

日中韓フォーサイト事業 平成25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](http://web.sapmed.ac.jp/biochem2/A3%20foresight/index.html)

3. 採用期間

平成21年 8月 1日～平成26年 7月31日

(5年度目)

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・教授・鈴木 拓

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) Breast Tumor Center, Sun Yat-sen Memorial 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. 研究交流目標

5-1. 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う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 Sun Yat-Sen University の 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 Sookmyung Women's University 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ケ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、次世代シーケンサー、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。

5-2. 平成25年度研究交流目標

研究協力体制の構築

これまで構築した研究協力体制を継続・発展させることを目指す。中国 Sun Yat-sen University 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。さらに同定した microRNA の機能および治療薬としての有用性の検証が進行している。これらの microRNA リストおよび機能解析データを日本および韓国に提供する。韓国 Sookmyung Women's University の Dr. Park 研究室は、同定した新規乳癌関連遺伝子の機能解析を担当し、その結果を中国・日本へ提供する。さらに韓国国立がんセンターは、MassARRAY によるメチル化解析プラットフォームを提供する。札幌医科大学は癌エピジェネティクス解析の経験を豊富に持ち、パイロシーケンサーおよび次世代シーケンサー SOLiD4 を設置している。そこでパイロシーケンスによるハイスループットな DNA メチル化解析および SOLiD4 を用いた網羅的な DNA メチル化・ヒストン修飾解析を担当する。日中韓での研究協力体制を円滑にするため、年 3 回のセミナーあるいは全

体会議を開催する。

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。中国 Sun Yat-Sen University の Dr. Song の研究室では、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、それらの microRNA の機能解析を進めている。韓国 Sookmyung Women's University の Dr. Park 研究室では新規乳癌関連遺伝子を同定し、さらにその遺伝子の調節にエピジェネティクスが関与することを明らかにした。また韓国国立がんセンターの Dr. Lee 研究室では、新規癌関連遺伝子を同定し、その遺伝子が癌においてエピジェネティックに不活化されることを明らかにしつつある。札幌医科大学では、癌細胞のエピゲノム解析を通して、microRNA の発現調節におけるエピジェネティックな機構の解明に取り組んでいる。本年度は、これらの研究をさらに推進し、(1) 新規の乳癌関連遺伝子および microRNA の同定、(2) これまで同定した癌関連遺伝子に関する論文の発表を目指す。

若手研究者養成

今年度は日本から韓国へ研究者 5 名を派遣し、共同研究を行う。日本側若手研究者が中国・韓国の研究者とコミュニケーションしながら共同研究を行う機会を得ることができる。また、派遣先の研究室において研究データの発表および討論を行うことで、プレゼンテーションの現地訓練を行う。さらに今年度は、日本および中国においてセミナーを開催することで、若手研究者の発表および討論の機会を確保することを目指す。

6. 平成 25 年度研究交流成果

(交流を通じての相手国からの貢献及び相手国への貢献を含めてください。)

6-1 研究協力体制の構築状況

平成 25 年度は、日本および中国においてセミナーを開催した。まず 6 月に中国において A3 フォーサイト癌エピジェネティクスセミナー2013 を開催した。このセミナーには、日中韓フォーサイト研究者 25 名が出席し、さらにフォーサイト事業参加研究者以外に中国人研究者 15 名が参加し、活発な討論が行われた。また 10 月に札幌において「札幌癌エピジェネティクスセミナー2013」を開催し、日中韓合わせて 39 名の研究者が参加した。平成 26 年 3 月に、韓国において A3 フォーサイト共同研究会議を開催した。この会議では日中韓の全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。以上のように、複数回の共同研究・セミナー開催・会議を通して、研究協力体制を構築・維持した。

6-2 学術面の成果

平成 22～23 年度に中国 Sun Yat-sen 大学が提供した乳癌検体を対象に、札幌医大のシーケンサーを用いて DNA メチル化の網羅的な解析を行った。平成 24 年度に、得られたシーケンズデータをもとに Chinese Academy of Sciences-Max Planck Partner Institute for Computational Biology の Dr. Han 研究室でパイオインフォマティクス解析を行い、乳癌におけるメチル化候補遺伝子リストを作成した。これをもとに平成 26 年度は、札幌医大において候補遺伝子のメチル化解析実験を行った。40 個の候補遺伝子についてメチル化解析用のプライマーセットを設計し、パイロシーケンサーを用いてメチル化解析を行った。正常組織および乳癌におけるメチル化の比較解析を行うことで、乳癌関連遺伝子の絞り込みを行った。中国 Sun Yat-sen 大学 Dr. Song 研究室において、同定した遺伝子の機能解析実験を行った。

