分子病理学講座18年間の研究成果

―“Understanding of diseases” and “Lessons from patients”―

分子病理学講座

守山　正胤

研究歴

昭和63年3月	秋田大学大学院医学研究科博士課程終了（医学博士） 膀胱癌の電子顕微鏡的研究
昭和63年4月	東京厚生年金病院泌尿器科　（医員のち医長） ＋東京大学医科学研究所病理学研究部（客員研究員） 膀胱癌におけるc-erbB-2 (HER-2)遺伝子の発現異常
平成2年7月	大阪大学微生物病研究所発癌遺伝子部門　（ポスドク） 癌抑制遺伝子WT1の解析
平成3年9月	東京大学医科学研究所病理学研究部　（助手） 悪性リンパ腫におけるBCL-6遺伝子異常と解析
平成10年11月	鳥取大学医学部生命科学科分子生物学教室　（助教授） 横紋筋肉腫に発現する新しい筋マーカーArppの同定と解析
平成15年9月	大分医科大学病理学第二講座（のち分子病理学講座）（教授）

研究に対する基本的な考え方と進め方（守山研究室の）

1.　どういう研究をするか＝どういう**論文**を書くか

研究成果はすべて論文に帰結する

2.　どのように進めてきたか

①　研究理念の共有が不可欠（研究には哲学が必要）

②　奴隷制はとらない（教授が全てを支配する体制はとらない）

③　個々の自主性を尊重する

④　互いに批判することが進歩を生む（Discussionが重要）

1.　どういう研究をするか＝どういう論文を書くか

1）質の高い論文を出すことにこだわる(数ではなく**質が大事**)。

① 質の高い論文とは、**仮説の検証(実験データ)が充実したもの**で、示されたデータが信頼でき、批判に耐えられる論文。

② 論文の質を保証する一つの指標としてimpact factor (IF)は参考になる。

③ IF自体が重要ではないが、仮説の検証にいかに真面目に丁寧に取り組んでいるかを可視化できる指標ではある(粗製濫造でないことを示せる)。

2）**現時点で**多く引用される論文でなくともよい。

① 遠い将来必要とされた時に引用されるに足る質を保った論文(新しい仮説の根拠となるような論文)であればよい。

3）研究費をたくさん**稼げる研究**がよい研究ではない（研究費を取ることは大切だが）。

4）**自分の研究室**から出た論文(筆頭もしくは責任著者である)を重視する。

1.　どういう研究をするか＝どういう論文を書くか

5）もちろん、IFが高くなくとも質の高いジャーナルはある。　例えば、

①	Journal of Biological Chemistry	(IF: 5.157)	
②	Journal of Immunology	(IF: 5.422)	
③	Journal of Virology	(IF: 5.103)	
④	Molecular and Cellular Biology	(IF: 4.272)	etc.

IFは、自分たちが仮説の検証にいかに真面目に丁寧に取り組んでいるかを可視化できる指標

研究に対する基本的な考え方と進め方（守山研究室の）

1．　どういう研究をするか＝どういう論文を書くか

研究成果はすべて論文に帰結する

2．　どのように進めてきたか

①　研究理念の共有が不可欠（研究には哲学が必要）

“Understanding of diseases” and “lessons from patients”が我々の研究哲学

②　奴隷制はとらない（教授が全てを支配する体制はとらない）

③　個々の自主性を尊重する（自立したPIの養成を目指す）

④　互いに批判することが進歩を生む（Discussionが重要）

18年間の業績の評価と総括

1. 腎癌

① 悪性化に関わる遺伝子異常
松浦、中田、三股、吉本、井上、成松、高橋、甲斐、(守山)

② 異常発現するmicroRNA
中田、塚本

2. 胃癌

① 胃癌のゲノムプロファイルの作成とその病理学的意義
塚本、野口(剛)、村上、内田(政)、黒田、平下

② 胃癌に対する分子標的治療
塚本、平下

③ 胃癌で異常発現するmicroRNA
塚本、中田

④ ピロリ菌感染と胃癌発症の関連性
内田、山岡、藤岡、村上、Tung、金田、

3. 膵癌

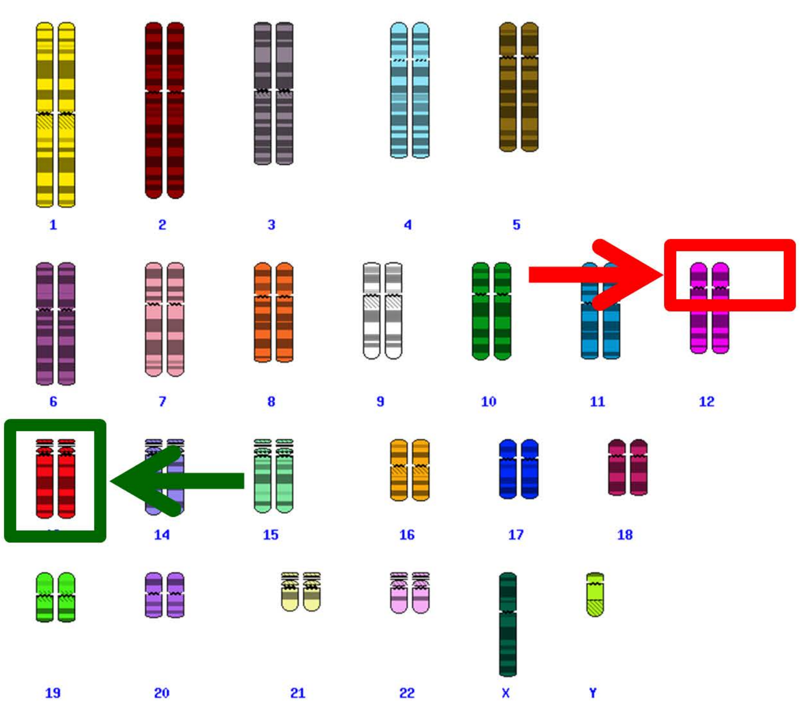
① 上皮内癌が浸潤癌に進行するメカニズムの解明
泥谷、黒木、一万田、Ratsada、木下

