

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24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、ビデオで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手がける。</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、がん抑制タンパク質 p53 ドミナントネガティブ変異体をテトラサイクリン依存性に発現する MDCK pTR p53-DN 細胞を確立した。この細胞を用いて研究を進めた結果、正常上皮細胞と p53 変異細胞の間で生存を争う細胞競争が起こり、p53 変異細胞がネクロプトーシスによって細胞死を起こし、上皮細胞層から基底膜側に除かれることが明らかとなった。</p> <p>2) 平成23年度に Src 変異細胞に隣接する正常上皮細胞に vimentin と filamin が蓄積していることを見いだしたが、さらに filamin が vimentin の上流で機能し Src 変異細胞を上皮細胞層から押し出す現象に大きな役割を果たしていることを示した。この研究成果は現在論文投稿中である。さらに、SILAC などの生化学的スクリーニングにて、正常細胞に取り囲まれた変異細胞内で Rab5、caveolin、EPLIN、TSG101 など複数のタンパク質が集積し、変異細胞の動態に大きな影響を与えることが明らかになってきた。</p> <p>3) 以下の3点について順調に研究が進捗した。 (i) 腸上皮細胞特異的あるいは腸幹細胞特異的ながんタンパク質 RasV12 が発現する遺伝子組換えマウス</p>
--

様式19 別紙1

を繁殖可能な体制を整えた。

(ii)マウス小腸のオルガノイド培養を用い、各マウスの培養小腸において、タモキシフェン誘導性にモザイク状の Ras 変異細胞を発生させる手技を確立した。これにより、がん超初期段階に生じる「正常上皮細胞シートにごく少数の腫瘍性変異細胞を発生させる」という状況を、マウス小腸において忠実に再現することが可能となった。(iii)Vil-CreER;LSL-RasV12-eGFP マウスの小腸組織培養において、少数の Ras 変異細胞をモザイク状に発生させた後、変異細胞の挙動を共焦点顕微鏡を用いて観察した。がん発生初期を模倣したこの系において、変異細胞が小腸上皮の管腔側へ押し出されながら排除されていくのが観察された。このことは、周囲の正常上皮組織によって変異細胞が排除されるという「細胞競合現象」が、マウス生体組織でも実際に起きていることを証明する大きな成果である。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計 4 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 2 件</p> <p>Katoh, H and Fujita, Y. (2012) Epithelial homeostasis: elimination by live cell extrusion. <i>Current Biology</i>, 22 (11), R453-5.</p> <p>Yamauchi, H and Fujita, Y. (2012) Epithelial self-defense against cancer. <i>Cell Research</i>, 22(11):1527-9. ISSN : 1001-0602</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 1 件</p> <p>梶田美穂子、藤田恭之 (2013) 正常上皮細胞と変異細胞間で生じる細胞競合 実験医学, Vol31, No. 1, 39-44</p> <p>(未掲載) 計 1 件</p> <p>Saitoh, M., Shirakihara, T., Fukasawa, A., Horiguchi, K., Sakamoto, K., Sugiyama, H., Beppu, H., Fujita, Y., Morita, I., Miyazono, H., and Miyazawa, K. Basolateral BMP signaling in polarized epithelial cells (2013) <i>PLoS One</i>, in press.</p>
<p>会議発表</p> <p>計 10 件</p>	<p>専門家向け 計 8 件</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ Cold-blooded Cancer (Symposium) Yasuyuki Fujita 「Interactions between normal and transformed epithelial cells in mammals」 Glasgow September 2-4, 2012 The Robertson Trust Lecture Theatre Beaston Institute for Cancer Research, Glasgow ・ 第 71 回日本癌学会学術総会 (シンポジウム) 藤田 恭之 「Interactions between normal and transformed epithelial cells -A road to a novel type of cancer prevention and treatment」 札幌 2012 年 9 月 19~20 日 日本癌学会 ・ The EMBO meeting in Nice (Symposium) Yasuyuki Fujita 「Interactions between normal and transformed epithelial cells in mammals」 Nice September 23-26, 2012 Nice Acropole ・ The 43rd International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund "Cancer Heterogeneity: Impact on Carcinogenesis, Cancer Stem Cell, Microenvironment, Diagnosis and Treatment" (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 -」 東京都 2012 年 11 月 14~16 日 高松宮妃癌研究基金 ・ 第 35 回日本分子生物学会年会 (シンポジウム) 藤田 恭之 「Interactions between Normal and Transformed Epithelial Cells in Mammals -A Road to Novel Types of cancer Prevention or Treatment - 哺乳類における正常上皮細胞と変異細胞の相互作用-新規がん治療法の確立を目指して-」 福岡市 2012 年 12 月 11~14 日 日本分子生物学会 ・ 第 85 回日本生化学会大会 (シンポジウム) 藤田 恭之 「Interactions between normal and transformed epithelial cells -A road to a novel types of cancer treatment -」 福岡市 2012 年 12 月 14~16 日 日本生化学会 ・ 平成 24 年度 文部科学省新学術領域研究 (研究代表者 今井浩三) 「がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動」公開シンポジウム (シンポジウム) 藤田 恭之 「正常上皮細胞と変異細胞の相互作用」 東京都 2013 年 1 月 29, 30 日 ・ 平成 24 年度「個体レベルのがん研究による相乗効果」学際的インターアクションから創造へ (シンポジウ

