

別紙様式 3

若手研究者育成支援費に係る研究成果報告（ホームページ用）

	(所 属)	(職 名・学 年)	(氏 名)
研究者	小児発達医学	助教	千代延 友裕
研究の 名称	iPS細胞を用いたダウン症候群における神経分化障害の解明		
研究のキ ーワード (注1)	ダウン症候群, iPS細胞, モザイク		
研究の 概要 (注2)	<p>ダウン症候群 (Down syndrome; DS) は先天性の精神遅滞の原因として最も頻度の高い疾患であるが、ヒト21番染色体の過剰が神経細胞にどのような影響をきたして神経症状 (精神遅滞など) の出現に至るのか、その詳細は未解明のままであるのが現状である。DSモデルマウスを用いた研究では、DSの病態を一部再現することには違いないが、マウスはヒトの中枢神経を完全に再現するモデルとはなりえない。ヒト胎児剖検脳を用いた研究も多く見られるが、神経細胞の発生を初期から経時的に解析することは不可能である。iPS細胞技術はこれらの問題を解決する新たなアプローチを展開できる可能性をもつ。つまり、DS患者から樹立したiPS細胞を神経細胞に分化誘導することで、ヒトDSにおける神経細胞の発生を経時的に (幹細胞から成熟神経細胞まで) 再現するモデルとなりうる。本研究は、DSにおける神経細胞分化障害の解明を目的とし、DS患者からiPS細胞を樹立し、DS神経系分化モデルの確立を目指したものである。</p>		
研究の 背景	<p>本研究ではモザイク型DS患者からのiPS細胞樹立を試みることにした。なぜなら、モザイク型DS患者には21トリソミー (+21) と正常核型 (WT) の細胞が混在しており、理論上、一個人から+21とWTの2種のiPS細胞を樹立できることが期待できるからである。DSは患者間で症状の程度が異なり、21番染色体以外のゲノム多型の影響が無視できないと考えられる。そのため、本研究では一個人由来の2種の比較検討を行うことにより、WTは+21の理想的な対照となると考えたためである。DS患者由来のiPS細胞研究はこれまでに報告はあるものの、モザイク型DS患者由来のiPS細胞樹立はこれまでに存在しておらず、本研究の特長と考えた。</p>		

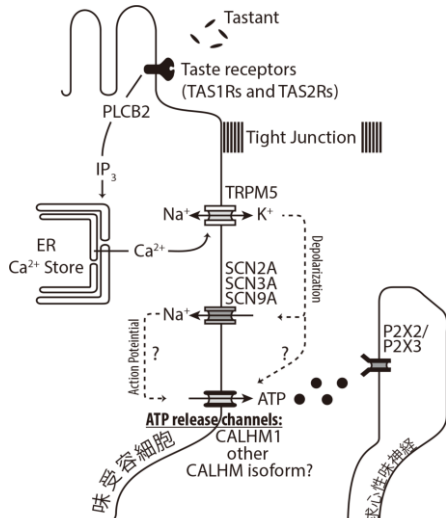
研究手法	末梢血の染色体分析でモザイク型DSと診断している患者に協力を依頼し、iPS細胞の樹立を試みた。まず患者皮膚線維芽細胞にエピソーマルベクター（pCXLE）によりヒト6因子（Oct3/4, Sox2, Klf4, L-Myc, Lin28, p53 に対するshRNA）を導入する方法でiPS細胞樹立を行った。
研究の進捗状況と成果	<p>上記により樹立できたiPS細胞はその後の核型解析ですべてWTであることが判明した。続いて、同患者の末梢血リンパ球からも同様の方法で樹立を試みたが、同様に樹立できたiPS細胞はすべてWTであった。</p> <p>DS患者からiPS細胞を樹立し、解析した論文は散見されるが、モザイク型DSの一個人から+21とWTの両者を樹立した報告はない。本研究から、モザイク型DS由来の細胞（皮膚線維芽細胞、リンパ球）の場合、WTよりも+21のiPS細胞は極めて樹立されにくい（あるいは樹立されない）と考えられた。</p>
地域への研究成果の還元状況	現時点で本研究の成果を地域へ還元した実績はないが、本研究で得た経験、技術をもとに、現在他の疾患でもiPS細胞技術を用いた研究を開始しており、今後の成果によっては地域への還元をすすめていく予定である。
今後の期待	興味深いことに、ごく最近、環状17番染色体を有する皮膚線維芽細胞からiPS細胞樹立を試みたところ、正常核型を有するiPS細胞ばかり樹立されたとの報告がなされた（Bershteyn M, et al. <i>Nature</i> 2014）。本研究で見られた現象も、この報告と同様にiPS細胞樹立の過程で染色体の異数性を修復するという機序が働いたのかもしれない。
研究発表（注3）	本研究に関する発表は現時点ではない。

注1 「研究のキーワード」欄には、ホームページ閲覧者が、研究内容のイメージをつかめるように、キーワードとなる用語を3個から5個程度、記述すること。

- 注2 「研究の概要」欄には、ホームページ閲覧者の理解の助けとなるように、写真、表、グラフ、図などを用いて、作成すること。
- 注3 「研究発表」欄には、論文、学会発表、ニュース・リリース等について記述すること。
- 注4 研究成果が「知的財産」の発明に該当する場合は、ホームページでの公表により、新規性の喪失となるため注意すること。
- 注5 本書は、A4サイズ3ページ以内とすること。

別紙様式 3

若手研究者育成支援費に係る研究成果報告（ホームページ用）

	(所 属)	(職 名・学 年)	(氏 名)
研究者	細胞生理	講師	樽野 陽幸
研究の名称	新規イオンチャネルファミリーCalcium Homeostasis Modulatorに属する分子の構造・多量体構成の解析		
研究のキーワード (注1)	味覚・味蕾・神経伝達・イオンチャネル		
研究の概要 (注2)	<p>本研究は、味を舌から脳に伝える仕組みである味蕾での神経伝達の分子機構解明を目指す研究である。下記研究背景に基づき、味蕾に発現するCALHMイオンチャネルファミリーに属する機能・構造未知のアイソフォームの機能・構造解析を強制発現系を用いて行った。その結果、CALHMアイソフォームのいくつかは多量体を形成することを見いだした。このことは、CALHM1以外のCALHMアイソフォームもイオンチャネルを形成する可能性を示唆している。また、CALHMアイソフォームのイオンチャネル機能を電気生理学的手法を用いて解析した結果、特定のCALHMアイソフォームが電位依存性イオンチャネル機能を持つことを見いだした。本研究によって得られた結果は、CALHM1以外のCALHMアイソフォームがイオンチャネルとして味細胞の神経伝達に重要な働きを担っている可能性を示唆している。</p> 		
研究の背景	<p>我々は先行研究において、哺乳類味蕾における甘味・苦味・うま味受容時の神経伝達物質ATPの放出経路の必須分子calcium homeostasis modulator 1 (CALHM1)を同定した(Taruno et al. <i>Nature</i> 495:223,2013)。CALHM1は4回膜貫通型蛋白質で、ホモ6量体電位依存性ATP透過性イオンチャネルを構成する。一方、CALHM1欠損マウスで消失する味細胞の電位依存性電流・味蕾からのATP放出の薬理学性質が、CALHM1チャンネルのそれらと齟齬がある。即ち、CALHM1は味細胞ATP放出チャンネルの必須構成分子であるが、唯一の構成要素ではないことを見いだしていた。さらに我々は予備実験において、機能・構造未知の他のCALHMアイソフォームが味蕾細胞に発現していることを発見していた。このことは、CALHM1以外のCALHMアイソフォームが味覚神経伝達に関わっていることを示唆していた。</p>		