② 膵癌の進行メカニズムに基づく治療戦略の提案
泥谷、天田

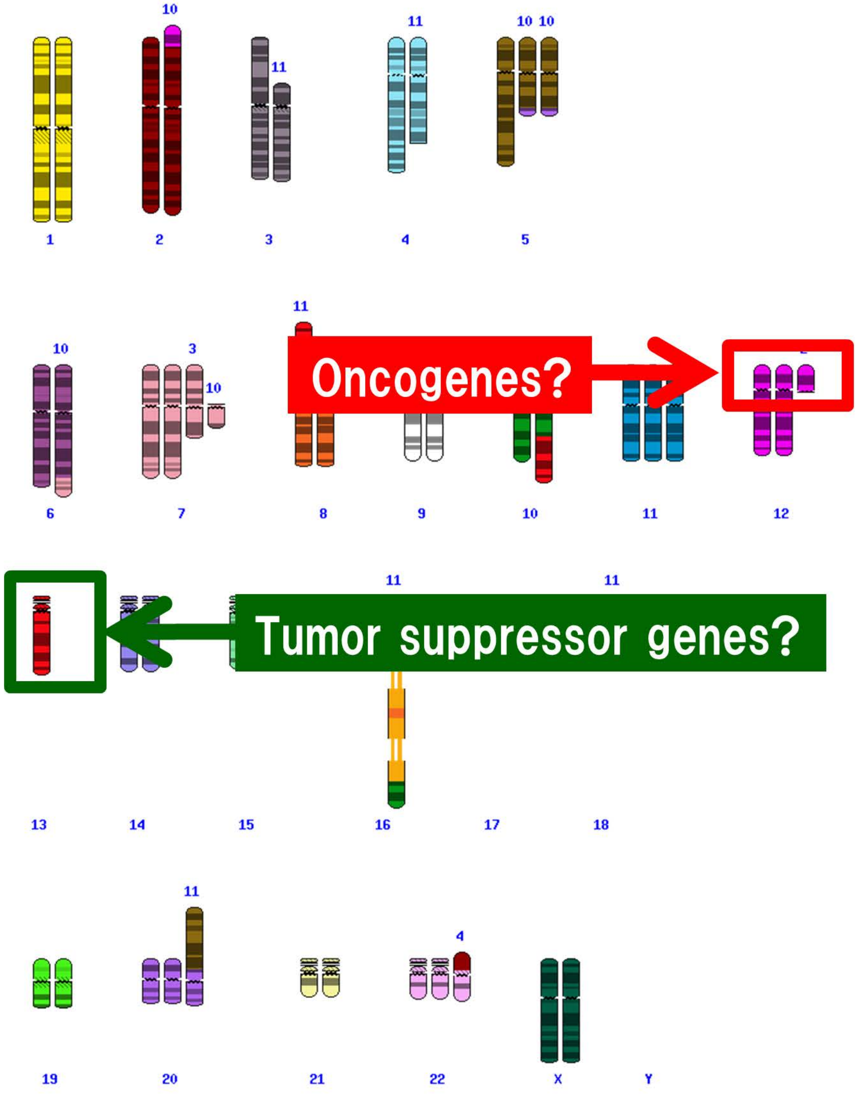
4. ポスト癌ゲノム時代の新しい個別化癌化学療法の開発

① 患者癌組織(癌オルガノイド)を用いた個別化癌化学療法
塚本、泥谷、麓、柴田、平下、黒木、木下、渕野

Background: Genomic copy number aberrations（CNAs）in cancer cells



Normal

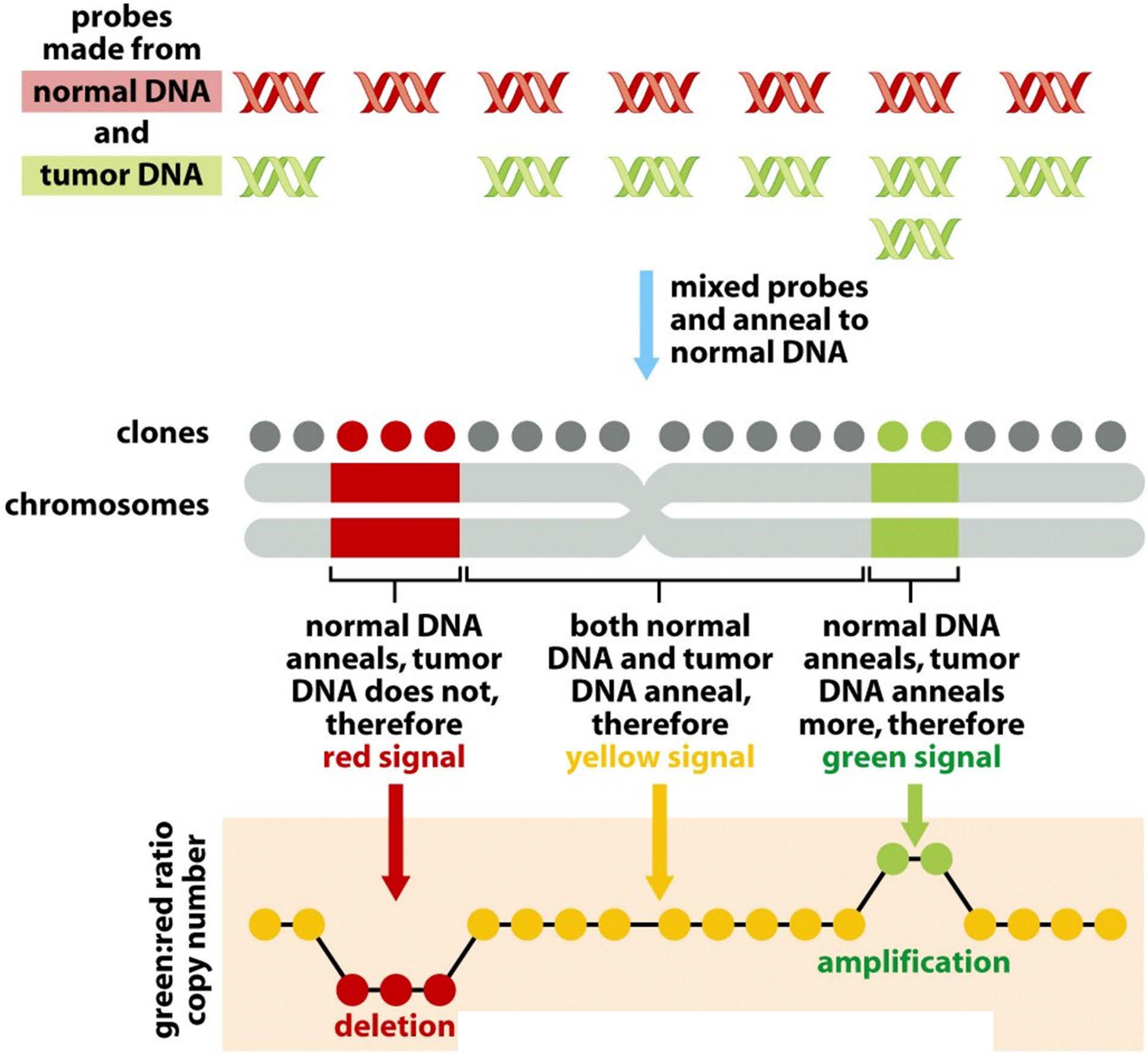


Oncogenes?

Tumor suppressor genes?

