

導する。第95回日本消化器病学会総会。札幌，5月。

18) 高原映崇，本間 定，田尻久雄。脾臓癌に対する塩酸ゲムシタピンと WT1 ペプチドワクチン併用療法の有効性に関する基礎的検討。第95回日本消化器病学会総会。札幌，5月。

19) 山田順子，河野 毅，山田 尚。転写因子 FLI-1 は接着による巨核球系分化に重要である。第71回日本血液学会学術総会。京都，10月。[臨血 2009；50(9)：1119]

20) Horiguchi-Yamada J, Yamada H. Mutual-activation of FLI-1 and integrins functions as a key event during megakaryocytic differentiation of megakaryoerythroid JAS-R cells. The 51st ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition. New Orleans, Dec.

21) Horiguchi-Yamada J, Kawano T, Yamada H. Transcription activation of FLI-1 plays an important role in adherence-induced megakaryocytic differentiation. 第68回日本癌学会学術総会。横浜，10月。

22) Horiguchi-Yamada J, Kawano T, Yamada H. Transcription factor FLI-1 plays an important role in adherence-induced megakaryocytic differentiation. AACR (American Association for Cancer Research) 100th Annual Meeting 2009. Denver, Apr. [AACR Meet Abst Online 2009；2009：4259]

分子遺伝学研究部

教授：山田 尚 分子腫瘍学

講師：河野 毅 分子腫瘍学

教育・研究概要

I. 分子腫瘍学的研究

1. 白血病細胞の可塑性

腫瘍細胞は多様な機構を使って治療抵抗性を獲得する。従来、抗腫瘍薬に対する薬剤耐性は腫瘍細胞からの薬剤排出や薬剤代謝の側面から研究されてきた。しかし、腫瘍細胞に内在する可塑性に基づく脱分化等が治療耐性に関与する可能性も考えられる。我々が樹立した巨核芽球性白血病由来の細胞株 JAS-R はこのような可塑性を容易に示す細胞である。これまでの研究で JAS-R は培養条件の変化によって巨核球と赤芽球との間の形質転換を示すことが明らかとなった。さらに、白血病幹細胞形質の獲得も可能なようである。すなわち、低酸素やマトリックスなどの培養条件を骨髓環境下と近似させることによって、JAS-R 細胞を白血病幹細胞、さらに、幹細胞の増殖生存を維持する支持細胞としての間葉系幹細胞へと変化させることができないかを検討している。低酸素下では、JAS-R 細胞はカドヘリンの発現が誘導され、更に、造血の維持に重要な様々な因子の誘導が可能である。この結果、腫瘍細胞は細胞周期の停止などを通して薬剤抵抗性を獲得できるものと考えられる。このような腫瘍生物学的な変化を可能にしている分子生物学的機構についても解析を行っている。

II. 分子薬理学的研究

1. テロメラーゼ阻害薬

染色体末端のテロメアはグアニンに富んだ DNA である。陽イオン性ポルフィリン TMPyP4 はテロメア領域のこのグアニンに結合して安定した DNA 四重鎖構造を作る。我々は白血病細胞を用いて TMPyP4 の抗腫瘍活性を検討し、TMPyP4 による増殖抑制効果はテロメアの短縮に依存した現象ではないこと。TMPyP4 処理で c-Myc が顕著に抑制され、遺伝子発現修飾が抗腫瘍活性に関連することを示してきた。今回、TMPyP4 の網膜芽細胞腫における抗腫瘍効果を検討した。TMPyP4 は直接的にアポトーシスを誘導し、ヒストン H2AX および p53 がリン酸化を受けていることが判明した。また、TMPyP4 は膜芽細胞腫の放射線感受性を増強し、

併用により照射線量を減量できる可能性を明らかにした。

2. ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬

近年、網膜芽細胞腫は検診等の充実により早期発見例が増加し、比較的予後良好な腫瘍となった。しかし、進行がんや視機能の温存、そして二次癌の発生などを考慮すると放射線や化学療法、分子標的治療薬の導入など、更なる研究の進展が望まれている。近年、クロマチンリモデリングによる抗腫瘍効果が注目されている。網膜芽細胞腫は腫瘍抑制遺伝子である p53 に変異が存在しないことから、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害作用と p53 安定性に関する研究に適している。そこで、我々は網膜芽細胞腫治療時の放射線線量を下げる目的に HDAC 阻害薬 (HDACI) の併用効果とその機構を検討している。HDACI としてはバルプロン酸と depsipeptide を用いて検討している。in vitro の実験では併用には相乗効果があり、線量を大幅に下げることができた。この作用機序には p53 のアセチル化とそれに伴う蛋白質の安定化が関与しているようである。現在、HDACI による p53 のアセチル化とユビキチン化の阻害との関連を検討している。