研究手法	(1) <i>Xenopus laevis</i> 卵母細胞を用いたTwo-electrode voltage clamp electrophysiology (2) 哺乳類培養細胞株強制発現系を用いた、Patch clamp electrophysiology (3) 哺乳類培養細胞株強制発現系を用いた共免疫沈降法・SDS-PAGE・BN-PAGEなど生化学実験手法 (4) 哺乳類培養細胞株強制発現系を用いた免疫細胞化学染色
研究の進捗状況と成果	本研究の進捗状況は、とても順調である。計画通り、CALHMアイソフォームの複合体形成・イオンチャネル機能の解析を終えることができ、一定の結果を得ている。ここで得られた結果は、今後の研究の発展にとって重要なものであり、十分な成果が得られたと言える。また、本研究は生理機能に関わる新しいイオンチャネルの発見という側面からも注目を浴びており、総説論文・シンポジウムに招待され、そこで成果を発信してきた。
地域への研究成果の還元状況	特になし
今後の期待	現在、CALHM1以外のCALHMアイソフォームの多量体構造およびイオンチャネル機能の詳細を解析しているところであるが、本研究で得られた実験結果は、CALHM1に加えて他のCALHMアイソフォームが味細胞の神経伝達において重要な働きを担っている可能性を十分に示唆している。今後は、イオンチャネル機能をもつCALHMアイソフォームの生理的役割に踏み込んで、味覚におけるこれらの役割の解析を行う事で、味覚の神経伝達の全貌解明が期待できる。
研究発表 (注3)	(A) 総説論文 <u>英文総説 (査読有り)</u> 1. Foskett, J.K., Ma, Z., Siebert, A.P., Lamitina, T., Marambaud, P., Tanis, J.E., & Taruno, A. Calcium homeostasis modulator (CALHM) ion channels: structure, functions and physiological roles. <i>Membrane</i> 39 , 41-47, (2014). 2. Taruno, A.* , Matsumoto, I., Ma, Z., Marambaud, P. & Foskett J.K.*. How do taste cells lacking synapses mediate neurotransmission? CALHM1, a voltage-gated ATP channel. *Corresponding authors. <i>BioEssays</i> . 35 , 1111-1118, (2013). <u>和文総説 (査読無し)</u> 1. 樽野陽幸 , Foskett, J. K. ATP透過性イオンチャネルCALHM1は味蕾における甘味, 苦味, うま味の受容に必須である. <i>ライフサイエンス新着論文レビュー</i> , http://first.lifesciencedb.jp/archives/6849 , (2013). 2. 樽野陽幸 , Ma, Z., Foskett, J. K. CALHM1による味蕾における甘味・苦味・うま味のプリン作動性神経伝達. <i>細胞工学</i> 32 , 702-704, (2013). (B) シンポジウム・招待講演・ワークショップ 1. Taruno, A. , Marunaka, Y. & Foskett, J.K. Calcium Homeostasis Modulator (CALHM): A novel ion channel family encoding voltage-gated ATP release ion channels involved in non-synaptic neurotransmission from taste cells. 第91回日本生理学会大会. 2014年3月16-18日; 鹿児島, 口頭(招待). 2. 樽野陽幸 , Calcium Homeostasis Modulator 1: 味覚神経伝達に関わる新規電

	<p>位依存性 ATP 透過性イオンチャネル. 京都大学神経科学セミナー. 2013 年 12 月 16 日; 京都, 口頭 (招待) .</p> <p>3. 樽野陽幸. CALHM1 イオンチャネルを介した味蕾における甘味・苦味・旨味の神経伝達機構の解明. <i>細胞センサーの分子機構・相互関連・ネットワーク研究会</i>. 2013 年 11 月 28-29 日; 岡崎, 口頭 (招待) .</p> <p>4. Taruno, A. CALHM1: identification of a <i>bona fide</i> ion channel mediator of purinergic neurotransmission of sweet, bitter and umami tastes. The 11th international symposium on molecular and neural mechanisms of taste and olfactory perception. 2013 年 10 月 31 日- 11 月 2 日; 福岡, 口頭 (招待) .</p> <p>5. Taruno, A. & Foskett, J.K. CALHM1: an ion channel mediator of purinergic neurotransmission of sweet, bitter and umami tastes from taste cells. 第 47 回日本味と匂学会大会. 2013 年 9 月 5-7 日; 仙台, 口頭 (招待) .</p> <p>(C) 国内における一般講演 (ポスター・口演)</p> <p>1. 樽野陽幸, 丸中良典, Foskett JK. Calcium Homeostasis Modulator 1 (CALHM1) 味蕾における神経伝達物質 ATP の放出経路の分子同定. 膜シンポジウム 2013. 2013 年 11 月 7-8 日: 京都.</p> <p>2. Taruno, A., Vingtdoux, V., Li, A., Ma, Z., Ohmoto, M., Matsumoto, I., Leung, S., Abernethy, M., Dvoryanchikov, G., Civan, M.M., Chaudhari, N., Hellekant, G., Tordoff, M.G., Foskett, J.K. & Marambaud, P. Purinergic neurotransmission of sweet, bitter and umami tastes in the taste bud by CALHM1 ion channel. 第 36 回日本神経科学学会大会. 2013 年 6 月 20 -23 日: 京都.</p>
--	--

