様式19　別紙1

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 25 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・教授
氏名	伊藤　公成

1.　当該年度の研究目的

1. これまでに、12種類のヒト骨肉腫細胞株および約40検体のヒト骨肉腫臨床検体を用いた解析から、正常骨芽細胞および骨髄間葉系幹細胞と比較して、骨肉腫細胞において顕著に発現の亢進する「新規がん遺伝子」の存在を見出した。
2. その「新規がん遺伝子」の腫瘍化促進機能をマウス生体レベルでより明確に検証するため、p53のコンディショナル・ノックアウトマウスを用意した。骨肉腫発症には「がん抑制遺伝子」p53の不活性化が必須で、間葉系細胞特異的にp53を不活性化したp53コンディショナル・ノックアウトマウスは、ヒト骨肉腫のモデルマウスとされている。そこで、「新規がん遺伝子」のコンディショナル・ノックアウトマウスを作出し、p53コンディショナル・ノックアウトマウスと交配し、双方を同時に未分化間葉系細胞特異的に不活性化したところ、p53のみをノックアウトしたマウスに比べて顕著に骨肉腫の発症が抑制された。

これら１．２．の結果を受けて、当該年度は作製済みの遺伝子改変マウスモデルを駆使し、骨肉腫発症における「新規がん遺伝子」の作用機序を解明する。

2.　研究の実施状況

未分化間葉系細胞特異的 p53 コンディショナル・ノックアウトマウスに発症した骨肉腫細胞（p53-/-骨肉腫細胞）と、同じく未分化間葉系細胞特異的 p53 コンディショナル・ノックアウトマウスの骨髄由来間葉系幹細胞（非腫瘍細胞；p53-/-MSC）を比較した。すると、p53-/-骨肉腫細胞においては、非腫瘍細胞である p53-/-MSC 細胞に比べて、この「新規がん遺伝子」の発現が顕著に上昇していて、さらに細胞周期関連因子など、がん遺伝子 c-Myc のターゲット因子の発現も合わせて有意に上昇していることが判明した。すなわち p53-/-骨肉腫細胞では、「新規がん遺伝子」の機能亢進とともに、c-Myc の機能も亢進していることが示唆された。

さらに *in vitro* transformation assay によって、「新規がん遺伝子」は c-Myc と協調して機能することが判明した。p53-/-MSC を単離・培養し、そこにレトロウイルスを用いて c-Myc を安定的に強発現させたところ、この c-Myc+p53-/-MSC は transform して軟寒天中に球状のコロニーを形成して増殖したが、「新規がん遺伝子」を欠損させた p53-/-MSC は、c-Myc を強発現させても軟寒天培地で腫瘍増殖しなかった。この結果は、p53 欠損骨肉腫発症過程において、がん遺伝子 c-Myc が機能すると造腫瘍性が獲得されるが、その c-Myc が機能するためには「新規がん遺伝子」の存在が不可欠であることを明確に示した。

では、新規がん遺伝子と c-Myc の協調作用はいかなる分子相関によるのか。直接的な相互作用か、そ

れとも何らかの因子の介在によるのか。これまでいろいろな手法および材料を用いて検討してきたが、両タンパク質の直接的な結合は確認できなかった。最近になって、その両者を有機的に結び付ける腫瘍関連因子を同定した。骨肉腫発症における新規な作用機序の全体像が解明されつつある。

3.　研究発表等

雑誌論文 計 2 件	（掲載済み－査読有り）計 0 件 （掲載済み－査読無し）計 0 件 （未掲載）　　　　計 2 件 **Kosei Ito**, Maruyama Z, Sakai A, Izumi S, Moriishi T, Yoshida CA, Miyazaki T, Komori H, Takada K, Kawaguchi H, Komori T. Overexpression of *Cdk6* and *Ccnd1* in chondrocytes inhibited chondrocyte maturation and caused p53-dependent apoptosis without enhancing proliferation. Oncogene *33*, 1862-1871 (2014). Ju X, Ishikawa T, Naka K, **Kosei Ito**, Ito Y, Oshima M. Context-dependent activation of Wnt signaling by tumor suppressor RUNX3 in gastric cancer cells. Cancer Science (in press).
会議発表 計 1 件	専門家向け　計 1 件 伊藤公成：「転写因子 RUNX3 の「がん遺伝子」「がん抑制遺伝子」としての機能」，第 13 回 原研研究集会，長崎，平成 26 年 1 月 22 日 一般向け　計 0 件
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）	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科　分子硬組織生物学ホームページ http://www.de.nagasaki-u.ac.jp/dokuji/mbb/index.html
国民との科学・技術対話の実施状況	長崎県壱岐市立郷ノ浦中学校にて、サイエンスカーラボ・出前授業を催した。2年生約 80 名を対象に、「がんの生物学」について2時間の授業を行った。（平成 25 年 12 月 13 日）
新聞・一般雑誌等掲載 計 0 件	
その他	

4.　その他特記事項

様式19　別紙2

課題番号	LS097

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	97,000,000	70,830,000	26,170,000	0	0
間接経費	29,100,000	21,249,000	7,851,000	0	0
合計	126,100,000	92,079,000	34,021,000	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	405,830	26,170,000	0	26,575,830	26,572,602	3,228	0
間接経費	10,624,500	7,851,000	0	18,475,500	18,475,500	0	0
合計	11,030,330	34,021,000	0	45,051,330	45,048,102	3,228	0

3．当該年度の執行額内訳　（単位：円）

	金額	備考
物品費	7,833,474	微量ﾎﾓｼﾞﾅｲｻﾞｰ、ﾏﾙﾁｶﾞｽ･ｲﾝｷｭﾍﾞｰﾀｰ　他
旅費	75,180	研究成果発表旅費
謝金・人件費等	1,587,631	技能補佐員人件費
その他	17,076,317	遺伝子改変マウス作製費　他
直接経費計	26,572,602	
間接経費計	18,475,500	
合計	45,048,102	

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
微量ホモジナイザー	ﾌﾅｺｼ・FastPrep24	1	806,400	806,400	2013/7/2	長崎大学
ﾏﾙﾁｶﾞｽ・ｲﾝｷｭﾍﾞｰﾀｰ	ｱｽﾃｯｸ・APM−30D	1	659,600	659,600	2014/1/17	長崎大学