# 日中韓フォーサイト事業 平成22年度 実施報告書

#### 1. 拠点機関

 日本側拠点機関:
 札幌医科大学

 中国側拠点機関:
 Sun Yat-sen University (中山大学)

 韓国側拠点機関:
 Sookmyung Women's University (淑明女子大学校)

### 2. 研究交流課題名

(和文): 乳癌幹細胞の病理学的性質を規定する microRNA 機構の解明

(交流分野: 癌エピジェネティクス

(英文): \_\_\_\_The microRNA mediated mechanisms underlying the pathological behavior

of breast cancer initiating cells (交流分野: cancer epigenetics )

研究交流課題に係るホームページ:

http://web.sapmed.ac.jp/biochem2/A3%20foresight/index.html

### 3. 開始年度

平成21年度(2年目)

## 4. 実施体制

#### 日本側実施組織

拠点機関: 札幌医科大学

実施組織代表者(所属部局・職・氏名): 理事長・島本和明

研究代表者 (所属部局・職・氏名): 医学部・助教・鈴木 拓

協力機関:

事務組織:札幌医科大学附属産学・地域連携センター

### 相手国側実施組織(拠点機関名・協力機関名は、和英併記願います。)

(1) 中国側実施組織:

拠点機関:(英文) Sun Yat-sen University

(和文) 中山大学

研究代表者(所属部局・職・氏名): (英文) Dept of Breast Surgery, No. 2 Affiliated

Hospital · Professor, Vice president of the hospital · Erwei Song

協力機関:(英文) Shanghai Jiaotong University

(和文) 上海交通大学

#### (2) 韓国側実施組織:

拠点機関:(英文) Sookmyung Women's University

(和文) 淑明女子大学校

研究代表者 (所属部局・職・氏名) : (英文) Department of Biological Science・Professor・

Jong Hoon Park

協力機関:(英文) National Cancer Center

(和文) 国立がんセンター

### 5. 全期間を通じた研究交流目標

癌エピジェネティクス研究は、ポストゲノム時代における最も重要な研究課題のひとつである。癌は遺伝子の疾患であり、遺伝子変異は発癌を引き起こす主要なメカニズムのひとつとされている。近年ではこれに加え、DNAやヒストンのメチル化修飾により遺伝子の転写が抑制されるエピジェネティクス現象が注目されている。代表的なエピジェネティクスの例として、ゲノム上で遺伝子をコードする領域のDNAがメチル化すると、遺伝子の働きが抑制されることが知られている。癌細胞では、癌抑制遺伝子が過剰なメチル化により機能を失う、あるいは癌遺伝子がメチル化低下により活性化するといった現象が頻繁に起きている。

また近年では、蛋白を作らない RNA 分子 (non-coding RNA) の一種である microRNA が、遺伝子制御に重要な役割を担っていることが急速に明らかにされつつある。これまで数百種類の microRNA が発見されており、特に発生・分化や細胞増殖の調節に関わっていると考えられている。癌では正常細胞と比べ、多くの microRNA 発現が変化しており、癌遺伝子あるいは癌抑制遺伝子として機能する microRNA が多数存在すると考えられている。

さらに、癌の増殖は一部の癌幹細胞と呼ばれる細胞が担っていると考えられている。 癌幹細胞の正体については未だ不明な点が多く、他の多くの癌細胞と癌幹細胞を見分けるマーカーを発見するための努力が多くの研究者によりなされている。また、癌幹細胞の性質を規定する遺伝子を明らかにする事も重要である。これらの研究により、癌幹細胞を標的とした治療法の開発が促進されると期待されている。

今回我々は、3カ国においてそれぞれの持ちうる研究技術を共有し、共同研究および 交流の場を設けることで、microRNAとエピジェネティクス、癌幹細胞という近年注目 される分野を結びつけた研究を行うことで、乳癌幹細胞の病態における役割を明らかに し、世界をリードする研究成果を挙げることを目標とした。まず札幌医大では、癌の エピジェネティクス研究において多くの実績を残してきた。これまで、胃癌、大腸癌、肝臓癌、膵臓癌、乳癌、血液腫瘍など様々な癌においてメチル化異常を来す遺伝子を数多く同定し、論文発表を行っている。また、中国の中山大学 Dr Song の研究室では、これまで乳癌幹細胞研究において特定の microRNA が重要な役割を果たすことを世界に先駆けて発表するなど顕著な業績を上げている。さらに韓国の淑明女子大学校の Dr Park は癌の遺伝子プロファイルおよびマーカー研究において著明な成果を挙げている。本プロジェクトでは、これらの機関と共同研究を行うことで、乳癌幹細胞の性質を規定する microRNA を明らかにし、癌幹細胞を標的とした新たな治療法の開発につなげる成果をあげることを目標とする。