注 1 「研究のキーワード」欄には、ホームページ閲覧者が、研究内容のイメージをつかめるように、キーワードとなる用語を 3 個から 5 個程度、記述すること。

注 2 「研究の概要」欄には、ホームページ閲覧者の理解の助けとなるように、写真、表、グラフ、図などを用いて、作成すること。

注 3 「研究発表」欄には、論文、学会発表、ニュース・リリース等について記述すること。

注 4 研究成果が「知的財産」の発明に該当する場合は、ホームページでの公表により、新規性の喪失となるため注意すること。

注 5 本書は、A 4 サイズ 3 ページ以内とすること。

別紙様式 3

若手研究者育成支援費に係る研究成果報告（ホームページ用）

	(所 属)	(職 名・学 年)	(氏 名)																											
研究者	小児発達医学	助教	吉田 秀樹																											
研究の 名称	<i>PLAG1</i> 発現解析を用いた脂肪細胞由来腫瘍の細胞遺伝学的診断																													
研究のキ ーワード (注1)	脂肪芽腫、 <i>PLAG1</i> 、融合遺伝子																													
研究の概 要 (注2)	<p>脂肪由来の腫瘍は良性の脂肪腫・脂肪芽腫、悪性の脂肪肉腫に大きく分類される。治療方針を立てるにあたり、これらの鑑別が重要となるが、組織診だけでは鑑別が困難な症例が報告されている。本研究では、①<i>PLAG1</i>遺伝子の脂肪芽腫での発現レベル、②<i>PLAG1</i>の関与する未知の融合遺伝子の探究、により正確な鑑別診断を行えることを示し、③脂肪芽腫における<i>PLAG1</i>発現亢進のメカニズムを明らかにすることを目標とする。</p>																													
	<p>図 1. 脂肪系腫瘍における <i>PLAG1</i> 発現の比較：<i>PLAG1</i> は脂肪芽腫で高発現している。（正常脂肪細胞を 1 として標準化）</p> <table border="1"> <caption>Data for Figure 1: Relative Expression of PLAG1</caption> <thead> <tr> <th>Group</th> <th>Sample</th> <th>Relative Expression (approx.)</th> <th>Significance</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">Control adipocyte</td> <td>Control</td> <td>1</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Lipoma</td> <td>1</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td rowspan="5">Lipoblastoma</td> <td>2</td> <td>~70</td> <td>**</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>~70</td> <td>**</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>~150</td> <td>**</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>~70</td> <td>**</td> </tr> <tr> <td>6</td> <td>~100</td> <td>**</td> </tr> </tbody> </table>			Group	Sample	Relative Expression (approx.)	Significance	Control adipocyte	Control	1	-	Lipoma	1	-	Lipoblastoma	2	~70	**	3	~70	**	4	~150	**	5	~70	**	6	~100	**
Group	Sample	Relative Expression (approx.)	Significance																											
Control adipocyte	Control	1	-																											
	Lipoma	1	-																											
Lipoblastoma	2	~70	**																											
	3	~70	**																											
	4	~150	**																											
	5	~70	**																											
	6	~100	**																											

図2. 新規融合遺伝子：*COL3A1-PLAG1*の融合点

A

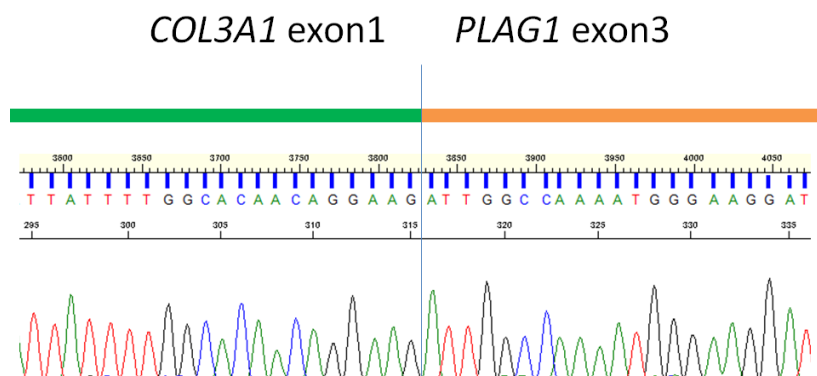
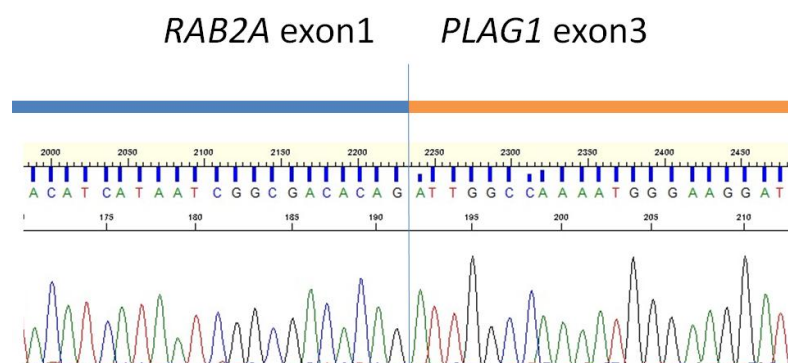


図3. 新規融合遺伝子：*RAB2A-PLAG1*の融合点

D



研究の
背景

脂肪系腫瘍の一つである脂肪芽腫は良性腫瘍であり、外科的切除により根治に至るとされる。しかし、そのうち20%は局所再発することが知られており、正確な診断が重要となる。病理組織標本の所見は他の脂肪系腫瘍とかなりoverlapしており、典型的でない正しい診断に至らない場合も少なくない。

脂肪芽腫において*PLAG1*の関連した融合遺伝子が知られており、これを脂肪系腫瘍の鑑別診断に用いる可能性を検討した。

研究手法	当科で保存されている脂肪系腫瘍の患者検体（脂肪腫1例、脂肪芽腫5例）を用いて <i>PLAG1</i> の発現を評価した。また未知の融合遺伝子の同定には5'RACE法を用いた。またPCR法により、臨床検体における融合遺伝子の発現を確認した。更にSanger Sequence法を用いて、詳細な融合点を明らかにした。
研究の進捗状況と成果	PCRを用いて既知の融合遺伝子 <i>HAS2-PLAG1</i> 、 <i>COL1A2-PLAG1</i> について発現を確認したところ、脂肪芽腫の1例で <i>HAS2-PLAG1</i> が検出された。また5'RACE法により3例で <i>COL3A1-PLAG1</i> 、1例で <i>RAB2A-PLAG1</i> という2つの新規融合遺伝子を検出し、 <i>COL3A1</i> 遺伝子および <i>RAB2</i> 遺伝子のexon 1と <i>PLAG1</i> 遺伝子のexon 3とが融合していることを明らかにした。5例の脂肪芽腫において <i>PLAG1</i> は正常脂肪細胞の70-150倍もの高い発現量を示した。今回新規に発見した融合遺伝子は、既知の融合遺伝子同様、「promoter-swapping」により <i>PLAG1</i> 遺伝子の発現を促進していることを明らかにした。
地域への研究成果の還元状況	本研究の成果により、 <i>PLAG1</i> を脂肪芽腫の診断を確定する上で極めて有用であることが示され、組織診断のみに比べて飛躍的に診断率が上がることが予想される。これにより、脂肪腫との誤診による「不十分な切除」が減り、局所再発も減少する。結果的に患児のQOL向上につながる可能性が高いと考える。
今後の期待	今後、脂肪系腫瘍が疑われた症例に対して、 <i>PLAG1</i> の発現を確認することで、局所再発の多い脂肪芽腫か否かの鑑別が可能となる。また新たな症例があれば <i>PLAG1</i> に関連した新たなfusion partnerを同定していきたい。
研究発表（注3）	1. Yoshida H , Miyachi M, Ouchi K, Kuwahara Y, Tsuchiya K, Iehara T, Konishi E, Yanagisawa A, Hosoi H. Identification of <i>COL3A1</i> and <i>RAB2A</i> as Novel Translocation Partner Genes of <i>PLAG1</i> in Lipoblastoma. <i>Genes, Chromosome and cancer</i> . 2014 [in press]

- 注1 「研究のキーワード」欄には、ホームページ閲覧者が、研究内容のイメージをつかめるように、キーワードとなる用語を3個から5個程度、記述すること。
- 注2 「研究の概要」欄には、ホームページ閲覧者の理解の助けとなるように、写真、表、グラフ、図などを用いて、作成すること。
- 注3 「研究発表」欄には、論文、学会発表、ニュース・リリース等について記述すること。
- 注4 研究成果が「知的財産」の発明に該当する場合は、ホームページでの公表により、新規性の喪失となるため注意すること。
- 注5 本書は、A4サイズ3ページ以内とすること。

