

# 国際共同研究事業 共同研究報告書

令和 2 年 2 月 29 日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

所属機関・部局 国立大学法人北海道大学  
遺伝子病制御研究所

(ふりがな)  
職・氏名 教授・藤 田 恭 之

1. 事業名 国際共同研究事業 スイスとの国際共同研究プログラム
  2. 研究課題名 (和文) 正常上皮細胞と変異細胞間に生じる細胞競合の統合的研究  
—新規癌予防薬開発を目指して  
(英文) Exploring cell competition between normal and transformed epithelial  
cells as a novel cancer preventive mechanism
  3. 共同研究実施期間 (全採用期間)  
平成 29 年 3 月 1 日 ~ 令和 2 年 2 月 29 日 (3 年 0 ヶ月)
  4. 研究経費総額
    - (1) 本事業により交付された委託費 (研究経費+委託手数料)  
総額 28,898 千円  

初年度	(平成 28 年度) 委託費	<u>1,300</u> 千円
第 2 年度	(平成 29 年度) 委託費	<u>6,698</u> 千円
第 3 年度	(平成 30 年度) 委託費	<u>11,000</u> 千円
第 4 年度	(平成 31 年度) 委託費	<u>9,900</u> 千円
    - (2) 本事業による経費以外の国内研究経費総額 0 円
- \* 本研究との関連において使用した補助金等の総額を 10 万円単位で記入してください。

(注) ※本報告書は、申請書の内容を踏まえて記入してください。  
※特に指定のある箇所を除き、日本語で記入してください。

5. 研究概要（研究の目的・内容・成果等の概要を簡潔に記載してください。当初計画を変更した場合にはその内容及び理由も明記してください。また、どのような国際協働を実施したかについても明記してください。）

#### （研究の目的）

本研究では、哺乳類における細胞競合研究のパイオニアである藤田と様々なマウスモデルを用いて世界のがん研究をリードする Huelsken が強力なタグを組み、密接な共同研究にて細胞競合研究を統合的に推進することによって、がんの超初期段階で正常上皮細胞と変異細胞間に生じる細胞競合現象を解明し、世界初のがんの予防的治療薬の開発の実現に向けて十分なシーズを得ることを目標とした。

#### （研究内容）

本研究の申請者である藤田のグループは、テトラサイクリン依存性のがんタンパク質の発現あるいはがん抑制タンパク質の shRNA の発現を誘導できる上皮培養細胞系を確立し、哺乳類で正常上皮細胞と変異細胞間で互いに生存を争う細胞競合現象が起こることを世界で初めて明らかにしてきた。現在、細胞競合研究分野において最も大きなクエスションは、どのような分子メカニズムで細胞競合現象が誘起されているのか、である。本研究では、様々なスクリーニング手法によって、正常上皮細胞と変異細胞間の相互作用に関する分子の同定を行なった。さらに、同定した分子については、細胞培養系とマウスモデルを用いて、その発現と機能について解析を行った。

#### （研究成果）

ファージ抗体ディスプレイ法などによるスクリーニングを行い、複数の細胞競合制御分子の同定に成功した。その中でも、**Collagen 17A1** に焦点を当てて研究を進めた。Collagen17A1 は膜貫通ドメインを有する、コラーゲンファミリーの中でも特異な分子である。Collagen 17A1 は、培養細胞およびマウスモデルシステムにおいて、RasV12 発現に伴って形質膜における発現が亢進することが分かった。

RasV12 を発現する上皮細胞が多層構造を呈することは以前から知られていたが、管腔側に逸脱した Ras 変異細胞において Collagen 17A1 の発現が強く上昇していることが明らかになった。さらに、Collagen17A1 をノックアウトした Ras 変異細胞では多層構造の形成が強く抑制されることがわかった。このことから、Collagen17A1 が Ras 変異細胞の多層構造形成を正に制御する因子であることが明らかになった。また、Collagen17A1 をノックアウトした変異細胞では、ROS が亢進し、変異細胞の2層目以上において Ferroptosis による細胞死を起し、多層化を阻害することが分かった。これらのデータは、多層化をきたす変異を持った細胞において、Collagen17A1 は ROS の産生を抑制することによって、単層上皮層の管腔側に逸脱した際に細胞死を阻害することを示している。このように、Collagen17A1 はがん化の過程において、単層上皮が多層化するプロセスに関与していることが明らかになった（論文投稿準備中）。