また近年では、マイクロアレイや次世代シークエンサーといった新技術による網羅的解析が進歩し、大量の研究データをいかに扱い、新たな知見をその中から探り出していくかという能力が要求される。本研究ではこれら最先端のテクノロジーを積極的に利用することで、網羅的解析時代に対応できる若手研究者の育成を目指す。

また本プロジェクトは、まず乳癌の幹細胞研究を目的としているが、本研究で構築される拠点およびネットワークそして人的つながりは、様々な癌研究においても重要と考えられる。特に、胃癌や大腸癌の幹細胞については未だ不明な点が多く、今回構築される共同研究体制を維持し、有効活用させていきたいと考えている。特に、中国における幹細胞研究技術、札幌医科大学のマイクロアレイ、次世代シークエンサー、エピジェネティクス研究技術を用いることで、今後の癌エピゲノムプロジェクトの推進が可能になると考えられる。さらにエピゲノムプロジェクトについて、アジアは大きく欧米の後塵を拝しているため、今回の事業で構築される拠点体制は重要であると考えられる。

#### 6. 平成22年度研究交流目標

#### 研究協力体制の構築

中国 Sun Yat-Sen 大学の Dr. Song 研究室では近年、乳癌幹細胞の性質をもつ細胞(Tumor-initiating cell:癌源細胞)の単離に成功し、乳癌源細胞の性質を規定するmicroRNA 候補を多数同定している。そこで研究対象とする乳癌源細胞を作成し、マウスを用いた腫瘍形成能の検討を行う。さらに外科切除乳癌検体を提供する。韓国Sookmyung Women's University の Dr. Park 研究室細胞の遺伝子発現プロファイリング解析およびマーカー探索の研究を行う。韓国 National Cancer Center の Dr. Lee 研究室では最新のゲノム・エピゲノム解析ツールが整備されており、大規模な臨床検体の遺伝子解析を担当する。札幌医科大学では、これまで癌エピジェネティクス解析の経験を豊富に持ち、パイロシークエンサーおよび次世代シークエンサーSOLiD3plus を設置している事からエピゲノム解析拠点を担当する。

#### 学術的観点

本研究では、microRNA およびエピゲノム解析を通して癌幹細胞の性質を規定する仕組みを明らかにすることを目的としている。中山大学 Dr. Song の研究室では、近年、乳癌幹細胞の性質をもつ細胞(Tumor-initiating cell:癌源細胞)の単離に成功し、乳癌源細胞の性質を規定すると考えられる microRNA 候補を多数明らかにしている。札幌医科大学では、癌細胞における microRNA の発現を調節する上で、DNA メチル化やヒストンメチル化などのエピジェネティックな修飾がどのように関わっているのかを明らかにしつつある。これらを組み合わせることで、癌幹細胞の本質を明らかにすることが出来るのみならず、新たながん治療戦略の基礎となる知見を得ることが期待される。

#### 若手研究者養成

中国および韓国の若手研究者  $1\sim2$ 名をそれぞれ日本に短期間  $(2\sim4$  週間) 受け入れ、共同研究を行う。これにより日本側研究拠点の持つ技術および設備による共同研究を強力に推進する事ができる。さらに日本側若手研究者が中韓の研究者とコミュニケートしながら共同研究を行う機会を得ることができる。また韓国、中国で行われるセミナーおよび共同研究会議に日本側若手研究者を  $5\sim10$  名派遣し、国際セミナーや会議での発表の機会を設ける。

### 7. 平成22年度研究交流成果

#### 7-1 研究協力体制の構築状況

Dr. Song 研究室より提供された正常乳腺および乳癌検体のエピゲノム解析を行うため、 平成 22 年 5 月に中国 San Yat-Sen 大学の Dr. Song 研究室より大学院生 1 名が札幌医大へ派遣され、約 3 週間にわたって共同でエピゲノム解析実験を行った。この実験において札幌医大は次世代シークエンサーを用いたエピゲノム解析プラットフォームを提供した。

