

胞と大腸癌細胞の融合細胞の融合効率を増強し、自己大腸癌に対する効果的 CTL を誘導する。第 93 回日本消化器病学会総会。青森，4 月。

- 5) 本間 定, 佐川由紀子, 永崎栄次郎, 小井戸薫雄, 小幡 徹. プロテオーム解析技術 (LC/MS/MS) を用いた肝癌の T 細胞認識抗原の探索。第 43 回日本肝臓学会総会。東京，5 月。
- 6) Koido S, Homma S, Takahara A, Nagasaki E, Mitsunaga M, Tanaka Y, Fujise K, Tajiri H. Generation of antigen-specific T cells stimulated by fusions of dendritic cells and allogeneic cancer and allogeneic cancer cell line. 66th Annual Meeting of Japanese Cancer Association. Yokohama, Oct.
- 7) Homma S, Sagawa Y, Koido S, Nagasaki E, Takahara A. Characterization of hepatoma antigen identified from denritic/hepatoma fusion cells by mass spectrometric analysis. 66th Annual Meeting of Japanese Cancer Association. Yokohama, Oct.

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
 講師：秋山 政晴 小児腫瘍学
 (兼任)

教育・研究概要

I. 分子腫瘍学的研究

1. 巨核芽球性白血病の分化系統転換と血小板への分化誘導

巨核芽球性白血病は小児ダウン症では比較的頻度が高く予後良好な疾患である。しかし、成人巨核芽球性白血病の発症頻度はきわめて低く、化学療法に抵抗性であり予後不良である。我々は、巨核芽球性白血病細胞株 JAS-R を樹立したが、この細胞株を用いて巨核芽球性白血病の成因および巨核球・血小板への分化を研究している。

巨核球と赤芽球はその前駆細胞を共有している。JAS-R においても巨核球と赤芽球の両性格が認められ、細胞接着がこの形質転換に関与していた。すなわち、接着性細胞 JAS-RAD は巨核球系であり、浮遊性細胞 JAS-REN は赤芽球系であった。さらに興味あることには、JAS-RAD はエリスロポエチンを産生するが JAS-REN ではその産生が認められず、エリスロポエチンに部分的に依存して増殖していた。接着がどのような機構によるかを検討した結果、接着には二価の陽イオンが必要であり、RGDS テトラペプチドが接着を抑制した。また、JAS-RAD はコラーゲンに比べてフィブロネクチンに強く接着した。これらの結果から、JAS-RAD の接着はインテグリンを介したものであることが推定された。分化系統の決定は転写因子の組み合わせで調節されている。JAS-RAD においては FLI1, GF11, RUNX1 の発現が亢進していたが GATA1, FOG1, NFE2 の発現には両者の相違が認められなかった。このことは、後者の遺伝子群は巨核芽球および赤芽球の増殖に共に必要なものであり、前者の遺伝子群が巨核芽球の性質を規定していると推定された。

JAS-RAD は TPA をはじめとする分化誘導化合物によって proplatelet 様の形態を呈する。この巨核球・血小板への分化がどのような情報伝達系を介しているかは不明である。現在、MAPK 系をはじめとする情報伝達系と JAS-RAD の最終分化の関連を検討している。

II. 分子薬理学的研究

1. テロメラーズ阻害薬

テロメアは染色体末端に存在する DNA-蛋白質複合体であり、二重鎖 DNA の末端を DNA の融合から保護している。テロメア長は末端 DNA 複製問題から、細胞分裂に伴い徐々に短縮する。テロメラーズは RNA を鋳型とする RNA 依存性 DNA 合成酵素でありテロメア長の短縮を抑制するが、通常ヒト体細胞ではその発現が認められない。しかし、多くの悪性腫瘍ではその発現が亢進しておりテロメラーズを標的とする悪性腫瘍の治療は魅力的な戦略の一つである。

