(a) 臓器もしくは組織特異的に、強発現させたり、欠損させたりすることのできる遺伝子改変マウスを作製し解析すること、および (b) 種類のヒト骨肉腫細胞株を用いた解析から、この「がん遺伝子」候補の機能を検証することを目的とした。

2. 細胞増殖の基本となる細胞周期の調節機構は、分子生物学において最も解析の進んだ分野のひとつである。しかしながら、軟骨細胞の分化、増殖、そして腫瘍化における細胞周期調節因子の役割は、ほとんど解明されていない。そこで、Cdk-Cyclin の遺伝子改変マウスを解析し、未分化軟骨細胞の腫瘍化における細胞周期調節因子の役割を検討することにした。

2. 研究の実施状況

1 (a). これまでに、新規候補因子のコンディショナル・トランスジェニックマウス(NCTG マウス)数ラインと、コンディショナル・ノックアウトマウス(NCKO マウス)を作出することができた。さらにそれらと、四肢の未分化間葉系細胞特異的に遺伝子発現をコントロールできるマウスライン、Prx1-Cre マウスを掛け合わせ、NCTG-Prx1-Cre マウスおよび NCKO-Prx1-Cre マウスを得た。現在、これらのマウスの数を増やし、長期にわたり飼育して、四肢の組織解析をおこなっている。

1 (b). 種類のヒト骨肉腫細胞株を用いた解析から、その新規因子の発現量と骨肉腫細胞のもつ造腫瘍性の強さが、よく相関することが判明した。さらに siRNA を用いてノックダウンしたところ、ヌードマウス皮下において、骨肉腫細胞株の造腫瘍能が顕著に減弱した。これらの結果から、骨肉腫の発症と進展に「がん遺伝子」として機能している可能性が強く示唆された。

2. cyclin D1 と Cdk6 を、それぞれ単独に軟骨組織で強発現した cyclin D1 TG マウスおよび Cdk6 TG マウスを解析した。双方とも自力で呼吸することができ、外観的には野生型マウスとほとんど区別がつかなかった。しかし、cyclin D1 と Cdk6 を同時に強発現した double TG マウスは、他のマウスと比較して明らかに体が小さく、四肢の顕著な短縮を認めた。アルシアンブルーとアリザリンレッドで染色を施した骨格標本を作成すると、double TG マウスの顎、脊椎、四肢において明らかな短縮が確認された。BrdU の取り込みおよび TENEL によって、double TG マウス組織では、細胞増殖とアポトーシスの双方が亢進していることが確認された。

3. 研究発表等

雑誌論文 計 10 件	<p>(掲載済み一査読有り) 計 9 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Sugai M, Aoki K, Osato M, Nambu Y, <u>Kosei Ito</u>, Taketo MM, Shimizu A. Runx3 is required for full activation of regulatory T cells to prevent colitis-associated tumor formation. <i>Journal of immunology</i> 186, 6515-6520 (2011) 2) Fukamachi H, Shimada S, <u>Kosei Ito</u>, Ito Y, Yuasa Y. CD133 is a marker of gland-forming cells in gastric tumors and Sox17 is involved in its regulation. <i>Cancer Science</i> 102, 1313-1321 (2011) 3) Fujii S, Tokita K, Wada N, <u>Kosei Ito</u>, Yamauchi C, Ito Y, Ochiai A. MEK-ERK pathway regulates EZH2 overexpression in association with aggressive breast cancer subtypes. <i>Oncogene</i> 30, 4118-4128 (2011) 4) <u>Kosei Ito</u>. RUNX3 in oncogenic and anti-oncogenic signaling in gastrointestinal cancers. <i>Journal of Cellular Biochemistry</i> 112, 1243-1249 (2011) 5) <u>Kosei Ito</u>, Chuang LSH, Ito T, Chang TL, Fukamachi H, Salto-Tellez M, Ito Y. Loss of Runx3 is a key event in inducing precancerous state of the stomach. <i>Gastroenterology</i> 140, 1536-1546 (2011) 6) Mikasa M, Rokutanda S, Komori H, <u>Kosei Ito</u>, Tsang YS, Date Y, Yoshida CA, Komori T. Regulation of Tcf7 by Runx2 in chondrocyte maturation and proliferation. <i>Journal of Bone and Mineral Metabolism</i> 29, 291-299 (2011) 7) Huang B, Qu Z, Ong CW, Tsang YHN, Xiao G, Shapiro D, Salto-Tellez M, <u>Kosei Ito</u>*, Ito Y, Chen LF*. RUNX3 acts as a tumor suppressor in breast cancer by targeting estrogen receptor α. <i>Oncogene</i> 31, 527-534 (2012) *corresponding author 8) Satoshi Fujii, Katsumi Fukamachi, Hiroyuki Tsuda, <u>Kosei Ito</u>, Yoshiaki Ito, Atsushi Ochiai. RAS oncogenic signal upregulates EZH2 in pancreatic cancer. <i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> 417, 1074-1079 (2012) 9) Ohyama K, Shiokawa A, <u>Kosei Ito</u>, Masuyama R, Ichibangase T, Kishikawa N, Imai K, Kuroda N. Toxicoproteomic analysis of a mouse model of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastric ulcers. <i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> 420, 210-215 (2012) <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Nakazawa Y, Sasaki K, Mitsutake N, Matsuse M, Shimada M, Nardo T, Takahashi Y, Ohyama K, <u>Kosei Ito</u>, Mishima H, Nomura M, Kinoshita A, Ono S, Takenaka K, Masuyama R, Kudo T, Slor H, Utani A, Tateishi S, Yamashita S, Stefanini M, Lehmann A, Yoshiura K, Ogi T. Mutations in UVSSA cause UV-sensitive syndrome and impair RNA polymerase Ilo processing in transcription-coupled nucleotide excision repair. <i>Nature Genetics</i> (2012)
--------------------	---