別紙様式3

若手研究者育成支援費に係る研究成果報告（ホームページ用）

	(所 属)	(職 名・学 年)	(氏 名)
研究者	消化器外科	大学院生・3年	川口 耕
研究の 名称	網羅的アレイ解析による食道癌術前化学療法感受性に関わる血中microRNAの同定と臨床応用		
研究のキ ーワード (注1)	食道癌、microRNA、化学療法感受性、バイオマーカー		
研究の 概要 (注2)	<p>近年の早期診断技術、治療技術の進歩により様々な癌種の癌全体の治療成績が著しく改善している。しかし、進行癌の治療成績向上は未だ克服すべき重要な課題である。特に、食道癌は未だ予後不良な難治癌である。近年、局所と遠隔転移制御を目的として、進行食道癌の術前化学或いは化学放射線療法を用いた集学的治療の有用性が明らかとなっている。しかし、実地臨床では術前治療効果の乏しい症例も少なからず存在し、加療中の癌の進行により治癒切除可能な時期を逸する可能性がある。これらの症例の治療効果を施行前に予測可能であれば、患者個々の病態に応じたより適切な集学的治療計画が可能となる。しかし、食道癌の化学療法感受性予測の指標となる臨床応用可能なバイオマーカーは未だ同定されていない。</p> <p>申請者らは、担癌患者の末梢血液中には、腫瘍組織から遊離した癌細胞以外に、遊離した核酸も比較的安定した状態で存在していることに注目した。そして、この分野での臨床応用を目指して血中遊離核酸を指標としたバイオマーカー探索を行い、その有用性を報告してきた (Takeshita H et al. Br J Cancer 2010他)。最近では、ヒトゲノムでは1000種類以上同定されている短鎖型non-coding RNAであるmicroRNA (miR) に注目し (He L et al. Nature 2005)、胃癌・食道癌・膵癌等の消化器癌患者血漿中での腫瘍由来の遊離miRの定量的解析が安定して可能であることを明らかにした (Tsujiura M et al. Br J Cancer 2010, Komatsu S et al. Br J Cancer 2011, Morimura R Br J Cancer 2011)。また、一部の癌関連miRが癌存在診断、モニタリング診断、再発時診断、悪性度・予後予測診断に有用であることを腫瘍外科医の視点から世界に先駆けて報告してきた (Ichikawa D et al. Gastroenterology 2012, Komatsu S et al. Expert Opin Biol Ther 2012, Konoshi H et al. Br J Cancer 2012</p>		

	<p>, Kawaguchi T et al. Br J Cancer 2013, Hirajima S et al. Br J Cancer 2013)。今回は、これまで我々が蓄積してきたバイオリソース、解析技術を基盤に、特に食道癌の術前化学療法感受性予測に有用な血中microRNAを網羅的に探索し、新規のバイオマーカーとしての開発・臨床応用を目指す。</p>
研究の背景	<p>近年、進行食道癌に対する集学的治療が予後向上に寄与することが明らかとなっており、個々の患者における適切な集学的治療計画が重要である。しかし、食道癌の化学療法感受性予測の指標となる臨床応用可能なバイオマーカーは未だ同定されていない。</p> <p>本研究の着想は、microRNAが血中ではエキソソーム等のvesicleに封入され、或いは、Argonate2やHDLといった血漿タンパクと結合し極めて安定して存在しており、これまで癌存在診断、モニタリング診断、悪性度・予後予測診断に有用な血中のmicroRNA候補の同定が可能であったことにある。血中microRNAを指標とした食道癌術前化学療法感受性予測は、より効果的な治療計画を可能にする、極めて低侵襲なバイオマーカーとして応用できると考えられる。</p>
研究手法	<p>当院倫理委員会の規定に則り、書面で同意を得た食道癌患者から術前化学療法施行前血漿を採取、保存しサンプルストックを作成した。切除標本の組織学的効果判定 (Grade1-3) 別に、術前化学療法施行前血漿中の遊離核酸を用いてmicroRNAアレイ (microRNA array analysis, 東レ社DNAチップ 3D-Gene) による網羅的な比較解析を行った。結果、感受性予測に有用な可能性の高いmicroRNA候補群を同定した(miR-23a/b, miR-103a, miR-223)。</p> <p>① これらのmicroRNA候補群において、術前化学療法施行前血漿サンプルを用いてValidation study (qRT-PCR解析)を行い、組織学的効果判定による有効群 (Grade2/1b) と無効群(Grade0/1a)において、血漿中のmicroRNA発現レベルの解析を行った。同時に食道癌組織におけるmicroRNA発現解析も行った。</p> <p>② さらに食道癌細胞株を用いてmimic-microRNAによる候補microRNAの過剰発現に伴う抗癌剤感受性変化の解析 (5-FUとCDDPを用いた抗癌剤感受性試験) を行った。</p>
研究の進捗状況と成果	<p>網羅的解析により感受性予測に有用な可能性の高いmicroRNA候補群を同定した(miR-23a/b, miR-103a, miR-223)。これらのmicroRNA候補群において、術前化学療法施行前血漿サンプルを用いてValidation study (qRT-PCR解析)を行い、組織学的効果判定有効群 (Grade2/1b) と無効群(Grade0/1a)において、無効群の発現が有効群と比較し有意に高発現であるmicroRNA (miR-23a/b, miR-103a) を同定した。さらに食道癌細胞株を用いてmimic-microRNAによる候補microRNAの過剰発現により抗癌剤感受性変化の解析を行い、miR-23aの過剰発現により5-FUおよびCDDPに対</p>

	<p>する化学療法抵抗性が増強することが明らかとなった。すなわち、食道癌術前抗癌剤感受性予測において、血漿中microRNAの発現が新たなバイオマーカーとして応用できる可能性が示唆された。</p>
<p>地域への研究成果の還元状況</p>	<p>これまで、様々な癌関連バイオマーカーが報告されているが、治療効果予測や癌モニタリングに有用なバイオマーカーの報告は少ない。今後、癌存在診断のみならず、治療効果判定や再発の指標となるバイオマーカーの開発が重要である。当該研究の手法を用い、症例を蓄積することで、新たな治療効果予測バイオマーカーとしての臨床応用が期待できる。</p>
<p>今後の期待</p>	<p>当該研究の手法は、網羅的解析を軸にしており、他癌腫へ広く応用が可能である。また血中microRNAを指標とした様々な疾患の新たな治療戦略の構築を可能とする斬新な研究手法であり、今後の研究継続により更なる発展が期待できる分野である。</p>
<p>研究発表 (注3)</p>	<p>現在、専門の学術雑誌（英語論文）に投稿準備中である。</p>