Sookmyung Women's University の Dr. Park 研究室では、遺伝子プロファイル解析から新たな乳癌関連遺伝子を同定した。この遺伝子に関する共同研究を行うため、平成 22 年 7 月に Dr. Park 研究室より大学院生 2 名が札幌医大へ派遣された。共同研究の結果、新規乳癌関連遺伝子とエピジェネティクスに関する新たな知見が得られた。

平成22年12月、札幌医大より研究代表者(鈴木)が韓国Sookmyung Women's 大学および Yonsei 大学へ派遣され、共同研究および講演を行った。Yonsei University では大学院セミナーにおいて講義を行い、若手研究者育成に貢献した。

さらに平成22年11月に中国広州、平成23年2月に韓国済州島において共同研究に関する会議を開催した。各国から研究代表者および多数の若手研究者が参加し、研究進捗状況の報告、実験データについてのディスカッション、および今後の研究方針について意見交換を行った。

#### 7-2 学術面の成果

乳癌の癌幹細胞性質を規定する microRNA を同定するため、microRNA 発現プロファイルおよび乳癌細胞のエピゲノムを網羅的に解析することが必須である。この目的を達成するため、札幌医大の次世代シークエンサーを用いて、中国 San Yat-Sen 大学 Dr. Song 研究室が提供した正常乳腺細胞および乳癌細胞のゲノム DNA メチル化プロファイルを解析した。これにより乳癌細胞エピゲノムの把握が可能となり、microRNA 遺伝子のエピジェネティックな制御の解明が加速される。シークエンス実験は無事完了し、現在データの解析が進行中である。

韓国 Sookmyung Women's 大学 Dr. Park 研究室では新規乳癌関連遺伝子を同定した。この遺伝子は乳癌発癌において重要な役割を担っていると考えられ、新たな乳癌診断および治療標的としての応用が期待されている。札幌医大におけるメチル化解析実験によって、この遺伝子が DNA メチル化により制御されている事が明らかとなった。乳癌におけるメチル化の頻度や、遺伝子機能について現在さらに共同研究が進められている。

札幌医大では癌細胞のヒストン修飾を網羅的に解析し、癌においてエピジェネティックに不活化される microRNA 遺伝子を多数同定した。ヒストン修飾プロファイルと DNA メチル化プロファイルを統合することで、癌関連 microRNA の同定を飛躍的に加速できると期待される。

#### 7-3 若手研究者養成

本研究には札幌医科大学の大学院生 5 名、若手研究者(助教)が 3 名参加している。また国内の協力研究者として、聖マリアンナ医科大学より若手研究者 2 名、愛知県がんセンター研究所より大学院生 3 名が参加している。中国 San Yat-Sen 大学との共同実験で次世代シークエンサー解析を行った際、札幌医大の若手研究者を参加させ実験手技の指導を行った。また、韓国済州島でのセミナーおよび中国広州での会議の際に、札幌医大の若手研究者および国内の若手協力研究者を多数参加させ、英語によるプレゼンテーションおよびディスカッションの機会を設けた。

平成 22 年 5 月および 7 月に、中国 San Yat-Sen 大学および韓国 Sookmyung Women's 大学から若手研究者が札幌医大に派遣された際、ラボミーティングにおいて日中韓の若手研究者によるデータ発表およびディスカッションを行った。

平成 22 年 12 月には、札幌医科大学の研究代表者(鈴木)が、韓国側研究協力者である Dr. Hyoung-Pyo Kim (Yonsei 大学)の招聘により、同大学の大学院セミナーにおいて癌エピジェネティクスに関する講演を行った。この講演を通して、韓国側の若手研究者との討議の機会を得ると共に若手研究者の教育に貢献した。

#### 7-4 社会貢献

癌は日本人における死亡原因第一位の疾患であり、高齢化社会が進行する中で、的確な診断法,優れた治療法のさらなる開発が求められている。本研究では、microRNAとエピジェネティクスの解析を通して新たな癌診断・治療法につなげることで社会に貢献することを目指している。平成22年度には、乳癌エピゲノム解析および新規乳癌関連遺伝子の発見など、研究上の推進を行うことで目標達成を目指した。また、ホームページ上で研究交流についての情報発信を行った。