我々は HDACI は DNA 傷害性の抗腫瘍薬との併用においても有効なことを示してきた。DNA トポイソメラーゼ I 阻害薬の塩酸イリノテカン (CPT-11) は消化器がんをはじめ多くの固形腫瘍の治療に有効な薬剤である。そこでバルプロン酸と CPT-11 の併用投与を検討すると抗アポトーシス作用を有する BCL2L1 の発現をバルプロン酸が抑制することで相乗効果が得られることが判明した。

3. DNA トポイソメラーゼ I 阻害薬耐性機構の検討

DNA トポイソメラーゼ I 阻害薬耐性と DNA トポイソメラーゼ I 変異の関連を大腸がん細胞を用いて検討している。DNA トポイソメラーゼ I 機能をほぼ完全に失っている変異細胞を用いて遺伝学的な変異を探索し、遺伝子機能上の重要なアミノ酸部位の同定を試みている。

Ⅲ. 分子神経学的研究

1. 脊髄性筋萎縮症に関する研究

脊髄性筋萎縮症 (Spinal muscular atrophy: SMA) は進行性の筋力低下・筋萎縮を呈する常染色体劣性遺伝の疾患である。SMA 患者では責任遺伝子 SMN1 の変異が知られている。SMN1 には相同遺伝子 SMN2 が存在する。通常、この SMN2 の発現量は少なく発病を抑制することができない。この点を

明らかにするために、SMN2 蛋白質の調節機構を検討している。現在、hnRNP A1/A2 による SMN2 の mRNA の安定化と SMN 蛋白質への翻訳調節についての研究を通して、新しい治療法の開発や新たな治療システムの構築を目指している。

2. 認知症の遺伝学的検討

アルツハイマー病は病理組織学的にはある程度明確に規定できる疾患である。しかし、その発症に関する分子病態は不明な点が多い。そこで、Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) の遺伝子多型と臨床病型の相関について検討を加えている。

「点検・評価」

1. 点検

1) 研究

がん細胞においては iPS 細胞の作製に重要な 4 つの遺伝子の多くが過剰発現していることが多い。このことは、がん細胞自身に可塑性が内在している可能性を示唆する。我々が樹立した巨核芽球性白血病細胞株 JAS-R は増殖環境に基づく可塑性を研究するのに適した細胞である。この細胞を用いて骨髓類似の培養環境下で、白血病細胞の分化、脱分化そして異分化について研究を進めた。現在でも、白血病は予後不良な疾患であり、我々の研究が白血病の病態解析のみでなく、将来的な治療法の開発へもつながる大きなインパクトを与えることのできる研究である。

抗腫瘍薬の研究ではテロメラーゼ阻害薬、ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬そして DNA-トポイソメラーゼ I 阻害薬を中心に研究を進めた。これらの薬剤の抗腫瘍効果の分子機構の解明が研究課題であった。しかし、新たな治療法の開発につながる道筋を十分に示すまでには至っていない。

脊髄性筋萎縮症に関する研究では、SMN2 による蛋白質産生不足の分子機構の解明を進めている。また、アルツハイマー病では遺伝子多型と病型、病態との関連を検討している。これらの研究からは患者の治療・予防に貢献できる新たな知見が得られるものと期待している。

2) 学内への貢献

学内での分子生物学・遺伝学的研究の活発化に伴い DNA シーケンシングの依頼が急激に増加している。本年度もこれらの要望に質を落とすことなく対応することができたと考えている。しかし、研究は日々進化しており、新たなサービスの提供が可能かを常に考え、実行する姿勢がなかったとも反省している。遺伝子解析は学内における研究の基礎となる