注1 「研究のキーワード」欄には、ホームページ閲覧者が、研究内容のイメージをつかめるように、キーワードとなる用語を3個から5個程度、記述すること。

注2 「研究の概要」欄には、ホームページ閲覧者の理解の助けとなるように、写真、表、グラフ、図などを用いて、作成すること。

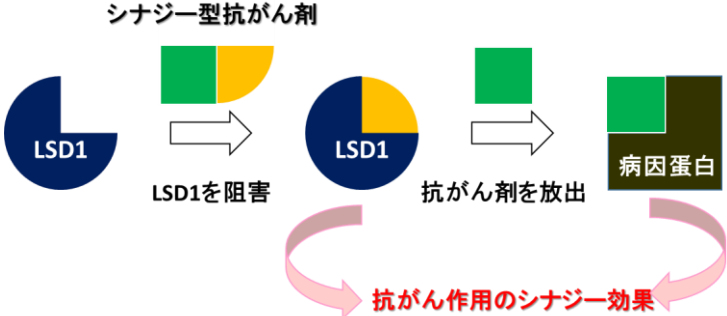
注3 「研究発表」欄には、論文、学会発表、ニュース・リリース等について記述すること。

注4 研究成果が「知的財産」の発明に該当する場合は、ホームページでの公表により、新規性の喪失となるため注意すること。

注5 本書は、A4サイズ3ページ以内とすること。

別紙様式 3

若手研究者育成支援費に係る研究成果報告（ホームページ用）

	(所 属)	(職 名・学 年)	(氏 名)
研究者	京都府立医科大学 大学院医学研究科	博士課程1年	太田 庸介
研究の 名称	LSD1阻害を引き金とするシナジー型抗がん剤の開発		
研究のキ ーワード (注1)	創薬、抗がん剤、シナジー効果		
研究の 概要 (注2)	<p>リシン特異的脱メチル化酵素 (LSD1) は白血病細胞や神経芽細胞腫などに高発現し、がんのバイオマーカーや分子標的として注目されている。LSD1はヒストンや非ヒストンタンパク質のメチル化状態を制御することで、がんの増殖に関与している。最近の研究により、LSD1は他のヒストン修飾酵素や核内受容体などと複合体を形成し、協同的に転写を制御していることが明らかになってきた。そのため、LSD1阻害薬とこれらタンパク質に対する抗がん剤を併用すれば抗がん作用のシナジー効果が期待される。そこで、本研究ではLSD1の酵素活性阻害を引き金にヒストン修飾酵素や核内受容体にも作用する「シナジー型」抗がん剤の開発を行う (Figure 1)。</p> <div style="text-align: center;"> <p>シナジー型抗がん剤</p>  </div> <p>Figure 1. LSD1阻害を引き金とするシナジー型抗がん剤の概略</p>		
研究の 背景	<p>現在までに多くのがんに対する分子標的治療薬が開発されてきた。しかし、単一の抗がん剤では十分な治療効果が得られるものは少ない。そのため、本研究では抗がん剤のシナジー効果を利用して、単剤投与や多剤併用療法で課題となる治療効果、副作用などの問題解決を目指す。</p>		

研究手法	LSD1の構造情報をもとにシナジー型抗がん剤を設計し、合成を行う。合成した新規抗がん剤のLSD1阻害活性および阻害機構を評価し、実際にシナジー型抗がん剤としての機能性を評価する。さらにはがん細胞の細胞増殖抑制効果を評価することで、抗がん剤への応用性を評価する。
研究の進捗状況と成果	シナジー型抗がん剤の開発を目指し、数種類の新規抗がん剤を設計し、合成を達成した。合成した新規抗がん剤は既存のLSD1阻害薬であるトラニルシプロミンよりも強い阻害活性を示した。現在、新規抗がん剤が目的のシナジー型抗がん剤として機能するか否かを評価している。
地域への研究成果の還元状況	本研究ではLSD1を阻害する新規抗がん剤を数種類合成することに成功した。LSD1阻害薬は新たな作用機序の抗がん剤として期待されていることから、本研究成果はLSD1阻害薬の創薬研究の発展に寄与することが期待される。
今後の期待	本研究により見出された新規抗がん剤が、シナジー型抗がん剤として機能し、がん細胞に対して高い抗がん作用を示せば、新たな作用機序の抗がん剤として期待される。
研究発表 (注3)	学会発表等 1) <u>Yosuke Ota</u> , “Identification of HDAC3-Selective Inhibitors Using Click Chemistry-Based Combinatorial Fragment Assembly” 2nd Annual Conference ICBS2013, Oct. 8, Kyoto. 2) <u>太田庸介</u> 、 <u>武藤伸輔</u> 、 <u>伊藤幸裕</u> 、 <u>中川秀彦</u> 、 <u>宮田直樹</u> 、 <u>鈴木孝禎</u> 「クリックケミストリーを用いた HDAC8 選択的阻害薬の創製研究：リード化合物探索から構造最適化研究まで」第63回日本薬学会近畿支部大会、2013年10月、京田辺 3) <u>太田庸介</u> 、 <u>伊藤幸裕</u> 、 <u>武藤伸輔</u> 、 <u>中川秀彦</u> 、 <u>宮田直樹</u> 、 <u>鈴木孝禎</u> 「HDAC8選択的阻害薬の創製研究」第31回メディシナルケミストリーシンポジウム、2013年11月、広島 4) <u>太田庸介</u> 、 <u>鈴木孝禎</u> 「新規 HDAC8 選択的阻害薬の創製研究」第3回4大学連携研究フォーラム、2013年12月、京都府立

	<p>医科大学</p> <p>5) <u>太田庸介</u>、伊藤幸裕、武藤伸輔、中川秀彦、宮田直樹、鈴木孝禎「新規 HDAC8 選択的阻害薬の開発と生物活性評価」日本薬学会第 134 年会、2014 年 3 月、熊本</p> <p>論文発表</p> <p>1) Suzuki, T.; Muto, N.; Bando, M.; Itoh, Y.; Masaki, A.; Ri, M.; <u>Ota, Y.</u>; Nakagawa, H.; Iida, S.; Shirahige, K.; Miyata, N. “Design, synthesis, and biological activity of NCC149 derivatives as histone deacetylase 8-selective inhibitors” <i>ChemMedChem</i> 2014, 9, 657-664.</p> <p>2) Itoh, Y.; Ogasawara, D.; <u>Ota, Y.</u>; Mizukami, T.; Suzuki, T. “Synthesis, LSD1 Inhibitory Activity, and LSD1 Binding Model of Optically Pure Lysine-PCPA Conjugates” <i>Comput. Struct. Biotechnol. J.</i> 2014, 9, e201402002.</p> <p>3) Tatum, PR.; Sawada, H.; <u>Ota, Y.</u>; Itoh, Y., Zhan, P.; Ieda, N.; Nakagawa, H.; Miyata, N.; Suzuki, T. “Identification of novel SIRT2-selective inhibitors using a click chemistry approach” <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i> 2014, 24, 1871-1874.</p>
--	--