#### 7-5 今後の課題・問題点

本年度の研究では予定していたエピゲノム解析をほぼ完了することが出来たが、その後の検討により、更なる研究成果を得るために追加のシークエンス実験が必要と判断された。研究者の相互派遣をより活発にし、共同研究をさらに推進していくことが必要と考えられた。またホームページの内容をさらに充実させるなど、一般への情報公開および社会貢献活動を推進することが必要と考えられた。また本研究では培養細胞、DNAなどのバイオマテリアルを主な解析対象とするため、日中韓の間での研究試料のやりとりに苦労することがあった。具体例として、郵送に予定より時間がかかったためドライアイスが枯渇して試料を損なってしまい、再発送が必要になることがあった。

#### 7-6 本研究交流事業により発表された論文

平成22年度論文総数 4本

うち、相手国参加研究者との共著 0本

うち、本事業が JSPS の出資によることが明記されているもの 2本

# 8. 平成22年度研究交流実績概要

#### 8-1 共同研究

平成22年5月、San Yat-Sen大学 Dr. Song 研究室より大学院生1名が札幌医大へ派遣され、約3週間にわたり次世代シークエンサーを用いた乳癌のDNAメチル化異常の解析実験を行った。この実験では正常乳腺および乳癌培養細胞のゲノムにおけるDNAメチル化プロファイルを作成することを目的としている。これにより乳癌におけるメチル化異常を網羅的に把握することが可能となり、microRNA遺伝子のエピジェネティックな制御を明らかにするために必要なデータを得ることができる。シークエンス実験は同年8月に完了し、現在データの解析が進行中である。

平成22年7月にはSookmyung Women's 大学のDr. Park 研究室より大学院生2名が札幌医

大へ派遣され、共同研究を行った。Dr. Park の研究室では乳癌細胞においてエピジェネティックに制御される新規癌関連遺伝子の解析を進めており、札幌医大においてメチル化および遺伝子発現実験を行った。この遺伝子は乳癌発癌において重要な役割を担っていると考えられ、新たな乳癌診断および治療標的としての応用が期待されている。今回の共同研究において、この遺伝子が乳癌において DNA メチル化により制御されている事が明らかとなった。乳癌におけるメチル化異常の頻度、遺伝子の機能、臨床的意義などについて、現在さらに共同研究を進めている。

平成22年10月に中国広州、平成23年2月には韓国済州島において、A3フォーサイト 共同研究会議を開催した。日中韓の研究代表者および主要な研究者が出席し、共同研究の 進捗状況についての発表・討議を行った。また日中韓それぞれのグループから大学院生お よび若手研究者が参加し、研究発表および質疑応答を行った。

#### 8-2 セミナー

平成 22 年 6 月に韓国済州島において A3 フォーサイト癌エピジェネティクスセミナーを 開催した。セミナーでは日中韓の研究代表者および主要な研究メンバーが出席し、それぞれの研究室における最新の研究状況について報告した。日本からは札幌医大、聖マリアンナ医科大学、愛知県がんセンターから 12 名が参加し、演題発表および質疑応答を行った。またこのセミナーはアジアエピゲノムミーティングとの同時開催であり、東アジアのエピジェネティクス研究者が多数参加し、討議および情報交換を行うことができた。

セミナーの概要は以下の通りである。

- Dr. Yao: エピジェネティックな遺伝子制御におけるヒストン脱メチル化酵素の役割
- Dr. Song: 乳癌における microRNA の意義
- Dr. Seo: 乳癌の薬剤耐性と microRNA の関連
- Dr. Woo: 多発性嚢胞腎における DNA メチル化異常
- 山本:癌における CpG アイランドメチル化形質
- 渡邊: DNAメチル化異常の癌早期診断への応用
- 近藤:DNAメチル化の消化器癌における臨床的意義

