

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25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、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、複数の変異が重なった時に細胞競合現象がどのように影響を受けるかを調べた。昨年度までの研究で、正常上皮細胞層に p53変異が生じたとき、新たに生じた p53変異細胞と周囲の正常細胞との間に細胞競合が起こり、変異細胞がネクロトーシスを起こすことを明らかにしてきた。非常に興味深いことに、p53変異が Ras 変異をもった上皮層に起こった時には、p53変異細胞の細胞死は強く抑制されることが明らかとなった。また、正常上皮細胞層においては Ras 変異細胞が管腔側へ押し出されるように逸脱することが分かっていたが、Wnt 伝達経路の変異細胞層に Ras 変異が生じても管腔側への押し出し現象は起こらないことが明らかになった。多段階発がんの過程において、例えば大腸がんでは、Wnt 経路の変異が早期に、Ras 変異は中期に、p53 変異はより後期に生じることが知られているが、どのようなメカニズムでそのような変異の時間系列が生じているかについてはよく分かっていなかった。我々のデータは、細胞競合がそのプロセスに関与していることを示唆しており、これまで明らかになっていなかった発がんメカニズムの一つのパラダイム解決に道を拓く可能性を有している。</p> <p>2) 正常上皮細胞と変異細胞の境界で、それぞれの細胞に生じる細胞非自律的な変化が多く見つかかり、研究は大きく進展した。例えば、正常上皮細胞に囲まれた Ras 変異細胞あるいは Src 変異細胞において</p>

様式19 別紙1

オートファジーが亢進しているのが見出された。オートファジー阻害剤添加によって、変異細胞の細胞層からの逸脱は有意に抑制された。このことは、オートファジーの亢進が、変異細胞の組織からの排除に正の役割を果たしていることを示している。さらに、その上流で AMPK が機能していることも明らかになってきた。これらの研究により、正常上皮細胞と変異細胞の間の相互作用によって、互いのシグナル伝達経路が影響を受け合うことにより、細胞競合現象が誘起されることが分かってきた。

3) マウスの腸上皮細胞層にモザイク様に RasV12 変異を誘導できるモデルシステムを完成した。プロモーターとして、VillinとLgr5の二つのシステムを構築し、それぞれ陰窩外の分化した腸上皮細胞と陰窩内の腸幹細胞に変異を誘導することが可能になった。二つのシステムにおける細胞競合現象を比べたところ、非常に興味深いことに、前者のシステムにおいては正常細胞に囲まれた Ras 変異細胞は管腔側に逸脱することが観察される一方、後者のシステムでは Ras 変異幹細胞は上皮層内にとどまった。このことは、幹細胞に変異が入った時には、周囲の細胞との細胞競合による組織からの排除機構が起こりにくいことを示している。今後は、1)において細胞培養系で見られた現象を in vivo において検証するとともに、腸管以外の組織においても同様の細胞競合モデルシステムを構築する。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計3件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計3件 Saitoh, M., Shirakihara, T., Fukasawa, A., Horiguchi, K., Sakamoto, K., Sugiya, H., Beppu, H., Fujita, Y., Morita, I., Miyazono, H., and Miyazawa, K. (2013) Basolateral BMP signaling in polarized epithelial cells. <i>PLoS One</i>, 13: e62659.</p> <p>Kuipers, D., Mehonic, A., Kajita, M., Peter, L., Fujita, Y., Duke, T., Charras, G., and Gale, J. D. (2014) Epithelial repair is a two-stage process driven first by dying cells and then by their neighbours. <i>Journal of Cell Science</i>, 127(6): 1229-1241.</p> <p>Benedetto, A., Accetta, G., Fujita, Y., and Charras, G. (2014) Spatiotemporal control of gene expression using microfluidics. <i>Lab on a Chip</i>, 14(7): 1336-1347.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計0件 (未掲載) 計0件</p>
<p>会議発表 計4件</p>	<p>専門家向け 計3件 ・ 第65回日本細胞生物学会大会(シンポジウム) 藤田 恭之 「Filamin Acts as a Key Regulator in Epithelial Defense against Transformed Cells」 名古屋 2013年6月21日 日本細胞生物学会 ・ 第36回日本分子生物学会年会(シンポジウム) 藤田 恭之 「正常上皮細胞と癌細胞の相互作用-新規がん治療法の確立を目指して-」 神戸 2013年12月3~6日 日本分子生物学会 ・ The 14th RIES-HOKUDAI INTERNATIONAL SYMPOSIUM (シンポジウム) 藤田 恭之 「Interactions between Normal and Transformed Epithelial Cells : A Road to Novel Types of Cancer Treatment」 札幌市 2013年12月11-12日 一般向け 計1件 ・ 第53回生命科学夏の学校 藤田恭之 「お見せします!PIの実際」 熱海市 2013年8月31日~9月1日</p>

様式19 別紙1

図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状 況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	<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/
国民との科学・技術対話 の実施状況	2013年6月15日 HBC ラジオ「大人のラジオ 土曜は朝からのりゆきです」にて新たな癌治療開発の試みについて2時間ほど講演。
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成25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	106,300,000	19,700,000	0	0
間接経費	37,800,000	31,890,000	5,910,000	0	0
合計	163,800,000	138,190,000	25,610,000	0	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	1,245	19,700,000	0	19,701,245	19,701,245	0	0
間接経費	0	5,910,000	0	5,910,000	5,910,000	0	0
合計	1,245	25,610,000	0	25,611,245	25,611,245	0	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	9,461,763	バイオハザード対策用クラスIIキャビネット、抗体等
旅費	1,973,088	研究成果発表旅費等(日本細胞生物学会等)、 共同研究打合せ等
謝金・人件費等	6,129,580	博士研究員人件費、技術補助員人件費等
その他	2,136,814	標本作製費、学会参加登録費等
直接経費計	19,701,245	
間接経費計	5,910,000	
合計	25,611,245	

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
バイオハザード 対策用クラスII キャビネット	日本医化器械 製作所製 VH- 1300BH-2A2	1	1,263,906	1,263,906	2013/7/1	北海道大学
				0		
				0		