様式19 別紙1

<p>会議発表</p> <p>計 4 件</p>	<p>専門家向け 計 4 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 伊藤公成, 伊藤嘉明(シンポジウム)「胃がん発がん過程における RUNX3 の役割」、第 70 回日本癌学会学術総会、名古屋、2011 年 10 月 3-5 日、日本癌学会 2) 伊藤嘉明, 伊藤公成, 深町博史(シンポジウム)「Runx3 protects gastric epithelial cells against EMT and Lgr5-expressing tumorigenic subpopulation」、第 70 回日本癌学会学術総会、名古屋、2011 年 10 月 3-5 日、日本癌学会 3) 梶川修平, 河野通明, 小守壽文, 伊藤公成(口演)「骨肉腫細胞における RUNX3 の「がん遺伝子」としての機能」、第 70 回日本癌学会学術総会、名古屋、2011 年 10 月 3-5 日、日本癌学会 4) 伊藤公成 (口演)「骨肉腫における RUNX の機能」、第 14 回癌と骨病変研究会、東京、2011 年 11 月 18 日、癌と骨病変研究会 <p>一般向け 計 0 件</p>
<p>図 書</p> <p>計 0 件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状 況</p> <p>計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>「伊藤公成の研究内容紹介」</p> <p>http://www.de.nagasaki-u.ac.jp/dokuji/kaibou-2/ito_project.html</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>長崎大学主催「未来の科学者発掘プロジェクト“サイエンス塾”」（平成23年8月18日）</p> <p>長崎大学にて長崎県内の数学コンテストにおいて成績が優秀であった小学生約50名が参加</p> <p>「新しいがん治療に挑戦」というテーマで授業</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載</p> <p>計 1 件</p>	<p>西日本新聞(平成 23 年 5 月 22 日)</p> <p>「現在のがん生物学の空白地帯-骨肉腫の発症メカニズムに挑む」と題した記事(1頁)</p> <p>「最先端・次世代研究開発支援プログラム」採択課題の内容が紹介される。</p>
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

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ず

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	97,000,000	42,660,000	0	54,340,000	0
間接経費	29,100,000	12,798,000	0	16,302,000	0
合計	126,100,000	55,458,000	0	70,642,000	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	42,270,000	0	0	42,270,000	42,162,087	107,913	0
間接経費	12,739,500	0	0	12,739,500	6,340,500	6,399,000	0
合計	55,009,500	0	0	55,009,500	48,502,587	6,506,913	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	28,728,459	正立顕微鏡、マイクローム、実験試薬、窒素ガス等
旅費	121,000	研究成果発表旅費
謝金・人件費等	906,578	技能補佐員人件費
その他	12,406,050	遺伝子組み換えマウス作製費等
直接経費計	42,162,087	
間接経費計	6,340,500	
合計	48,502,587	

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
生物学用正立顕微鏡	カルツァイス・Axio Imager M2	1	9,343,950	9,343,950	2012/1/18	長崎大学
リサーチ用高性能マイクローム	ライカ・CM3050S	1	7,103,250	7,103,250	2011/9/29	長崎大学
ゲル撮影装置	BioDoc-It Plus System	1	991,200	991,200	2011/4/25	長崎大学
遠心分離機	エプントルフ・ 5430/95217	1	682,500	682,500	2011/5/10	長崎大学