ものであり、教員・研究者への、尚一層の便宜を図りたい。

3) 教育

今年度も、学部・大学院への教育・実習に参加した。学生・院生の側からのニーズと教員側からの学問的興味を合致する工夫を更に進める必要がある。

2. 評価

本年度も研究の分野ではある程度の成果を挙げることができた。これからは、基礎的な研究成果を如何に臨床医学の分野に還元するか。また、研究内容もより臨床医学に根差したものであるかが問われる。その意味では、今まで以上に臨床教室との連携を模索し、社会に貢献する姿勢を打ち出す必要がある。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Takeuchi T, Hayashi T, Bedell M¹⁾, Zhang K¹⁾ (¹UCSD), Yamada H, Tsuneoka H. A novel haplotype with the R345W mutation in the EFEMP1 gene associated with autosomal dominant drusen in a Japanese family. Invest Ophthalmol Vis Sci 2010; 51(3): 1643-50.
- 2) Son K, Fujioka S, Iida T, Furukawa K, Fujita T, Yamada H, Chiao PJ, Yanaga K. Doxycycline induces apoptosis in PANC-1 pancreatic cancer cells. Anti-cancer Res 2009; 29(10): 3995-4003.
- 3) Hama T, Yuza Y, Saito Y, O-uchi J, Kondo S, Okabe M, Yamada H, Kato T, Moriyama H, Kurihara S, Urashima M. Prognostic significance of epidermal growth factor receptor phosphorylation and mutation in head and neck squamous cell carcinoma. Oncologist 2009; 14(9): 900-8.
- 4) Arakawa Y, Saito S, Yamada H, Aiba K. Simultaneous treatment with camptothecin and valproic acid suppresses induction of Bcl-X(L) and promotes apoptosis of MCF-7 breast cancer cells. Apoptosis 2009; 14(9): 1076-85.
- 5) Mikami-Terao Y, Akiyama M, Yuza Y, Yanagisawa T, Yamada O, Kawano T, Agawa M, Ida H, Yamada H. Antitumor activity of TMPyP4 interacting G-quadruplex in retinoblastoma cell lines. Exp Eye Res 2009; 89(2): 200-8.

II. 総説

- 1) 鹿島 剛. 【RNA プロセシング異常 RNA 病を斬る】 RNA 病としての脊髄性筋萎縮症. 細胞工学 2010; 29(2): 149-53.

III. 学会発表

- 1) Yamada H, Horiguchi-Yamada J, Kawano T. Mutual-activation of FLI-1 and integrins functions as a key event during megakaryocytic differentiation of megakaryo-erythroid JAS-R cells. 51st American Society of Hematology Annual Meeting. New Orleans, Dec. [Blood 2009; 114(22): 3650]
- 2) 山田 修¹⁾, 尾崎幸次¹⁾, 秋山政晴, 王 艶華¹⁾, 川内喜代隆¹⁾, 山田 尚, 泉二登志子¹⁾, 松岡瑠美子¹⁾ (¹東京女子医科大). CML 細胞の薬剤耐性とテロメレース. 第 71 回日本血液学会学術集会. 京都, 10 月. [臨血 2009; 50(9): 1219]
- 3) 河野 毅, 阿川美幸, 岩瀬さつき, 山田順子, 山田 尚. 新規巨核芽球性白血病細胞株における分化の解析. 第 71 回日本血液学会学術集会. 京都, 10 月. [臨血 2009; 50(9): 1208]
- 4) 秋山政晴, 寺尾陽子, 河野 毅, 山田 修 (東京女子医科大), 山田 尚. Antitumor activity of TMPyP4 interacting G-quadruplex in retinoblastoma cell lines (G-quadruplex 構造を標的とした TMPyP4 の網膜芽細胞腫に対する抗腫瘍効果). 第 68 回日本癌学会学術総会. 横浜, 10 月. [日癌会総会記 2009; 68: 487]
- 5) 山田順子, 河野 毅, 山田 尚. Transcriptional activation of FLI-1 plays an important role in adherence-induced megakaryocytic differentiation (接着刺激による巨核球分化には転写因子 FLI-1 遺伝子の転写活性化が重要である). 第 68 回日本癌学会学術総会. 横浜, 10 月. [日癌会総会記 2009; 68: 270]
- 6) Horiguchi-Yamada J, Kawano T, Yamada H. Transcription factor FLI-1 plays an important role in adherence-induced megakaryocytic differentiation. American Association for Cancer Research 100th Annual Meeting. Denver, Apr. [Proc Annu Meet Am Assoc Cancer Res 2009; 50: 1029]

IV. 著書

- 1) 山田 尚, 山田順子. 第 I 部 分子細胞生物学 4. 細胞内シグナル伝達機構. 花岡炳雄, 永倉俊和編. 臨床分子細胞生物学. 東京: メディカルレビュー社, 2009. p.51-73