陽イオン性ポルフィリン TMPyP4 はグアニンに富んだ DNA 領域の四重鎖構造に結合しその構造を安定化させる。テロメアはこの構造を作りやすいため TMPyP4 はテロメアとの親和性が強い。そこで、白血病細胞株 K562 を用いて TMPyP4 の抗腫瘍活性を検討した。K562 細胞を TMPyP4 で短時間処理をするとその増殖は濃度依存性に抑制された。これは K562 細胞にテロメラーズの触媒遺伝子 hTERT を導入した K562/hTERT でも同様に観察された。K562/hTERT ではテロメラーズ活性の増強に加えて、テロメア長が伸長していることから 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かった。テロメア様配列や GC に富んだ領域はゲノム上に広く分布している。そこで TMPyP4 が遺伝子発現に影響を与えているか microarray を用いて検討した。TMPyP4 処理により c-Myc が顕著に抑制されることが判明した。これらの事実は TMPyP4 がテロメア長とは無関係に抗腫瘍効果を示し、その機序の一つが遺伝子発現に対する修飾であることが示唆された。現在、他の腫瘍細胞に対しても TMPyP4 が抗腫瘍効果を示すかどうか検討している。

2. ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬

ヒストンのアセチル化はクロマチンリモデリングを惹起する重要な機構の一つであり、遺伝子発現制御に重要な機能を果たしている。ヒストンの脱アセチル化はヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) で行われ、これを抑制することは腫瘍細胞の分化や細胞死を誘導できるものとして期待がもたれている。HDAC は触媒中心の立体構造が明らかとなり、これに伴い特異的阻害薬 (HDACi) の開発が進んでいる。バルプロン酸は古くから使用されている抗てんかん薬であるが、HDACi 作用があることが判明した。

網膜芽細胞腫は網膜神経細胞由来の小児腫瘍であり、予後良好な腫瘍である。しかし、視機能を温存

して治療を進めるためには新たな治療法の開発が必要である。そこで、安全性の高いバルプロン酸を中心として、HDACi が網膜芽細胞腫の治療に応用できないかを検討している。HDACi は網膜芽細胞腫由来の細胞株の増殖を抑制し、アポトーシスを誘導することが判明した。この増殖抑制機構は網膜芽細胞腫という極めて特異的な遺伝子異常を伴う腫瘍の生物学的な特徴に関連している可能性があり、現在、その作用機序を詳細に検討している。

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。原因遺伝子 (SMN1) と関連遺伝子 (SMN2) が同定されており、エキソン 7 のスプライシングの分子調節機構が病因上の問題となっている。詳細な研究の結果、SMN2 ではほとんどの mRNA がエキソン 7 を欠落し、これは 1塩基の変換に伴う hnRNP A1 依存性スプライシング・サイレンサーの創作に起因していることが示された (T. Kashima et al. Nature Genetics (2003), PNAS (2007), HMG (2007))。現在、hnRNP A1 による SMN1/2 の mRNA の安定化と SMN 蛋白質の発現の調節についての研究を、新しい治療法の開発や新たな研究システムの構築を目指して取り組んでいる。

「点検・評価」

I. 点検

1. 研究

がんに関する研究では、我々が樹立した巨核芽細胞性白血病細胞株 JAS-R を用いて、興味ある結果を明らかにすることができた。白血病は分離・浮遊した細胞として増殖するため増殖環境に対する研究発展が立ち遅れていたが、我々の研究で、白血病細胞においても増殖環境との相互作用が増殖や分化に大きく関与することを示せた。このことは今後の白血病研究に大きなインパクトを与えることができたものと考えている。

抗腫瘍薬の研究においてもテロメラーズ阻害薬およびヒストン脱アセチル化酵素阻害薬において新たな可能性を示すことができた。今後はこれらの結果を臨床応用に向け、さらに研究を進めたいと考えている。

平成 19 年度より、新たに神経学に関する研究分野を開くことができた。これからの発展に期待してい

ただきたい。

2. 学内への貢献

DNA シーケンシングの受託は順調に増加している。学内における分子生物学的な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と考えている。