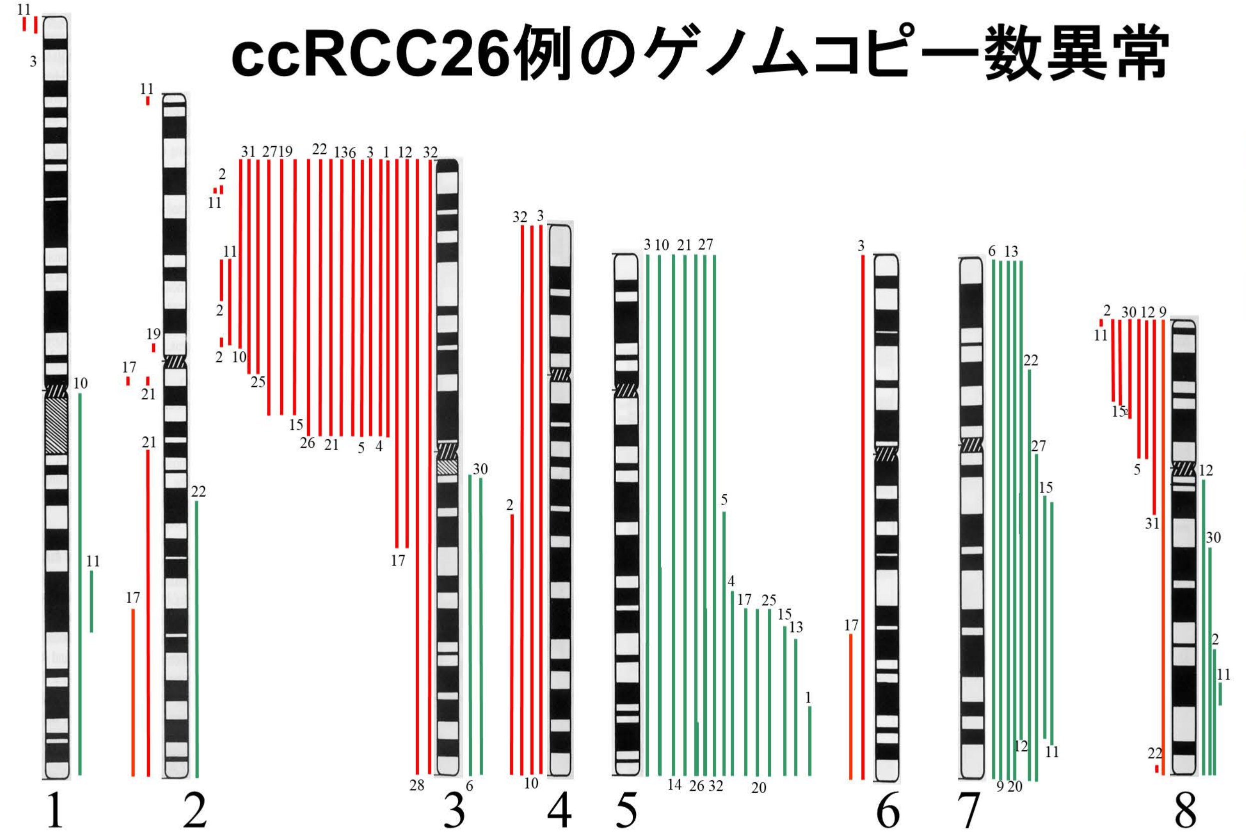
Cancer cell line（SW620）

Array CGH


probes made from
normal DNA
and
tumor DNA
mixed probes and anneal to normal DNA
clones
chromosomes
normal DNA anneals, tumor DNA does not, therefore red signal
both normal DNA and tumor DNA anneal, therefore yellow signal
normal DNA anneals, tumor DNA anneals more, therefore green signal
green:red ratio copy number
deletion
amplification

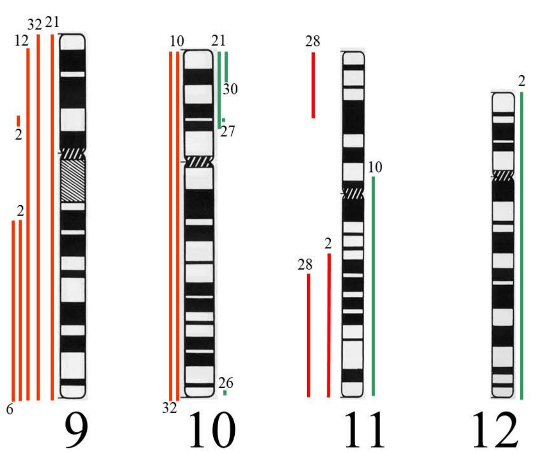
ccRCC26例のゲノムコピー数異常

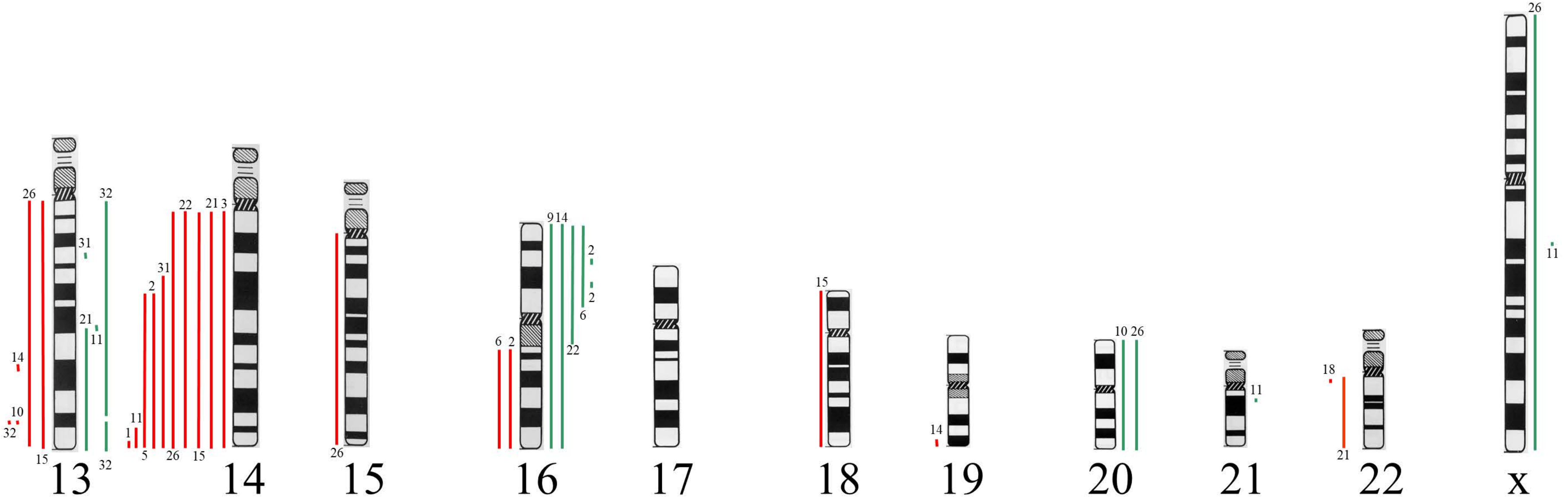
Yoshimoto et al., J Pathol, 213,392, 2007