様式19 別紙1

	<p>ム) 藤田 恭之 「Interactions between normal and transformed epithelial cells」 大津市 2013年2月6,7日 一般向け 計2件</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ えるのす連続講座～女性大学～社会とつながり、心豊かに 藤田 恭之 「正常細胞ががん細胞を駆逐する」 札幌市 2012年11月6日 ・ 北大から世界へ 「がん研究最前線」 (北海道大学 創成研究機構 第10回創成シンポジウム) 藤田 恭之 札幌市 2013年3月27日
図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状況 計0件	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
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	<p>女性大学にて一般聴衆(約200人)向けに「えるのす連続講座～女性大学～社会とつながり、心豊かに」の講義を行い、研究内容について紹介をした。北海道大学で開催された「がん研究最前線」では、高校生を含む一般聴衆(約400人)に向けて、シンポジウムとトークセッションを行い、研究を通して国民との交流を行った。また新聞に研究内容を載せた広告を公表し、高校生を対象とした公開講座、出張講義の公募を行い、高校生に向けて公開授業を行った。さらに高校生の職場訪問で実験室を見学してもらい、研究内容をわかりやすく説明した。</p>
新聞・一般雑誌等掲載 計1件	<p>北海道新聞 2012年9月17日 朝刊 20ページ 広告</p>
その他	

4. その他特記事項

特記すべきことなし。

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

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	89,100,000	17,200,000	19,700,000	0
間接経費	37,800,000	26,730,000	5,160,000	5,910,000	0
合計	163,800,000	115,830,000	22,360,000	25,610,000	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	3,200,254	17,200,000	0	20,400,254	20,399,009	1,245	0
間接経費	0	5,160,000	0	5,160,000	5,160,000	0	0
合計	3,200,254	22,360,000	0	25,560,254	25,559,009	1,245	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	13,944,709	96ウェル同時洗浄プレートウォッシャー、抗体等
旅費	840,120	研究成果発表旅費等(Cold-blooded Cancer, The EMBO meeting等)
謝金・人件費等	4,389,980	博士研究員人件費、技術補助員人件費等
その他	1,224,200	事業実施料(公開授業)、学会参加登録費等
直接経費計	20,399,009	
間接経費計	5,160,000	
合計	25,559,009	

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
96ウェル同時洗浄プレートウォッシャー	スイス国テカン社製 ・HydroSpeed	1	1,500,000	1,500,000	2012/6/29	北海道大学
				0		
				0		