3. 教育

今年度も、学部・大学院への教育に参加できた。教員が増えたこともあり、より重い責任を果たしたいと考えている。

II. 評価

今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が問われる。研究成果の臨床応用に向け、更なる努力を行う必要があると決意している。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Suzuki H, Arakawa Y, Ito M, Saito S, Takeda N, Yamada H, Horiguchi-Yamada J. MLF1-interacting protein is mainly localized in nucleolus through N-terminal bipartite nuclear localization signal. *Anticancer Res* 2007; 27(3B) 1423-30.
- 2) Ramasamy S, Duraisamy S, Barbashov S, Kawano T, Kharbanda S, Kufe D. The MUC1 and galectin-3 oncoproteins function in a microRNA-dependent regulatory loop. *Mol Cell* 2007; 27(6) : 992-1004.
- 3) Yamada H, Sekikawa T, Iwase S, Arakawa Y, Suzuki H, Agawa M, Akiyama M, Takeda N, Horiguchi-Yamada J. Segregation of megakaryocytic or erythroid cells from a megakaryocytic leukemia cell line (JAS-R) by adhesion during culture. *Leukemia Res* 2007; 31(11) : 1537-43.
- 4) Kawano T, Ito M, Raina D, Wu Z, Rosenblatt J, Avigan D, Stone R, Kufe D. MUC1 oncoprotein regulates Bcr-Abl stability and pathogenesis in chronic myelogenous leukemia cells. *Cancer Res* 2007; 67(24) : 11576-84.
- 5) Kashima T, Rao N, David CJ, Manley JL (Columbia University). hnRNP A1 functions with specificity in repression of SMN2 exon 7 splicing. *Hum Mol Genet* 2007; 16(24) : 3149-59.
- 6) Kobayashi K, Shiba A, Yamada H, Ishibashi Y, Nakayama R, Toriumi Y, Mitsumori N, Kashiwagi H, Yanaga K. Frequent splicing aberration of the base excision repair gene hMYH in human gastric

cancer. *Anticancer Res* 2008; 28(1A) : 215-22.

- 7) Yamada H, Sekikawa T, Agawa M, Iwase S, Suzuki H, Horiguchi-Yamada J. Adhesion to fibronectin induces megakaryocytic differentiation of JAS-REN cells. *Anticancer Res* 2008; 28(1A) : 261-6.
- 8) Mikami-Terao Y, Akiyama M, Yuza Y, Yanagisawa T, Yamada O, Yamada H. Antitumor activity of G-quadruplex-interacting agent TMPyP4 in K562 leukemic cells. *Cancer Lett* 2008; 261(2) : 226-34.

II. 総説

- 1) 山田 尚, 河野 毅, 山田順子. 遺伝子診断によるがん罹患ハイリスク群の設定. 成人病と生活習慣病 2007; 37(11) : 1213-7.

III. 学会発表

- 1) Horiguchi-Yamada J, Yamada H. Adhesion to the substratum of culture dishes induces the lineage switching of megakaryo-erythroid JAS-R cells. AACR (American Association for Cancer Research) Annual Meeting 2007. Los Angeles, Apr.
- 2) 山田順子, 山田 尚. Cell adhesion induces megakaryocytic differentiation in megakaryo-erythroid leukemia JAS-R cells. 第66回日本癌学会学術総会. 横浜, 10月.
- 3) 荒川泰弘, 斉藤 忍, 山田 尚, 鈴木英明, 相羽恵介. Induction of apoptosis in MCF-7 cells by concurrent treatment of camptothecin and valproic acid. 第66回日本癌学会学術総会. 横浜, 10月.
- 4) 寺尾陽子, 秋山政晴, 湯坐有希, 柳澤隆昭, 山田 修 (東京女子医大), 山田 尚. G-quadruplex interacting agent TMPyP4 の K562 細胞に対する抗腫瘍効果と作用機序. 第69回日本血液学会総会. 横浜, 10月.
- 5) 山田順子, 関川哲明, 岩瀬さつき, 山田 尚. インテグリン刺激は巨核芽球系・赤芽球系の分化分岐シフトに影響する. 第69回日本血液学会総会. 横浜, 10月.