吉本多一郎先生

泌尿器科医から病理医に転身（東大病理へ）。私が引きずりこんだのではありません

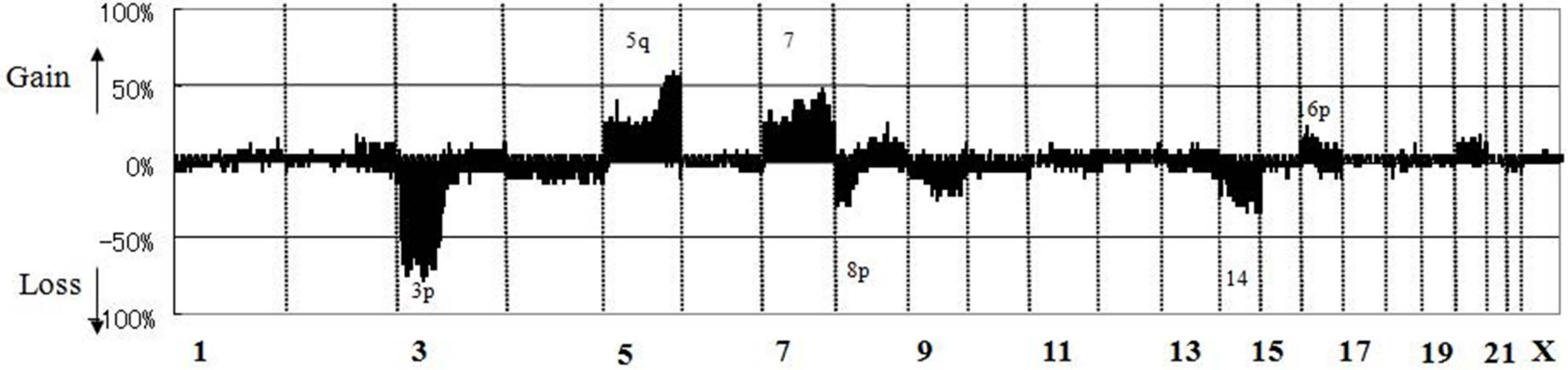


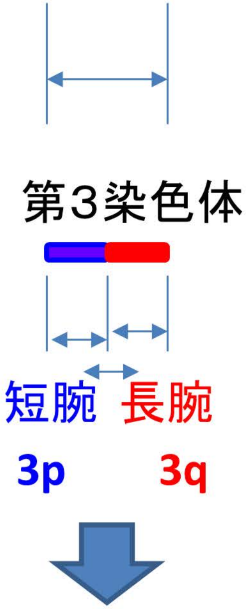


Averaged frequencies of copy number aberrations（CNAs）in cancers

腎(じん)がんにおけるゲノム異常パターン

Yoshimoto et al., J Pathol, 213,392, 2007





第３染色体

短腕 長腕

3p **3q**

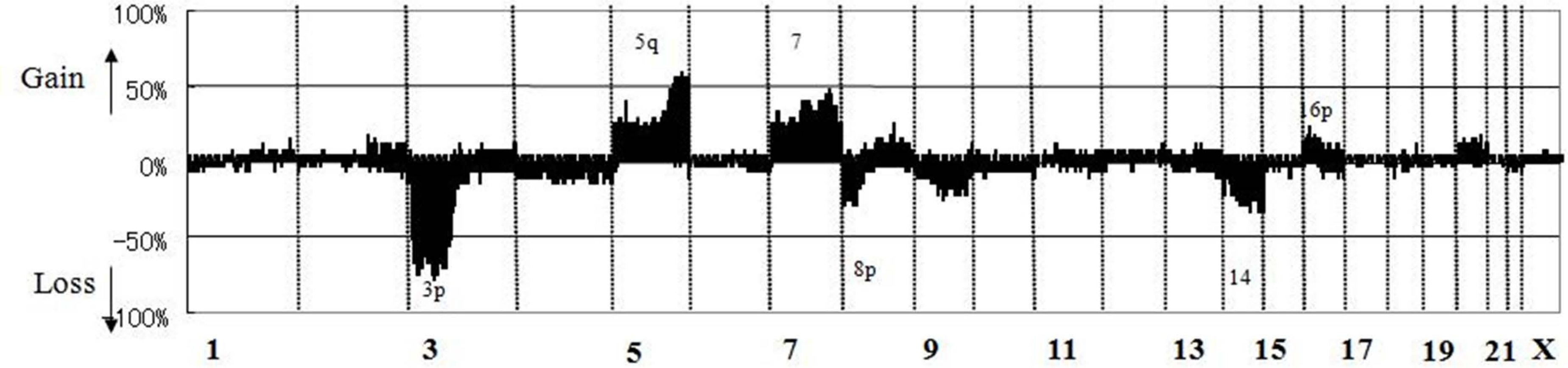
- 横軸は染色体番号で横に並べて染色体の領域を示す
- 縦軸は頻度（何%の癌患者で検出されるか）