これらの研究成果は、がん研究のブラックボックスであったがん化の初期段階で生じる現象の解明につながるものである。

#### （国際協働）

日本—スイス間で、のべ7名の研究者が互いの研究室を訪問・滞在した。これによって、研究の進捗状況や問題点を報告し合い、円滑で効率的な共同研究の進展に務めた。日本側から参加した若手研究者は、新たな技術の習得に取り組むとともに、異文化を経験することによって国際感覚・コミュニケーション能力の向上を得ることができた。

さらに最終年度の2019年9月10日に、ローザンヌにおいて、"**Cell competition in Development and Disease**"と銘打った**国際シンポジウム**を開催した。世界から、細胞競合研究の第一人者を11名招聘し、若手研究者へ細胞競合研究を啓蒙するとともに、本研究で得られた知見を世界に発信することに成功した。

7. 研究の成果（「5. 研究概要」の内容と対応させつつ、本研究によって得られた新たな知見、成果を平易な表現で記述してください。）

(1) 学術的価値（本研究により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果）

本研究によって、ファージ抗体ディスプレイスクリーニングを行った結果、がんタンパク質 **RasV12** 発現に伴って形質膜における発現が亢進する膜タンパク質として **Collagen17A1** を同定することに成功した。また、**RasV12** を発現する上皮細胞が多層構造を呈することは以前から知られていたが、**Collagen17A1** が **Ras** 変異細胞の多層構造形成を正に制御する因子であることが明らかになった。さらにその分子メカニズムの解明を進めたところ、**Collagen17A1** は活性酸素種 **ROS** の産生を抑制することによって、単層上皮層の管腔側に逸脱した際に細胞死を阻害することが分かった。このように、**Collagen17A1** はがん化の過程において、単層上皮が多層化するプロセスに関与していることを見出した。これらの研究成果は、がん研究のブラックボックスであったがん化の初期段階で生じる現象の解明につながるものである。

(2) 相手国との交流実績（本研究による国際共同研究の活性化や、両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果）

日本—スイス間で、のべ7名の研究者が互いの研究室を訪問・滞在した。これによって、研究の進捗状況や問題点を報告し合い、円滑で効率的な共同研究の進展に務めた。藤田の細胞生物学・生化学と **Huelsken** の遺伝学で得られた知見を照合し、互いにフィードバックさせることによって、大きな相乗効果を得ることができた。

さらに最終年度の2019年9月10日に、ローザンヌにおいて、"**Cell competition in Development and Disease**"と銘打った**国際シンポジウム**を開催した。世界から、細胞競合研究の第一人者を11名招聘し、若手研究者へ細胞競合研究を啓蒙するとともに、本研究で得られた知見を世界に発信することに成功した。本シンポジウムには、ヨーロッパを中心に、日本、スイス以外からも多くの参加者を得ることができた。本研究スキームの日本側およびスイス側参加者以外のシンポジウム参加者の交通費の一部を研究費から支弁した。

(3) 社会的貢献（社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の広い意味での社会的貢献はどのようにあったか）

今回の研究成果は、がんの早期診断法・予防的治療法の開発に結びつく可能性を秘めている。「予防的医療」の観点からは、糖尿病や膠原病など他の慢性疾患と同じように、がんについてもより早期に発見し予防的に治療することによって治療成績が大いに向上することが期待される。がん予防をがん研究分野として発展させていくために最も必要なことは、がん超早期病変に対する診断法および予防的治療法の二つを連動させながら研究を進めていくことである。診断法を確立することができれば、予防薬の効果を検証するために、数年にわたる進展がんの発生の有無を疫学的調査によって解析するのではなく、マーキングした前がん病変部位のサイズを経時的にチェックすることが可能になる。がんの早期診断に結びつく可能性を秘めた本研究をさらに発展させることによって、将来的に、がんで苦しむ患者数を大きく減らし、人々のQOLを大幅に改善