#### 8-3 研究者交流(共同研究、セミナー以外の交流)

該当なし。

# 9. 平成22年度研究交流実績人数・人日数

# 9-1 相手国との交流実績

	派遣先	日本	中国	韓国	合計
派遣元		〈人/人目〉	〈人/人目〉	〈人/人日〉	口前
日本	実施計画		5/15	12/24	17/39
〈人/人日〉	実績		4/16	17/54	21/70
中国	実施計画	2/60		(6/40)	2/60 (6/40)
〈人/人日〉	実績	1/18		(8/58)	1/18 (8/58)
韓国	実施計画	1/14	(6/40)		1/14(6/40)
〈人/人日〉	実績	2/6	(8/32)		2/6(8/32)
合計	実施計画	3/74	5/15(6/40)	12/24(6/40)	20/113 (12/80)
〈人/人日〉	実績	3/24	4/16 (8/32)	17/54 (8/58)	24/94 (16/90)

※各国別に、研究者交流・共同研究・セミナーにて交流した人数・人日数を記載してください。(なお、記入の仕方の詳細については「記入上の注意」を参考にしてください。) ※日本側予算によらない交流についても、カッコ書きで記入してください。(合計欄は()) をのぞいた人・日数としてください。)

## 9-2 国内での交流実績

実施計画	実 績
10/50 〈人/人日〉	18/55 〈人/人日〉

# 10. 平成22年度研究交流実績状況

# 10-1 共同研究

一研究課題ごとに作成してください。

整理番号	R-	一1 研究開始年度		更 平成 21 年	平成 21 年度 研究		了年度	平成	24 年度
研究課題名		(和文)	乳癌幹細胞	の病理学的性	)病理学的性質を規定する microRNA 機構の解明				
		(英文)The microRNA mediated mechanisms underlying the						he	
		pathological behavior of breast cancer initiating cells							
日本側代	表	(和文)鈴木 拓・札幌医科大学・助教							
者		(英文) Hiromu Suzuki·Sapporo Medical University·Assistant professor					ant professor		
氏名・所属	•								
職									
相手国側	代	Erwei S	Song • Sun Y	at-sen Unive	ersity	Profes	sor		
表者		Jong Ho	oon Park • S	ookmyung V	Vomen	's Univ	ersity • Pr	ofess	sor
氏名・所属	•								
職									
交流人数		① 相手	国との交流						
(※日本側	予		派遣先	日本	中	国国	韓国		計
算によらな	1	派遣元		〈人/人目〉	〈人/	/人目>	〈人/人目	>	〈人/人目〉
交流につい	て	日本	実施計画		5/15		0/0		5/15
も、カッコ書	き	〈人/人日〉	実績		4/16		5/17		9/33
で記入の	Ĺ	中国	実施計画	2/60			(1/30)		2/60 (1/30)
と。)		〈人/人目〉	実績	1/18			(5/46)		1/18 (5/46)
		韓国	実施計画	1/14	(6/40	0)			1/14(6/40)
		〈人/人目〉	実績	2/6	(8/32	2)			2/6 (8/32)
		合計	実施計画	3/74	5/15	(6/40)	0/0(1/30	)	8/89 (7/70)
		〈人/人目〉	実績	3/24	4/16	(8/32)	5/17(5/4	6)	12/57 (13/78)
		② 国内での交流 18 人/55 人日							
2 2 年度	0)	中国より大学院生が札幌医大へ派遣され、研究発表およびエピゲノム解析の							
研究交流	活	共同実験を行った。韓国より大学院生が札幌医大へ派遣され、研究発表およ							
動		び共同研究を行った。日本より中国および韓国へ研究者派遣を行い、共同研							
		究および若手研究者に対するレクチャーを行った。							
研究交流	活	次世代シークエンサーを用い、乳癌検体におけるエピゲノム解析実験を行っ							
動成果		た。また新規乳癌関連遺伝子のメチル化異常を発見した。さらに癌細胞にお							
		ける microRNA 遺伝子のエピジェネティックな異常をゲノムワイドに解析							
		した(論文投稿中)。							

日本側参加者数	
24 名	(13-1 日本側参加者リストを参照)
中国側参加者数	
12 名	(13-2 中国側参加研究者リストを参照)
韓国側参加者数	
13 名	(13-3 韓国側参加研究者リストを参照)