腎癌では3p losを高頻度に認める

Averaged frequencies of copy number aberrations（CNAs）in cancers

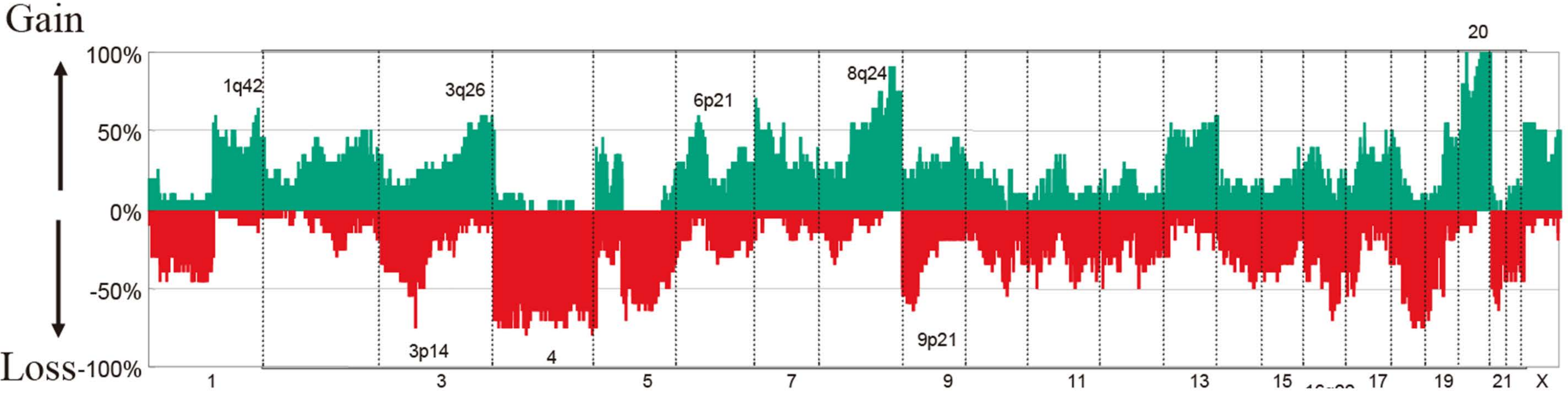
腎(じん)がんにおけるゲノム異常パターン

Yoshimoto et al., J Pathol, 213,392, 2007



胃がんにおけるゲノム異常パターン

Tsukamoto et al., J Pathol, 216,471, 2008



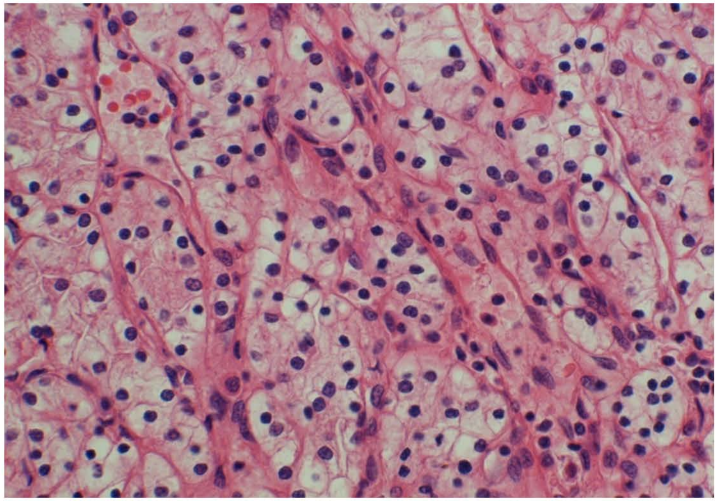
ccRCC (clear cell renal cell carcinoma)