するための道筋を切り拓くことができたのではないかと考えられる。

(4) 若手研究者養成への貢献（若手研究者養成への取り組み、成果）

年に一回、若手研究者（学生あるいはポスドク）をそれぞれ1名ずつ互いに交換留学させた。これによって、新たな技術の習得に取り組むとともに、異文化を経験することによって国際感覚・コミュニケーション能力の向上を得ることができた。また最終年度の2019年9月10日に、ローザンヌにおいて開催した国際シンポジウム "Cell competition in Development and Disease"にも、多くの若手研究者の参加を得ることができ、次世代の細胞競合研究を担う若手研究者を養成することができた。

(5) 将来発展可能性（本研究・交流事業を実施したことで、当初見込んでいた将来的な発展は認められたか。またその可能性はあるか）

本研究は、細胞競合現象の解明という学術的な課題に取り組むとともに、得られた知見を超早期がん病変の診断や予防的治療法の確立につなげていくことを目指した。共同研究終了時に、(1) 超早期がん病変の境界バイオマーカー分子同定による診断薬の開発、および(2) 「正常細胞ががん細胞を排除するメカニズムを活性化する」、あるいは「がん細胞が正常細胞からの排除を免れるメカニズムを不活性化する」という「細胞の社会性を利用した」新規のがん予防的治療薬の開発、の実現に向けて十分なシーズを得ることができた。本研究をさらに発展させることによって、「がん超早期病変」および「がん予防薬」という新たな医療ターゲットを開拓し、治験の在り方に大きな影響を与えるとともに、製薬・医療分野に新たなマーケットと産業分野を創出し、イノベーションのうねりを生み出すことが将来的に期待できる。

(6) その他（上記(1)～(5)以外に得られた成果等があれば記述してください）

該当なし。

8. 研究発表（本共同研究の一環として発表したもの、又は、発表予定のものについて記入してください。）

【雑誌論文】 計 (20) 件    うち査読付論文 計 (20) 件

通番	共著の有無*	論文名、著者名等**
1		Kadeer, A., Maruyama, T., Kajita, M., Morita T., Sasaki, A., Ohoka, A., Ishikawa, S., Ikegawa, M., Shimada, T., and <b>Fujita, Y.</b> (2017.3) Plectin is a novel regulator for apical extrusion of RasV12-transformed cells. <i>Scientific Reports</i> , 7:44328. doi: 10.1038/srep44328.
2		Saitoh, S., Maruyama, T., Yako, Y., Kajita, M., Fujioka, Y., Ohba, Y., Kasai, N., Sugama, N., Kon, S., Ishikawa, S., Hayashi, T., Yamazaki, T., Tada, M., and <b>Fujita, Y.</b> (2017) Rab5-regulated endocytosis plays a crucial role in apical extrusion of transformed cells. <i>Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA</i> , 114 (12), E2327-E2336. doi: 10.1073/pnas.1602349114
3		Kon, S., Ishibashi, K., Katoh, H., Kitamoto, S., Shirai, T., Tanaka, S., Kajita, M., Ishikawa, S., Yamauchi, H., Yako, Y., Kamasaki, T., Matsumoto, T., Watanabe, H., Egami, R., Sasaki, A., Nishikawa, A., Kameda, I., Maruyama, T., Narumi, R., Morita, T., Sasaki, Y., Enoki, R., Honma, S., Imamura, H., Oshima, M., Soga, T., Miyazaki, J., Duchon, M. R., Nam, J.-M., Onodera, Y., Yoshioka, S., Kikuta, J., Ishii, M., Imajo, M., Nishida, E., Fujioka, Y., Ohba, Y., Sato, T., and <b>Fujita, Y.</b> (2017.4.17) Cell competition with normal epithelial cells promotes apical extrusion of transformed cells through metabolic changes. <i>Nature Cell Biology</i> , 19(5):530-541. DOI: 10.1038/ncb3509
4		Maruyama, T. and <b>Fujita, Y.</b> (2017) Cell competition in mammals —novel homeostatic machinery for embryonic development and cancer prevention. <i>Current Opinion in Cell Biology</i> , 15:48:106-112. DOI: 10.1016/j.ceb.2017.06.007