韓国国立がんセンターの Dr. Lee のグループとの共同研究で同定した癌関連遺伝子 ADCY3 について、発現解析および機能解析を行い論文発表した(Oncotarget, 2013)。

札幌医科大学では、癌エピジェネティック異常と microRNA に関する研究を進めているが、平成 25 年度にはその成果を論文発表した。まず癌においてエピジェネティクス異常を来す microRNA 遺伝子を複数同定し、これらが新たな腫瘍マーカーとなり得ることを報告した(Eur Urol, 2013)。また miR-34b/c 遺伝子のエピジェネティクス異常が発癌リスク予測マーカーとなりうることを報告した(J Gastroenterol, 2013)。さらに microRNA 遺伝子と癌について、これまでの知見をまとめた総説を発表した(Front Genet, 2013)。

6-3 若手研究者育成

本研究には札幌医科大学の大学院生および若手の助教が参加している。さらに国内の協力研究者として、聖マリアンナ医科大学および愛知県がんセンターから大学院生・助教が参加している。札幌および中国でのセミナーや、韓国での会議の際に、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。また、各セミナーにおいて教授および部長クラスの研究者が教育講演を行うことで、日中韓の大学院生・若手研究者の教育に貢献した。

6-4 その他（社会貢献や独自の目的等）

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 25 年度には、癌関連 microRNA 遺伝子のメチル化によるがん診断法の開発に関する研究や、乳癌関連遺伝子の機能解析することで新たな乳癌治療法につな

る研究を行った。

6-5 今後の課題・問題点

本年度は、予定していた実験および解析を行い、国際共同研究成果の一つを論文発表することができた。しかし論文発表を予定していたもう一遍の論文については、投稿した学術ジャーナルの査読の結果、掲載されるためには追加データが必要と判定され、今後のさらに研究が必要である。

6-6 本研究交流事業により発表された論文

平成25年度論文総数 5本

相手国参加研究者との共著 1本

(※ 「本事業名が明記されているもの」を計上・記入してください。)

(※ 詳細は別紙「論文リスト」に記入してください。)

7. 平成25年度研究交流実績状況

7-1 共同研究

整理番号	R-1	研究開始年度	平成21年度	研究終了年度	平成26年度
研究課題名	(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				
	(英文) The microRNA mediated mechanisms underlying the pathological behavior of breast cancer initiating cells				
日本側代表者 氏名・所属・職	(和文) 鈴木 拓・札幌医科大学・教授				
	(英文) Hiromu Suzuki・Sapporo Medical University・Professor				
相手国側代表者 氏名・所属・職	(英文) Erwei Song・Sun Yat-sen University・Professor				
	Jong-Hoon Park・Sookmyung Women's University・Professor				
参加者数	日本側参加者数	29名			
	中国側参加者数	27名			
	韓国側参加者数	39名			
25年度の研究 交流活動	<p>これまでに行った実験で得られたエピゲノムデータのバイオインフォマティクス解析を元に癌関連候補遺伝子の解析を進めた。札幌医大ではパイロシーケンサーを用いたメチル化解析を実施した。中国 Sun Yat-sen 大学では遺伝子・microRNA の機能解析を行った。韓国においては遺伝子・microRNA の発現解析を行った。韓国において共同研究会議を開催し、日中間の研究代表者および主要研究者が参加し、進捗状況の報告および今後の共同研究についての討議を行った。</p>				
25年度の研究 交流活動から得 られた成果	<p>札幌医大においてパイロシーケンサーを用いた遺伝子メチル化解析を行い乳癌関連遺伝子の絞り込みを行った。中国 Sun Yat-sen 大学において遺伝子機能解析実験を行った。韓国国立がんセンターの Dr. Lee のグループとの共同研究で同定した癌関連遺伝子 ADCY3 について、発現解析および機能解析を行い論文発表した。また、癌エピジェネティック異常と microRNA に関する研究結果を論文および総説として発表した。</p>				

7-2 セミナー

整理番号	S-1
セミナー名	(和文) 日本学術振興会日中韓フォーサイト事業「合肥癌エピジェネティクスセミナー2013」 (英文) JSPS A3 Foresight Program “Hefei Cancer Epigenetics Seminar 2013“
開催期間	平成25年 6月14日 ~ 平成25年 6月16日 (3日間)
開催地(国名、都市名、会場名)	(和文) 中国、合肥、安徽省癌病院 (英文) China, Hefei, Anhui Provincial Cancer Hospital
日本側開催責任者 氏名・所属・職	(和文) 鈴木 拓・札幌医科大学・教授 (英文) Hiromu Suzuki・Sapporo Medical University・Professor
相手国側開催責任者 氏名・所属・職 (※日本以外で開催の場合)	(英文) Erwei Song・Sun-Yat sen University・Professor