注1 「研究のキーワード」欄には、ホームページ閲覧者が、研究内容のイメージをつかめるように、キーワードとなる用語を3個から5個程度、記述すること。

注2 「研究の概要」欄には、ホームページ閲覧者の理解の助けとなるように、写真、表、グラフ、図などを用いて、作成すること。

注3 「研究発表」欄には、論文、学会発表、ニュース・リリース等について記述すること。

注4 研究成果が「知的財産」の発明に該当する場合は、ホームページでの公表により、新規性の喪失となるため注意すること。

注5 本書は、A4サイズ3ページ以内とすること。

別紙様式 3

若手研究者育成支援費に係る研究成果報告（ホームページ用）

	(所 属)	(職 名・学 年)	(氏 名)
研究者	京都府立医科大学 分子標的予防医学	大学院生 4回生	田中良一
研究の 名称	分子標的薬MEK阻害剤の抗腫瘍効果における癌促進的microRNAの関与		
研究のキ ーワード (注1)	MEK阻害剤 miR-17-92		
研究の 概要 (注2)	<p>近年の研究から、癌におけるエピジェネティックな異常の一つに microRNA と呼ばれる低分子ノンコーディング RNA の異常が注目されている。癌分野における microRNA 研究は盛んであり、次々と癌促進的に働く microRNA の存在が明らかにされている。癌治療戦略において癌促進的に働く microRNA の発現を抑制することは重要であると考えられる。</p> <p>そこで、本テーマでは、最も代表的な癌促進的 microRNA の1つである、miR-17-92 クラスターに注目した。miR-17-92 は肺癌、膵臓癌、大腸癌や B 細胞リンパ腫などにおいて癌細胞増殖促進に働くことが知られている。また、これらの microRNA の発現は癌促進的に働く転写因子 cMYC に制御されているという報告がある (Nature, 435, 839-843, 2005)。以前、当研究室において MEK 阻害剤が大腸癌細胞において cMYC の発現量を減少させる結果を見いだしている (Cancer Sci, 98, 1809-1816, 2007)。これらの報告から、MEK 阻害剤による癌細胞増殖抑制効果のメカニズムにおいて癌促進的に働く miR-17-92 を低下させる可能性を考えた (図1)。</p> <div style="text-align: center;"> </div>		
	<p>図1 MEK阻害剤によるmiR-17-92クラスター制御</p>		
	<p>実際にヒト大腸癌細胞株に対して MEK 阻害剤を処理し、</p>		

	<p>microRNA の発現量を検討した。その結果、<u>MEK 阻害剤による miR-17-92 クラスターの発現量低下がみとめられた。この MEK 阻害剤による miR-17-92 クラスターの制御は新規の発見である。</u></p> <p>今後、MEK阻害剤による抗腫瘍効果において、これらのmicroRNA発現量低下の寄与を明らかにしていきたい。これらの解明は、分子標的薬MEK阻害剤による抗腫瘍効果において新規メカニズムを発見したことになる。また、この新規メカニズムの発見は、<u>癌促進的に働く miR-17-92 クラスターが、癌治療における魅力的なターゲットとなりうると考えられる。</u></p>
<p>研究の背景</p>	<p>現在、抗癌剤として様々な種類の分子標的薬が世界中で開発されており、MEK阻害剤は代表的な分子標的薬の1つである。MEK阻害剤は癌細胞のシグナル伝達経路のうちMAPキナーゼ経路にあるMEK酵素を阻害することで抗腫瘍効果を発揮することがわかっている。ところが、MEK阻害剤の効果のメカニズムにはまだまだわかっていない点も多い。このメカニズムを少しでも明らかにすることが本研究の目的である。</p> <p>以前、当研究室ではMEK阻害剤が大腸癌細胞においてcMYCの発現量を減少させることを報告している (Cancer Sci, 98, 1809-1816, 2007)。また一方で、癌促進的に働く miR17-92 クラスターは転写因子cMYCに制御されているという報告がある (Nature, 435, 839-843, 2005)。これらの報告から、我々はMEK阻害剤による癌細胞増殖抑制効果のメカニズムにおいて癌促進的に働く miR-17-92 の低下が関与している可能性を考えた。</p> <p>本研究ではMEK阻害剤が miR-17-92 クラスターを制御することでいかに抗腫瘍効果を発揮しているのかを解明していきたい。</p>
<p>研究手法</p>	<p>【1】はじめに大腸癌細胞にMEK阻害剤を処理してWST-8アッセイを行うことで細胞増殖抑制効果を確認し、フローサイトメトリーによる解析では細胞がG1期停止を起こしていることが示された。【2】またその時のタンパク質の変化をウェスタンブロット法で解析した。miR-17-92 クラスターの標的タンパク質であるPTENやBIMの変化を調べた。更にmicroRNAの変化をリアルタイムPCR法で解析すると、miR-17-92 クラスターの発現量の変化を調べた。次にこれら標的タンパク質とmiR-17-92 クラスターの発現量変化がどのような意味を持つのかを解明していく。</p> <p>【3】miR-17 mimicをトランスフェクションした後にMEK阻害剤を処理し、フローサイトメトリーを施行した。【4】更にsiPTENをトランスフェクションした後にMEK阻害剤を処理してフローサイトメトリーを施行した。</p>

研究の進捗状況と成果	<p>【1】ではMEK阻害剤による細胞増殖抑制効果を確認し、フローサイトメトリーではG1期停止細胞の増加が認められた。【2】ではmiR-17-92クラスターの発現量が減少しており、標的タンパク質であるPTENとBIMの発現量は増加が認められた。【3】ではmiR-17 mimicをトランスフェクションした場合、MEK阻害剤によるG1期停止細胞の割合が減少した。【4】最後に標的タンパク質であるPTENの関与を調べるため、siPTENをトランスフェクションしても、G1期停止細胞の割合が一部減少した。</p> <p><u>以上の結果からMEK阻害剤はそのG1期停止効果のなかには癌促進的に働くmiR-17-92クラスターを減少させて、その標的タンパク質を制御することで細胞のG1期停止作用に一部寄与していることが示された。</u></p>
地域への研究成果の還元状況	<p>現在、抗癌剤の研究が世界中で盛んに行われている。その中でもMEK阻害剤は魅力的な分子標的薬の1つであり、今回MEK阻害剤の効果のメカニズムを少しでも解明できたことは、今後の癌治療の発展に繋がる可能性があり、また癌治療におけるmicroRNAの制御がいかに重要であるかを示すものである。</p>
今後の期待	<p>本研究ではMEK阻害剤が、癌促進的に働くmicroRNAであるmiR-17-92クラスターの発現量を減少させることを示した。これらmiR-17-92クラスターの変化は、その標的タンパク質を増加させることにより、MEK阻害剤におけるG1期停止にも一部寄与していることが示された。</p> <p>これらの結果はMEK阻害剤の抗腫瘍効果の新たな一面を明らかにしただけでなく、癌細胞におけるmicroRNAの制御が今後の癌治療の発展にも非常に重要な役割を果たすものと考えられる。</p>
研究発表 (注3)	<p>現在本研究の結果を国際誌に投稿準備中である。</p>