5	Bove, A., Gradeci, D., <b>Fujita, Y.</b> , Banerjee, S. Charras, G. and Lowe, A.R. (2017) Local cellular neighbourhood controls proliferation in cell competition. <i>Molecular Biology of the Cell</i> , 7;28(23):3215-3228. doi: 10.1091/mbc.E17-06-0368
6	Kasai, N., Kadeer, A., Kajita, M., Saitoh, S., Ishikawa, S., Maruyama, T. and Fujita, Y. (2018) The paxillin-plectin-EPLIN complex promotes apical elimination of RasV12-transformed cells by modulating HDAC6-regulated tubulin acetylation. <i>Scientific Reports</i> , 8(1):2097. doi: 10.1038/s41598-018-20146-1
7	Sasaki, A., Nagatake, T., Egami, R., Gu, G., Takigawa, I., Ikeda, W., Nakatani, T., Kunisawa, J. and <b>Fujita, Y.</b> (2018) Obesity suppresses cell competition-mediated apical elimination of RasV12-transformed cells from epithelial tissues. <i>Cell Reports</i> , 2018 Apr 24;23(4):974-982. doi: 10.1016/j.celrep.2018.03.104
8	Watanabe, H., Ishibashi, K., Mano, H., Kitamoto, S., Sato, N., Hoshiba, K., Kato, M., Matsuzawa, F., Takeuchi, Y., Shirai, T., Ishikawa, S., Morioka, Y., Imagawa, T., Sakaguchi, K., Yonezawa, S., Kon, S., and <b>Fujita, Y.</b> (2018.6.26) Mutant p53-Expressing Cells Undergo Necroptosis via Cell Competition with the Neighboring Normal Epithelial Cells. <i>Cell Reports</i> , 2018 Jun 26;23(13):3721-3729. doi:10.1016/j.celrep.
9	Yako, Y., Hayashi, T., Takeuchi, Y., Ishibashi, K., Kasai, N., Sato, N., Kuromiya, K., Ishikawa, S. and <b>Fujita, Y.</b> (2018) ADAM-like Decysin-1 (ADAMDEC1) is a positive regulator of Epithelial Defense Against Cancer (EDAC) that promotes apical extrusion of RasV12-transformed cells. <i>Scientific Reports</i> , 2018 Jun 25;8(1):9639. doi: 10.1038/s41598-018-27469-z
10	Takagi M, Ikegawa M, Shimada T, Ishikawa S, Kajita M, Maruyama T, Kamasaki T, Fujita Y. (2018) Accumulation of the myosin-II-spectrin complex plays a positive role in apical extrusion of Src-transformed epithelial cells. <i>Genes Cells</i> , 2018 Nov;23(11):974-981. doi: 10.1111/gtc.12643. Epub 2018 Oct 2.
11	Anton, K.A., Kajita, M., Narumi, R., <b>Fujita, Y.</b> and Tada, M. (2018) Src-transformed cells hijack mitosis to extrude from the epithelium. <i>Nature Communications</i> , 9(1):4695. 2018 Nov 8;9(1):4695. doi: 10.1038/s41467-018-07163-4