参加者数

派遣先 派遣		セミナー開催国 (中国)
日本 〈人／人日〉	A.	5/ 25
	B.	
中国 〈人／人日〉	A.	11/ 44
	B.	15
韓国 〈人／人日〉	A.	9/ 36
	B.	
合計 〈人／人日〉	A.	25/ 105
	B.	15

A. 本事業参加者（参加研究者リストの研究者等）

B. 一般参加者（参加研究者リスト以外の研究者等）

※日数は、出張期間（渡航日、帰国日を含めた期間）としてください。これによりがたい場合は、備考欄を設け、注意書きを付してください。

セミナー開催の目的	<p>本セミナーでは共同研究を発展させるために、癌エピジェネティクスおよび microRNA に関する最新の研究成果を発表するとともに、今後の研究方針に関する意見・情報交換を行う。セミナーには日中韓の A 3 代表研究者全員が参加して研究の進捗状況を報告するとともに、若手研究者にも演題発表の機会を持たせることで、研究者交流を深めることを目指す。また A 3 参加メンバー以外にも関連分野の中国研究者を招き、講演および討議に参加していただくことを目指す。</p>		
セミナーの成果	<p>各研究グループの研究結果を報告することで共同研究全体の進捗状況を把握できた。また若手研究者にも演題発表させることで、国際セミナーでの発表経験を積み、日中韓の研究者交流を行うことができた。本セミナーにより癌エピジェネティクス、癌分子生物学、そしてそれらの臨床応用など最新の知見を得ることができた。今後の研究推進に向けた新たなアイデアおよび人脈形成につながることを期待される。</p>		
セミナーの運営組織	<p>セミナー会長：Erwei Song (Sun Yat-Sen University) 事務局：Jianing Chen (Sun Yat-Sen University) 日本側連絡先：鈴木 拓 (札幌医科大学)</p>		
開催経費分担内容と金額	日本側	内容 外国旅費	金額 800,000 円
	中国側	内容 会議費	金額 800,000 円
		国内旅費	1,000,000 円
		合計	1,800,000 円
韓国側	内容 外国旅費	金額 800,000 円	

整理番号	S-2
セミナー名	(和文) 日本学術振興会日中韓フォーサイト事業「札幌癌エピジェネティクスセミナー2013」
	(英文) JSPS A3 Foresight Program “Sapporo Cancer Epigenetics Seminar 2013“
開催期間	平成25年10月18日 ~ 平成25年10月21日 (3日間)
開催地(国名、都市名、会場名)	(和文) 日本、札幌、ホテルロイトン札幌
	(英文) Japan, Sapporo, Hotel Royton Sapporo
日本側開催責任者 氏名・所属・職	(和文) 鈴木 拓・札幌医科大学・教授
	(英文) Hiromu Suzuki・Sapporo Medical University・Professor
相手国側開催責任者 氏名・所属・職 (※日本以外で開催の場合)	(英文)

参加者数

派遣先 派遣	セミナー開催国 (日本)	
	A.	B.
日本 〈人/人日〉	A.	18/ 42
	B.	4
中国 〈人/人日〉	A.	8/ 31
	B.	
韓国 〈人/人日〉	A.	13/ 52
	B.	
合計 〈人/人日〉	A.	39/ 125
	B.	4