注1 「研究のキーワード」欄には、ホームページ閲覧者が、研究内容のイメージをつかめるように、キーワードとなる用語を3個から5個程度、記述すること。

注2 「研究の概要」欄には、ホームページ閲覧者の理解の助けとなるように、写真、表、グラフ、図などを用いて、作成すること。

注3 「研究発表」欄には、論文、学会発表、ニュース・リリース等について記述すること。

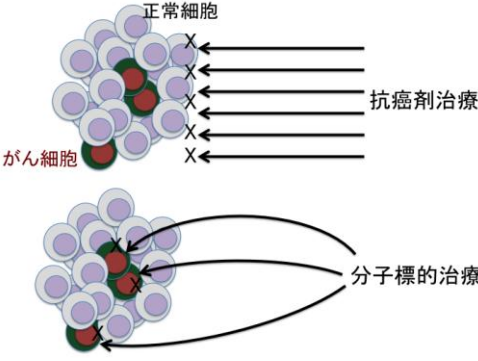
注4 研究成果が「知的財産」の発明に該当する場合は、ホームページでの公表に

より、新規性の喪失となるため注意すること。

注5 本書は、A4サイズ3ページ以内とすること。

別紙様式 3

若手研究者育成支援費に係る研究成果報告（ホームページ用）

	(所 属)	(職 名・学 年)	(氏 名)
研究者	血液・腫瘍内科	大学院4年生	知念 良顕
研究の名称	急性骨髄性白血病における β カテニン発現制御戦略の確立		
研究のキーワード (注1)	急性骨髄性白血病、分子標的治療、キナーゼ阻害剤、 β カテニン		
研究の概要 (注2)	<p>近年、造血器悪性腫瘍の治療成績は向上の一途をたどっている。しかしながら、急性骨髄性白血病における抗癌剤治療の治療成績は数年来、改善を認めておらず、いまだ難治性造血器腫瘍であることに変わりはない。このため、病態解明による更なる治療法の開発は喫緊の課題である。従来の抗癌剤治療では駆逐できない白血病細胞を特異的、かつ、選択的に作用する分子標的治療を開発することができれば、効果・副作用の両側面において、将来の白血病治療戦略への福音は多大と期待できる。我々の研究室では、これまでの知見と経験を活かし、難治性白血病における新たな治療標的分子を探索し、臨床応用への実現を目指す。</p> 		
研究の背景	<p>β カテニンは、β カテニン/TCF4複合体の一部を構成することで造血幹細胞の未分化性の維持、増殖に必須の役割を果たす転写因子である。一方、β カテニンの過剰活性化は、cyclin D1やc-Mycなどのがん関連遺伝子の過剰発現を誘導し、がん細胞の幹細胞性や増殖を促進する。β カテニンが核内で転写因子TCF4と結合し目的の遺伝子を発現させる過程において、両者の仲介役として機能するいくつかの分子が必須である。我々は80例以上の急性骨髄性白血病患者細胞での検討の結果、特定の β カテニン/TCF4仲介分子が白血病細胞、なかでもより未分化で難治性の病型において、しばしば高発現していることを見いだした。白血病の病態形成の解明、新たな治療標的分子の同定の可能性を含む重要な知見であり、更なる研究の発展が期待できる。</p>		

研究手法	<ul style="list-style-type: none"> ・ β カテニン/TCF4仲介分子の遺伝子発現抑制白血病細胞株を作成し、細胞増殖能、コロニー形成能、抗癌剤感受性能の変化を検討する。 ・ β カテニン/TCF4仲介分子の遺伝子発現抑制白血病細胞株と親株の遺伝子発現レベルを網羅的に検討し、分子生物学的意義を解明する。
研究の進捗状況と成果	<p>In vitroにおける β カテニン/TCF4仲介分子発現抑制効果の検討を行った。 β カテニン/TCF4仲介分子の発現が認められた白血病細胞株2株 (KG1, HEL) に対して、同分子に対するRNA干渉(RNAi)を用いてその発現抑制効果を検討した。各細胞株に対してエレクトロポレーション法にてRNAiベクターを導入、puromycinにて細胞選択を行い、安定的 β カテニン/TCF4仲介分子抑制株を樹立した。期待通り、 β カテニン/TCF4仲介分子抑制株では β カテニン発現量が細胞質、核内のいずれにおいても低下しており、これに付随して親株と比べて、細胞増殖能およびコロニー形成能が抑制された。以上の結果より、我々が標的とした β カテニン/TCF4仲介分子は白血病細胞株における β カテニンの発現量調節分子であり、白血病細胞のクローン性増殖を促進する重要な因子であることが明らかとなった。一方、抗癌剤に対する短期間暴露への感受性は親株と有意な差を認めなかった。このことは、 β カテニン/TCF4仲介分子の発現は抗癌剤治療に対する初期治療への反応性よりも、治療後にわずかに残存し再発の源となる、より幹細胞性の高い白血病細胞の生存に関与する可能性を推測させる。現在、 β カテニン/TCF4仲介分子の分子生物学的機能についてはRNA発現アレイを用いた網羅的検討解析を進行中である。また、同分子を選択的に阻害しうる低分子化合物を探索中であり、ヒト白血病細胞株を移植した白血病モデルマウスにおいて、薬理的・生物学的活性を検討中である。</p>
地域への研究成果の還元状況	<p>今回得られた知見は今後の白血病の病態解明および治療薬の開発に貢献できると思われる。急性骨髄性白血病治療の予後因子・再発予測因子としてのバイオマーカー、ならびに治療標的分子として創薬開発への期待が高い。</p>
今後の期待	<p>急性骨髄性白血病治療の予後因子・再発予測因子としてのバイオマーカー、ならびに治療標的分子として創薬開発への期待が高い。</p>
研究発表 (注3)	<p>研究成果は国内外の学会での発表、英文医学雑誌への投稿を行う予定である。</p>

- 注1 「研究のキーワード」欄には、ホームページ閲覧者が、研究内容のイメージをつかめるように、キーワードとなる用語を3個から5個程度、記述すること。
- 注2 「研究の概要」欄には、ホームページ閲覧者の理解の助けとなるように、写真、表、グラフ、図などを用いて、作成すること。
- 注3 「研究発表」欄には、論文、学会発表、ニュース・リリース等について記述すること。
- 注4 研究成果が「知的財産」の発明に該当する場合は、ホームページでの公表により、新規性の喪失となるため注意すること。
- 注5 本書は、A4サイズ3ページ以内とすること。

