

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24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

<p>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、「がん遺伝子」として機能している転写因子を見出した。さらにそのタンパク質の機能ドメインを同定した。そこでそのドメインに特異的に相互作用をもつ核内因子の検索と、その「がん遺伝子」のノックアウトマウスを作製することにより、新規な肉腫発症メカニズムの解明をめざした。</p> <p>2. 間葉系細胞の腫瘍化における細胞周期調節因子の役割は、いまだ不明な点が多い。そこで Cdk-Cyclin の遺伝子改変マウスを解析し、未分化軟骨細胞の腫瘍化における細胞周期調節因子の役割をマウス生体レベルで詳細に検討することにした。さらに、肉腫発症に大きく関与していることが知られている「がん抑制遺伝子」p53 の機能欠損との関連性を検討した。</p>
--

2. 研究の実施状況

<p>1. (a) 新規「がん遺伝子」は転写因子であり、その Oncogenic Function を担う機能ドメインが判明した。そこで、その腫瘍化の分子メカニズムを解明する目的で、そのドメインに特異的に相互作用する核内タンパク質をタンパク質アレイおよび Yeast Two Hybrid 法を用いて検索したところ、転写因子を2つ同定することができた。双方とも細胞の腫瘍化に深く関与することが知られている。その詳細な分子機序について、in vitro 実験系で解析を進めている。</p> <p>(b) p53 の間葉系細胞特異的なノックアウトマウス(p53f/f-Prx1Cre および p53f/f-OsxCre)は、骨肉腫を高頻度で発症し、その性状がヒト腫瘍に酷似していることから、ヒト骨肉腫のモデルマウスとして利用されている。興味深いことに新規「がん遺伝子」をノックアウトすると、p53f/f-Prx1Cre の造腫瘍能が完全に抑えられた。これは新規「がん遺伝子」が p53 欠損による肉腫発症過程における責任因子であることを意味する。上述1(a)の相互作用因子の存在と、p53 との機能相関から、これまでに報告のなかった新たな腫瘍化メカニズムの存在が判明しつつある。</p> <p>2. Cdk6 と cyclin D1 を同時に軟骨組織で強発現したダブルトランスジェニック(double TG)マウスは、コントロールと比較して明らかに体が小さく、四肢が顕著に短縮し、軟骨細胞にアポトーシスが強く誘導された。その表現型は、p53 ノックアウトマウスと交配させると消失した。この現象の詳細な分子メカニズムを解析した結果、Cdk6/cyclin D1 の機能亢進により、異常な細胞周期関連因子の活性化が引き起こされるが、p53 のチェックポイントコントロール機能によりアポトーシスが誘導されるため、腫瘍化には至らないことが判明し</p>
--

様式19 別紙1

た。この解析結果は、間葉系細胞の腫瘍化における p53 の役割の大きさを浮き彫りにしている。あらためて、上述1(a)(b)の解析の進展が期待される。これらの成果は当該年度に論文として報告することができた。

3. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み一査読有り) 計5件
計8件	<ol style="list-style-type: none"> 1. Nakazawa Y, Sasaki K, Mitsutake N, Matsuse M, Shimada M, Nardo T, Takahashi Y, Ohyama K, Kosei Ito, Mishima H, Nomura M, Kinoshita A, Ono S, Takenaka K, Masuyama R, Kudo T, Slor H, Utani A, Tateishi S, Yamashita S, Stefanini M, Lehmann A, Yoshiura K, Ogi T. Mutations in UVSSA cause UV-sensitive syndrome and impair RNA polymerase Ilo processing in transcription-coupled nucleotide excision repair. <i>Nature Genetics</i> 44, 586-592 (2012) 2. Voon DC, Wang H, Koo JK, Nguyen TA, Hor YT, Chu YS, Kosei Ito, Fukamachi H, Chan SL, Thiery JP, Ito Y. Runx3 protects gastric epithelial cells against epithelial-mesenchymal transition-induced cellular plasticity and tumorigenicity. <i>Stem Cells</i> 30, 2088-2099 (2012) 3. Omar MF, Kosei Ito, Nga ME, Soo R, Peh BK, Ismail TM, Thakkar B, Soong R, Ito Y, Salto-Tellez M. RUNX3 Downregulation in Human Lung Adenocarcinoma is Independent of p53, EGFR or KRAS Status. <i>Pathology & Oncology Research</i> 18, 783-792 (2012) 4. Tsang YHN, Wu XW, Lim JS, Ong CW, Salto-Tellez M, Kosei Ito, Ito Y, Chen LF. Prolyl isomerase Pin1 down-regulates tumor suppressor RUNX3 in breast cancer. <i>Oncogene</i> 32, 1488-1496 (2013) 5. Chuang LSH, Kosei Ito, Ito Y. RUNX family: Regulation and diversification of roles through interacting proteins. <i>International Journal of Cancer</i> 132, 1260-1271 (2013)
	(掲載済み一査読無し) 計2件
	<ol style="list-style-type: none"> 1. 伊藤公成 「胃がん発がんにおけるがん抑制遺伝子RUNX3の働き」 生化学 84(4): 278-282, 2012 2. 伊藤公成 「新たな胃発がんモデル: Runx3の機能解析」 分子消化器病 9(4): 350-355, 2012
	(未掲載) 計1件
	<ol style="list-style-type: none"> 1. Kosei Ito, Maruyama Z, Sakai A, Izumi S, Moriishi T, Yoshida CA, Miyazaki T, Komori H, Takada K, Kawaguchi H, Komori T. Overexpression of <i>Cdk6</i> and <i>Ccnd1</i> in chondrocytes inhibited chondrocyte maturation and caused p53-dependent apoptosis without enhancing proliferation. <i>Oncogene</i> (in press)

様式19 別紙1

<p>会議発表 計2件</p>	<p>専門家向け 計1件 1. 伊藤公成:「転写因子 RUNX3 を通して観た「がん生物学」」, 平成 24 年度愛知県がんセンター 研究所・特別招聘講演, 愛知, 平成 25 年3月1日</p> <p>一般向け 計1件 1. 伊藤公成:「転写因子 RUNX3 を通して観た「がん生物学」」, 平成 24 年度長崎大学坂本技術 区技術職員研修会, 長崎, 平成 24 年8月 28 日～29 日</p>
<p>図書 計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状 況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>研究体制が変わったので、新たなホームページを制作している最中です。</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>長崎県立佐世保北高等学校にて、クラスラボ・出張講座を催した。医歯薬学系進学希望の2年生 約30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24年7月26日)</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計0件</p>	
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

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	97,000,000	42,660,000	28,170,000	26,170,000	0
間接経費	29,100,000	12,798,000	8,451,000	7,851,000	0
合計	126,100,000	55,458,000	36,621,000	34,021,000	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	107,913	28,170,000	0	28,277,913	27,872,083	405,830	0
間接経費	6,399,000	8,451,000	0	14,850,000	4,225,500	10,624,500	0
合計	6,506,913	36,621,000	0	43,127,913	32,097,583	11,030,330	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	17,054,537	フローサイトメーターシステム、倒立顕微鏡 他
旅費	107,560	研究成果発表旅費
謝金・人件費等	1,486,120	技能補佐員人件費
その他	9,223,866	抗体作製費 他
直接経費計	27,872,083	
間接経費計	4,225,500	
合計	32,097,583	

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
フローサイトメ ーターシステム	guava easy Cyte 5HT	1	6,699,000	6,699,000	2012/6/19	長崎大学
Nano Vue Plus with Printer	-	1	1,127,700	1,127,700	2012/6/19	長崎大学
倒立顕微鏡	Axio Vert A1, Axio CamMRc	1	3,627,750	3,627,750	2013/2/18	長崎大学
バイオクリーンベン チ	-	1	876,000	876,000	2013/2/20	長崎大学