Low grade

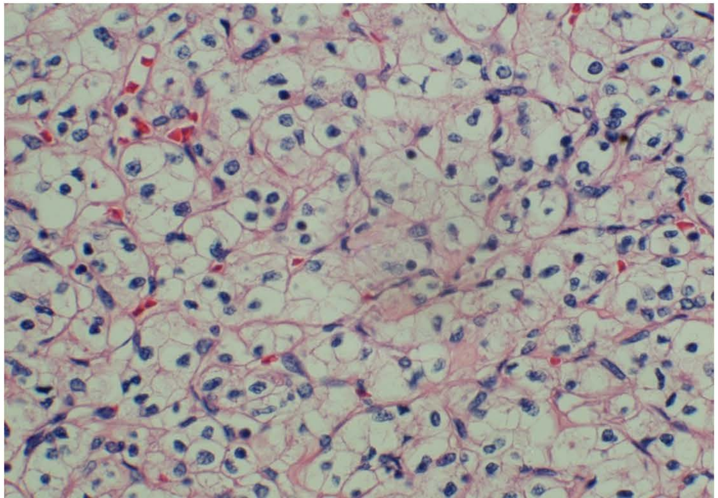
Fuhrman nuclear grading system

High grade

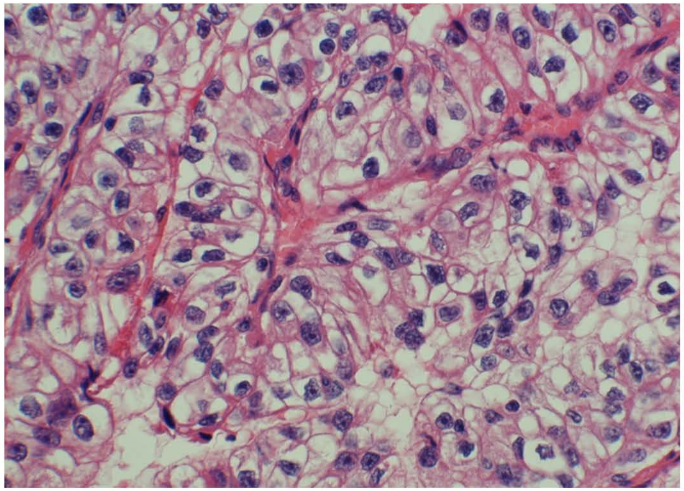
Grade 1



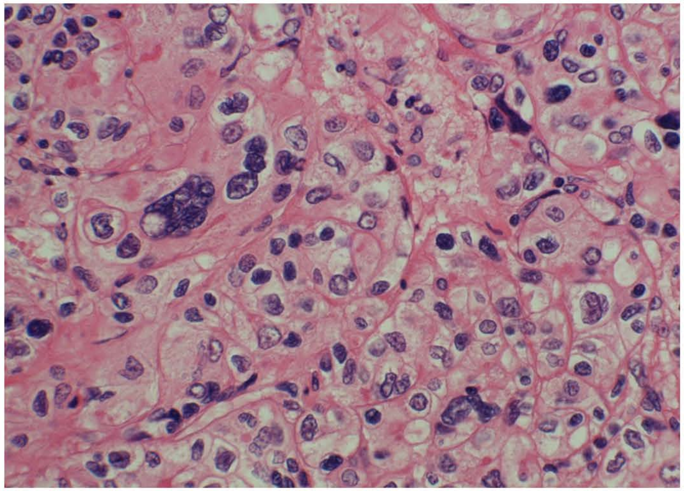