別紙様式 3

若手研究者育成支援費に係る研究成果報告（ホームページ用）

	(所 属)	(職 名・学 年)	(氏 名)
研究者	京都府立医科大学大学 院 小児発達医学	大学院 4回生	大内 一孝
研究の 名称	胎児型横紋筋肉腫におけるHMGA2遺伝子の機能解析及び分子標的薬の検討		
研究のキ ーワード (注1)	胎児型横紋筋肉腫, HMGA2, netropsin, IGF2BP2		
研究の 概要 (注2)	<p>【背景】横紋筋肉腫（RMS）は、小児で最も頻度の高い軟部悪性腫瘍で、組織型は胎児型（ERMS）と胞巣型（ARMS）に大別される。ERMS は化学療法により予後が改善した一方で、治療関連毒性による晩期障害が問題となっており、新規薬剤の併用による化学療法の強度の低減が切望される。近年、ERMS において <i>HMGA2</i> 遺伝子が高発現していることが明らかとなった。</p> <p>【目的】本研究計画はこのような背景のもと、<i>HMGA2</i> の ERMS 発症に関与する基礎研究を完成し、最終的に ERMS に対する新規治療の開発を目指すものである。</p> <p>【方法】① <i>HMGA2</i> の発現を抑制した ERMS 細胞株を作製し、ヌードマウスに皮下移植し、腫瘍体積を測定した。② <i>HMGA2</i> 阻害剤である netropsin を ERMS 細胞株に投与した。また、ERMS 細胞株の腫瘍を有したヌードマウスに netropsin 及び cyclophosphamide を投与し、投与前後の腫瘍体積変化率を測定した。③ ERMS 細胞株の <i>HMGA2</i> 発現を抑制し、<i>IGF2BP2</i> 発現の変化を検討した。</p> <p>【結果】① <i>HMGA2</i> の発現を抑制した ERMS 細胞株の腫瘍は、コントロール群に比べて縮小傾向であった。② netropsin は ERMS 細胞株に対して抗腫瘍効果を示した。またヌードマウスの皮下に形成させた ERMS 細胞株由来の腫瘍に対し、cyclophosphamide と netropsin の併用治療を行うと、それぞれの単剤での治療にくらべ腫瘍は縮小傾向にあった。③ ERMS 細胞株で <i>HMGA2</i> の発現を抑制すると、<i>IGF2BP2</i> の発現が低下した。</p> <p>【考察】ERMS において、<i>HMGA2</i> の高発現は造腫瘍性に関与していると考えられ、またその経路に細胞増殖因子である <i>IGF2BP2</i> も関わっている可能性が示唆された。<i>HMGA2</i> 阻害剤である netropsin は抗腫瘍効果を有し、cyclophosphamide と併用効果を有する可能性がある。</p>		

<p>研究の背景</p>	<p>横紋筋肉腫（RMS）は、小児で最も頻度の高い軟部悪性腫瘍で、組織型は胎児型（ERMS）と胞巣型（ARMS）に大別される。ERMS の治療では、化学療法の導入により治療成績の向上は認めるものの、化学療法による治療関連毒性（肝中心静脈閉塞症や不妊など）が問題となっており、新規薬剤を治療に組み込むことにより、化学療法の強度の低減が切望される。</p> <p>近年、<i>HMGGA2</i> 遺伝子は ERMS において発現が高く、また核内での免疫染色陽性所見は ERMS に特異的で、病理組織学的に ARMS との鑑別診断に有用であることが明らかとなった (Davicioni E, et al. 2009)。<i>HMGGA2</i> は、核内転写因子であり、クロマチン構造を変化させると同時に他の転写遺伝子と会合して転写複合体を形成し、ターゲット遺伝子の転写を制御することが知られているが、<i>HMGGA2</i> が ERMS の造腫瘍性に果たす役割については未解明である。</p> <p>本研究計画はこのような背景のもと、<i>HMGGA2</i> の ERMS 発症に関与する基礎研究を完成し、最終的に ERMS に対する新規治療の開発を目指すものである。</p>
<p>研究手法</p>	<p>① ERMS における <i>HMGGA2</i> の <i>in vivo</i> での造腫瘍性の検討</p> <p>shRNA を搭載したレンチウイルスベクターを用いて、ERMS の <i>HMGGA2</i> 安定発現抑制細胞株を作成し、6 週齢のヌードマウスの肩甲部皮下に接種し、触知可能な腫瘍を定期的に確認する。</p> <p>② ERMS に対する <i>HMGGA2</i> 阻害剤 netropsin の <i>in vitro</i> 及び <i>in vivo</i> での抗腫瘍効果の検討。</p> <p>a. ERMS 細胞株における netropsin の IC50 (50%阻害濃度) を測定する。</p> <p>b. ERMS 細胞株 (RD) をヌードマウスに移植移植し、腫瘍体積が 100mm³ に達したら、cyclophosphamide 及び netropsin の腹腔内投与を行う。各薬剤の単剤投与群と、両薬剤の併用群で、腫瘍体積の変化を比較する。</p> <p>③ <i>HMGGA2</i> ノックダウンによる遺伝子発現プロファイルの検討</p> <p>ERMS 細胞株における <i>HMGGA2</i> の発現を siRNA 法により抑制し、複数の遺伝子の発現変化を検討し、ERMS において <i>HMGGA2</i> によって転写調節を受けている</p>

	遺伝子を検索する。
研究の進捗状況と成果	<p>① レンチウイルスを用いてERMSの細胞株(RMS-YM)にHMGA2のshRNAを導入し、HMGA2の安定抑制株を作製した。安定抑制株及びコントロール株をそれぞれヌードマウス(n=6)に皮下注射し、9週間後の腫瘍体積を比較した。抑制群は中央値が76mm³, コントロール群は中央値が393mm³であり、HMGA2発現抑制群は腫瘍形成能の低下が見られた。このことから、HMGA2はERMSにおいて造腫瘍能に関与していることが示唆された。</p> <p>② a. HMGA2阻害剤であるnetropsinのERMSに対する抗腫瘍効果の検討を行った。ERMS細胞株(RD, RMS-YM)に対するnetropsinのIC50は、それぞれ148±2μM, 158±26μMであった。</p> <p>b. またRDをヌードマウス(n=1)に皮下注射して腫瘍形成させた後、cyclophosphamide 50mg/kg単剤、netropsin 0.2mg/kg単剤、cyclophosphamide 50mg/kgとnetropsin 0.2mg/kgの2剤をそれぞれマウスに投与したところ、投与一週間後の体積減少率はそれぞれ38%, 21%, 78%であり、単剤投与群に比べ併用群では体積減少率が大きかった。このことから、netropsinはERMSに対して抗腫瘍効果を有し、またcyclophosphamideと相乗効果を持つ可能性が示唆された。</p> <p>③ ERMS細胞株(RD及びRMS-YM)を用い、siRNAを用いてHMGA2をノックダウンし、IGF2BP2の発現を定量的real time PCR法でコントロール群と比較した。コントロール群1に対しRDでは0.46, YMでは0.66と低下していた。ERMSにおいて、IGF2BP2はHMGA2の下流遺伝子である可能性が示唆された。</p>
地域への研究成果の還元状況	
今後の期待	HMGA2阻害剤であるnetropsinはERMS細胞株に対し抗腫瘍効果を示し、cyclophosphamideとの併用効果が示唆された。今後複数のマウスに対して、netropsinとcyclophosphamideの併用効果及び安全性が示されれば、実臨床の胎児型横紋筋肉腫の治療においても、netropsinの併用によりcyclophosphamideの投与量を減量することができ、治療毒性が軽減できる可能性が期待できる。また、IGF2BP2が新たな分子標的となり得るかどうかが、今後さらなる検討が必要である。
研究発表(注3)	上記内容の一部を、第54回日本小児血液・がん学会学術集会にて発表した。

- 注1 「研究のキーワード」欄には、ホームページ閲覧者が、研究内容のイメージをつかめるように、キーワードとなる用語を3個から5個程度、記述すること。
- 注2 「研究の概要」欄には、ホームページ閲覧者の理解の助けとなるように、写真、表、グラフ、図などを用いて、作成すること。
- 注3 「研究発表」欄には、論文、学会発表、ニュース・リリース等について記述すること。
- 注4 研究成果が「知的財産」の発明に該当する場合は、ホームページでの公表により、新規性の喪失となるため注意すること。
- 注5 本書は、A4サイズ3ページ以内とすること。