A. 本事業参加者 (参加研究者リストの研究者等)

B. 一般参加者 (参加研究者リスト以外の研究者等)

※日数は、出張期間 (渡航日、帰国日を含めた期間) としてください。これによりがたい場合は、備考欄を設け、注意書きを付してください。

セミナー開催の目的	<p>本セミナーでは、癌エピジェネティクスおよび microRNA に関する最新の研究成果を発表するとともに、今後の研究方針に関する意見・情報交換を行う。セミナーには日中韓のA3代表研究者全員が参加して研究の進捗状況を報告するとともに、大学院生など若手研究者にも演題発表の機会を持たせることで、研究者交流を深めることを目的とする。またA3参加メンバー以外にも関連分野の日本国内の研究者を招き、講演および討議に参加していただくことを目指す。</p>		
セミナーの成果	<p>各研究グループの研究結果を報告することで共同研究全体の進捗状況を把握することができた。また若手研究者にも演題発表させることで、国際セミナーでの発表経験を積み、日中韓の研究者交流を行うことができた。本セミナーにより癌エピジェネティクス、癌分子生物学、そしてそれらの臨床応用など最新の知見が発表された。さらに今回、韓国から新たにゲノム解析研究者および幹細胞研究者が参加して発表および討論に加わることで、今後の研究推進に向けた新たなアイデアを得ることができた。</p>		
セミナーの運営組織	<p>セミナー会長：鈴木 拓（札幌医科大学） 事務局：丸山玲緒（札幌医科大学） 中国側連絡先：Erwei Song (Sun-Yat sen University) 韓国側連絡先：Jong-Hoon Park (Sookmyung Women's University)</p>		
開催経費分担内容と金額	日本側	内容 会議費	金額 800,000 円
		国内旅費	1,100,000 円
			合計 1,900,000 円
	中国側	内容 外国旅費	金額 1,200,000 円
	韓国側	内容 外国旅費	金額 1,300,000 円

7-3 研究者交流（共同研究、セミナー以外の交流）

平成25年は実施しなかった。

8. 平成25年度研究交流実績総人数・人日数

8-1 相手国との交流実績

派遣先 派遣元	四半期	日本	中国	韓国		合計
日本	1		5/ 25 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)	()	5/ 25 (0/ 0)
	2		0/ 0 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)	()	0/ 0 (0/ 0)
	3		0/ 0 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)	()	0/ 0 (0/ 0)
	4		0/ 0 (0/ 0)	9/ 34 (0/ 0)	()	9/ 34 (0/ 0)
	計		5/ 25 (0/ 0)	9/ 34 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)	14/ 59 (0/ 0)
中国	1	0/ 0 (0/ 0)		0/ 0 (0/ 0)	()	0/ 0 (0/ 0)
	2	0/ 0 (0/ 0)		0/ 0 (0/ 0)	()	0/ 0 (0/ 0)
	3	8/ 31 (0/ 0)		0/ 0 (0/ 0)	()	8/ 31 (0/ 0)
	4	0/ 0 (0/ 0)		0/ 0 (8/ 36)	()	0/ 0 (8/ 36)
	計	8/ 31 (0/ 0)		0/ 0 (8/ 36)	0/ 0 (0/ 0)	8/ 31 (8/ 36)
韓国	1	0/ 0 (0/ 0)	0/ 0 (9/ 36)		()	0/ 0 (9/ 36)
	2	0/ 0 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)		()	0/ 0 (0/ 0)
	3	13/ 52 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)		()	13/ 52 (0/ 0)
	4	0/ 0 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)		()	0/ 0 (0/ 0)
	計	13/ 52 (0/ 0)	0/ 0 (9/ 36)		0/ 0 (0/ 0)	13/ 52 (9/ 36)
	1	()	()	()		0/ 0 (0/ 0)
	2	()	()	()		0/ 0 (0/ 0)
	3	()	()	()		0/ 0 (0/ 0)
	4	()	()	()		0/ 0 (0/ 0)
	計	0/ 0 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)		0/ 0 (0/ 0)
合計	1	0/ 0 (0/ 0)	5/ 25 (9/ 36)	0/ 0 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)	5/ 25 (9/ 36)
	2	0/ 0 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)
	3	21/ 83 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)	21/ 83 (0/ 0)
	4	0/ 0 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)	9/ 34 (8/ 36)	0/ 0 (0/ 0)	9/ 34 (8/ 36)
	計	21/ 83 (0/ 0)	5/ 25 (9/ 36)	9/ 34 (8/ 36)	0/ 0 (0/ 0)	35/ 142 (17/ 72)

※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。）

※本事業経費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。

8-2 国内での交流実績

1	2	3	4	合計
4/ 10 (0/ 0)	0/ 0 (0/ 0)	25/ 63 (0/ 0)	1/ 2 (0/ 0)	30/ 75 (0/ 0)

9. 平成25年度経費使用総額

(単位 円)

	経費内訳	金額	備考
研究交流経費	国内旅費	1,982,250	国内旅費、外国旅費の合計は、研究交流経費の50%以上であること。
	外国旅費	1,521,140	
	謝金	0	
	備品・消耗品 購入費	2,064,098	
	その他の経費	1,001,455	
	外国旅費・謝 金等に係る消 費税	81,057	
	計	6,650,000	研究交流経費配分額以内であること。
業務委託手数料		665,000	研究交流経費の10%を上限とし、必要な額であること。また、消費税額は内額とする。
合 計		7,315,000	