12	Søgaard, P.P., Ito, N., Sato, N., <b>Fujita, Y.</b> , Matter, K., and Itoh, Y. (2019) Epithelial polarization in 3D matrix requires DDR1 signaling to regulate actomyosin contractility. <i>Life Science Alliance</i> , 13;2(1). doi: 10.26508/lsa.201800276. 2019 Feb 13;2(1). pii: e201800276. doi: 10.26508/lsa.201800276.
13	Koso, H., Tsuchi, A., Matsubara, D., <b>Fujita, Y.</b> and Watanabe, S. (2019) Ras activation in retinal progenitor cells induces tumor formation in the eye. <i>Experimental Eye Research</i> , 180:39-42. 2019 Mar;180:39-42. doi: 10.1016/j.exer.2018.11.025.
14	Nishio, M., Miyachi, Y., Otani, J., Tane, S., Omori, H., Ueda, F., Togashi, H., Sasaki, T., Mak, T., Nakao, K., <b>Fujita, Y.</b> , Nishina, H., Maehama, T. and Suzuki, A. (2019) Hippo pathway controls cell adhesion and context-dependent cell competition to influence skin engraftment efficiency. <i>FASEB Journal</i> , 33(4):5548-5560.
15	Fujii, Y., Ochi, Y., Tuchiya, M., Kajita, M., <b>Fujita, Y.</b> , Ishimoto, Y. and Okajima, T. (2019) Spontaneous spatial correlation of elastic modulus in jammed epithelial monolayers observed by AFM. <i>Biophysical Journal</i> , 116(6):1152-1158
16	Khalilgharibi, N., Fouchard, J., Asadipour, N., Barrientos, R., Duda, M., Bonfanti, A., Yonis, A., Harris, A., Mosaffa, P., <b>Fujita, Y.</b> , Kabla, A., Mao, Y., Baum, B., Munoz, J.J., Miodownik, M. and Charras, G. Stress relaxation in epithelial monolayers is controlled by the actomyosin cortex. (2019) <i>Nature Physics</i> , 15:839-847.
17	Tanimura, N. and Fujita, Y. (2019) Epithelial defense against cancer (EDAC). <i>Seminars in Cancer Biology</i> , pii: S1044-579X(19)30033-1
18	Fujita, Y. (2019) Flower power as human cancer cells compete. <i>Nature</i> , 572 (7768): 181-182
19	Ishihara, E., Nagaoka, Y., Okuno, T., Ishigami-Yuasa, M., Kagechika, H., Kamimura, K., Terai, S., Yokomizo, T., Sugimoto, Y., Fujita, Y., Suzuki, A. and Nishina, H. (2020) Prostaglandin E2 and its receptor EP2 trigger signaling that contributes to Yes-associated protein (YAP)-mediated cell competition. <i>Genes to Cells</i> , in press