# 10-2 セミナー

一実施したセミナーごとに作成してください。-

整理番号	S-1
セミナー名	(和文) JSPS A3 フォーサイト癌エピジェネティクスセミナー
	2010
	(英文) JSPS A3 foresight cancer epigenetics seminar 2010
開催時期	平成 22 年 6 月 21 日 ~ 平成 22 年 6 月 21 日 (1 日間)
開催地(国名、都市名、	(和文) 韓国、済州島、ヘビチリゾートホテル
会場名)	(英文)Korea, Jeju island, Haevichi Resort Hotel
日本側開催責任者	(和文) 鈴木 拓・札幌医科大学・助教
氏名・所属・職	(英文) Hiromu Suzuki • Sapporo Medical University • Assistant
	professor
相手国側開催責任者	Jong-Hoon Park • Sookmyung Women's University • Professor
氏名・所属・職	
(※日本以外で開催の場合)	

## 参加者数

派遣先	セミナー開催国		
派遣元	(韓国)		
	A.	12/37	
日本	В.	0	
〈人/人日〉	C.	0	
	A.	0	
中国	B.	0	
〈人/人日〉	C.	3/12	
	A.	0	
韓国	В.	0	
〈人/人日〉	C.	10/30	
	A.	12/37	
合計	B.	0/0	
〈人/人目〉	C.	13/42	

# A.セミナー経費から負担

- B.共同研究・研究者交流から負担
- C.本事業経費から負担しない(参加研究者リストに記載されていない研究者は集計しないでください。)

. L. S. J	四个日生	W # 01 #	- 0. b > .1 > .1 H	1 中央のタガのウンドケケー マン・グ	٠.٠٠٠ <del>د</del> برد.		
		, , , , ,	Z成 21 年のセミナーでは日中韓の各研究室が近年行ってきた研究				
			果について報告することで、各研究室の得意分野や技術的・設備				
的		的リソース	リソースを把握することができた。今回のセミナーでは、共同研				
		究をより	をより発展させるために、癌エピジェネティクスおよび				
		microRN	A に関する最新の	研究成果を発表するとともに今後の	研		
		究方針に	究方針に関する意見・情報交換を行う。				
セミナーの	成果	A3フォー	サイト参加研究者	25名(日本 12名、韓国 10名、中国	3		
		名) が出席	名) が出席した。発表演題数は7題と少なめであったが、各演題に				
		ついて十分	分な発表時間と討論	倫時間を確保したため、活発な討論が	行		
		われた。	寅題は、癌エピジュ	ェネティクス、microRNA、癌幹細胞	1,		
		およびそれ	およびそれらの臨床応用に関する研究内容が発表され、セミナー参				
		加者にとって有益な情報を得ることができた。さらに今回は第5回					
		アジアエロ	アジアエピゲノムミーティングとの合同開催であったため、A3 フ				
		ォーサイ	ォーサイトメンバー以外にも多数のエピジェネティクス研究者が				
		参加し、記	討議および情報交換	奥を行うことができた。			
		セミナー会	セミナー会長: Jong-Hoon Park (Sookmyung Women's 大学)				
		セミナー事務局:Hyoung-Pyo Kim(Yonsei 大学)					
		セミナー日本側事務局:鈴木 拓(札幌医科大学)					
				77 (1-25-11)			
開催経費	日本側	内容	外国旅費	金額 1,215,950 円			
分担内容	7	1.4.1	7 1 HADA	1,210,000   1			
と金額	中国側	内宏	外国旅費	金額 400,000 円			
○巫帜		r i A	/ 百四州县	77.11× ₹00,000   1			
	韓国側	内容	会場・会議費	金額 500,000 円			
			国内旅費	金額 1,000,000 円			
		•					

# 10-3 研究者交流(共同研究、セミナー以外の交流)

計画通り研究者交流は実施しなかった。

# 11. 平成22年度経費使用総額

	経費内訳	金額 (円)	備考
研究交流経費	国内旅費	1,601,570	
	外国旅費	2,081,780	
	謝金	0	
	備品・消耗品購入費	3,284,750	
	その他経費	31,900	
	外国旅費・謝金に係 る消費税	0	
	計	7,000,000	
委託手数料		700,000	
É	計	7,700,000	

# 12. 四半期毎の経費使用額及び交流実績

	経費使用額(円)	交流人数〈人/人日〉
第1四半期	2,079,380	22/80
第2四半期	2,089,209	9/30
第3四半期	1,695,893	7/24
第4四半期	1,135,518	4/15
計	7,000,000	42/149