20		Takeuchi, Y., Narumi, R., Akiyama, R., Vitiello, E., Shirai, T., Tanimura, N., Kuromiya, K., Ishikawa, S., Kajita, M., Tada, M., Haraoka, Y., Akieda, Y., Ishitani, T., Fujioka, Y., Ohba, Y., Yamada, S., Hosokawa, Y., Toyama, Y., Matsui, T., and Fujita, Y. (2020) Calcium wave promotes cell extrusion. <i>Current Biology</i> , 30(4); 670-681.
----	--	---

【学会発表】計 (19) 件    うち招待講演 計 (19) 件

通番	共著の有無*	標題、発表者名等**
1		「正常上皮細胞と変異細胞間に生じる細胞競合」藤田恭之、第16回日本再生医療学会総会、仙台市、2017
2		「Cell competition between normal and transformed epithelial cells」藤田恭之、The 15th Stem Cell Research Symposium、東京、2017
3		「細胞競合を利用した新規がん予防的治療薬の開発」藤田恭之、日本ケミカルバイオロジー学会第12回年会、札幌市、2017
4		「Cell competition between Normal and Transformed Epithelial Cells」藤田恭之、24th Asia Pacific Cancer Conference (APCC2017)、韓国、2017
5		「Calcium wave triggers cell extrusion」藤田恭之、3rd Cell Competition International Symposium、札幌市、2017
6		「細胞競合とワールブルグ効果」藤田恭之、第42回日本医用マスメクトル学会年会、東京、2017
7		「Cell competition: Cancer-host network in carcinogenesis 細胞競合: 発がんにおけるがん-宿主ネットワーク」藤田恭之、第76回日本癌学会学術総会、横浜市、2017
8		「Cell competition between normal and transformed epithelial cells in mammals」藤田恭之、CHAMPALIMAUD RESEARCH SYMPOSIUM 2017、ポルトガル、2017
9		「Cell Competition between normal and transformed epithelial cells」藤田恭之、12th International Symposium of the Institute Network、東京、2017
10		「Cell Competition between normal and transformed epithelial cells」藤田恭之、33rd International Symposium of Radiation Biology Center, Kyoto University、京都市、2017
11		「細胞競合の分子機構と生理的意義: どこまでわかって何がわからないのか」藤田恭之、2017年度生命科学系学会合同年次大会、横浜市、2017
12		「Calcium wave triggers cell extrusion」藤田恭之、Gordon Research Conferences, Cell Polarity Signaling、アメリカ、2018
13		「細胞間コミュニケーションの究極の理解を目指して~Cell Competition and Beyond」藤田恭之、第91回日本生化学会、京都市、2018
14		「正常上皮細胞と変異細胞に生じる細胞競合」藤田恭之、第77回日本癌学会学術総会、大阪市、2017
15		「Sequential Oncogene Mutations Profoundly Influence the Outcome of Cell Competition」藤田恭之、Cell Competition in Development and Disease, KEYSTONE SYMPOSIA、アメリカ、2019
16		「正常上皮細胞と変異細胞に生じる細胞競合」藤田恭之、第18回日本再生医療学会総会、神戸市、2019
17		「Sequential oncogenic mutations influence the outcome of cell competition」藤田恭之、Cell competition in Development and Disease、ローザンヌ、スイス、2019
18		「正常上皮細胞と変異細胞間に生じる細胞競合」藤田恭之、第92回日本生化学会大会、横浜市、2019

19		「がんにおける代謝」「最先端顕微鏡でがんの本態に迫る」藤田恭之、第78回日本癌学会学術総会、京都市、2019
----	--	--

【図書】 計 ( 0 ) 件

通番	共著の有無*	題名、著者名等**
1		

\* 相手国研究代表者との共著（共同発表）がある場合は○、相手国研究代表者との共著であり謝辞等に事業名を明記している場合は◎と記入。

\*\* 当該発表等を同定するに十分な情報を記載すること。例えば学術論文の場合は、論文名、著者名、掲載誌名、巻号や頁等、発表年（西暦）、学会発表の場合は標題、発表者名、学会等名、発表年（西暦）、著書の場合はその書誌情報、など（順番は入れ替わってもよい）。

\*\*\* 足りない場合は適宜行を追加すること。

10. 今後の展望（今後の国際共同研究・協力体制の維持・発展に向けた展望について、具体性・実現可能性等を踏まえて、継続的に展開していくための計画を記述してください。）

本研究スキームによって推進したスイス側 **Huelsken** 研究室との共同研究によって、互いの研究データをフィードバックさせることによって、大きな相乗効果を得ることができた。今後も、共同研究を継続・発展させることによって、細胞競合研究をさらに昇華させていく予定である。具体的には、世界における *in vivo* がん研究分野の第一人者である **Huelsken** 研究室が作成する新たな細胞競合モデルマウスを日本の藤田研究室に導出することによって、藤田研究室で同定した複数の細胞競合制御候補因子の機能解析を進めていく。このような共同研究を進めるため、そして今後も国際交流を推進するためにも、新たな国際共同研究費の獲得が急務となっている。

<備考>

1. この報告書は、共同研究の全採用期間が終了した翌月末（3月末に終了する場合は翌年度4月30日）までに提出してください。
2. 本会の事業報告等に記載するための適当な図・写真があれば、説明を付して添付してください。
3. この報告書は、本共同研究の成果として本会ウェブサイトに掲載します。また、この報告書を本会の事業報告として刊行する場合、内容に影響しない範囲で修正を行うことがあります。
4. 知的財産権等の事情で本報告書の一部の公開を希望しない場合は、対応についてあらかじめ本会担当者に相談してください。