Grade 2



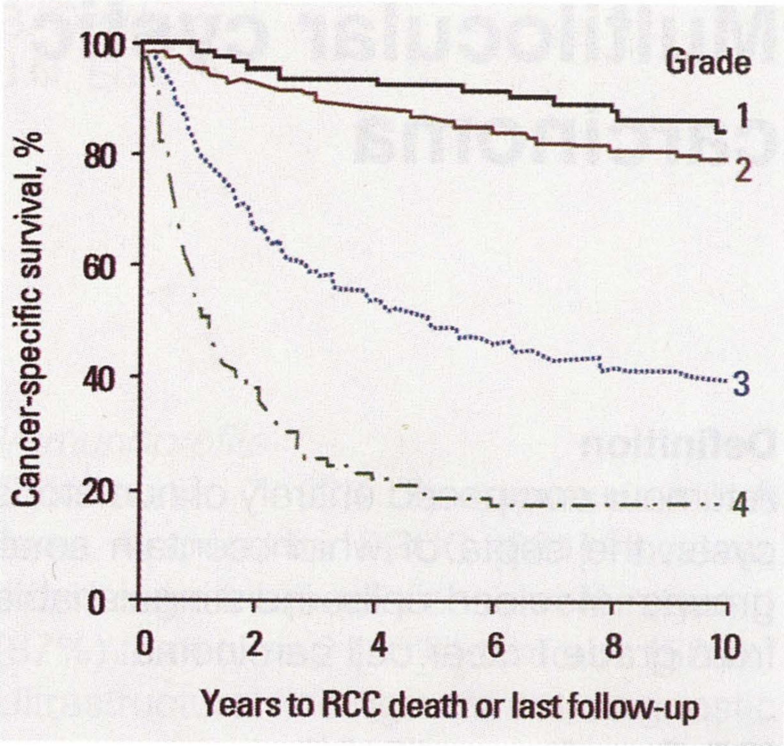
Grade 3



Grade 4



ccRCCの予後



Low grade

予後良好

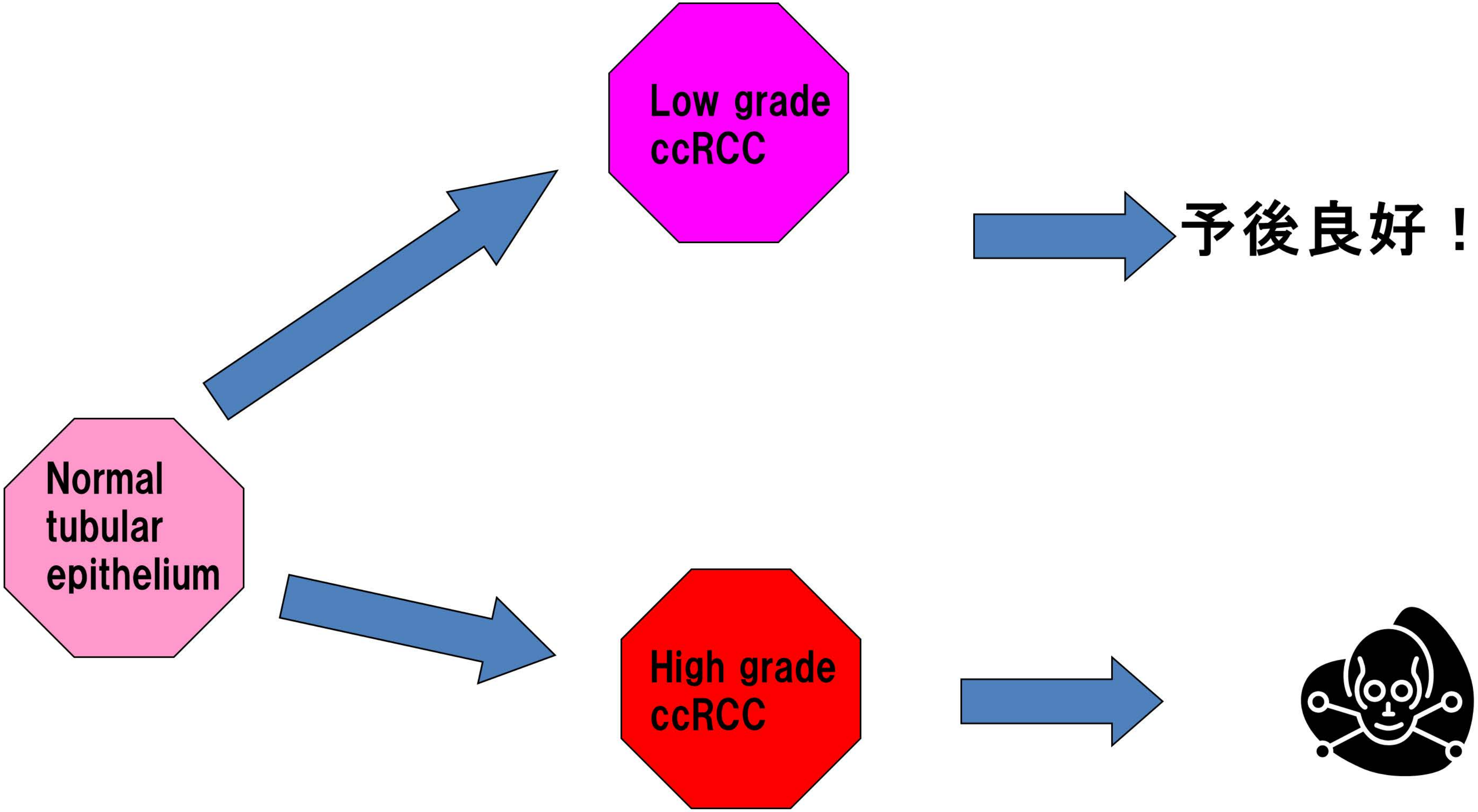
High grade

予後不良

low grade ccRCC と high grade ccRCCの悪性度は大きく異なる

WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organ

腎癌の臨床病態



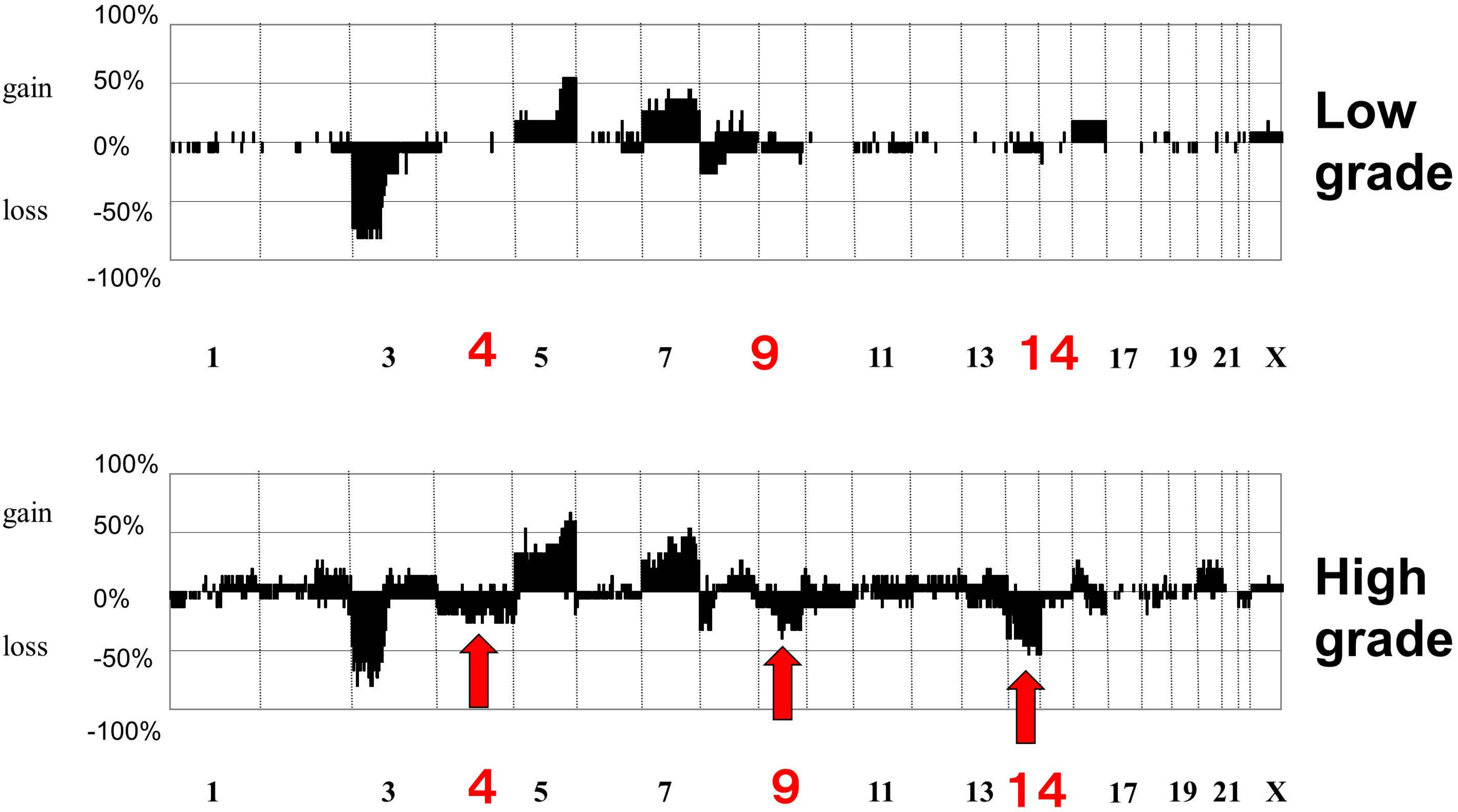
Normal tubular epithelium

Low grade ccRCC

High grade ccRCC

予後良好！

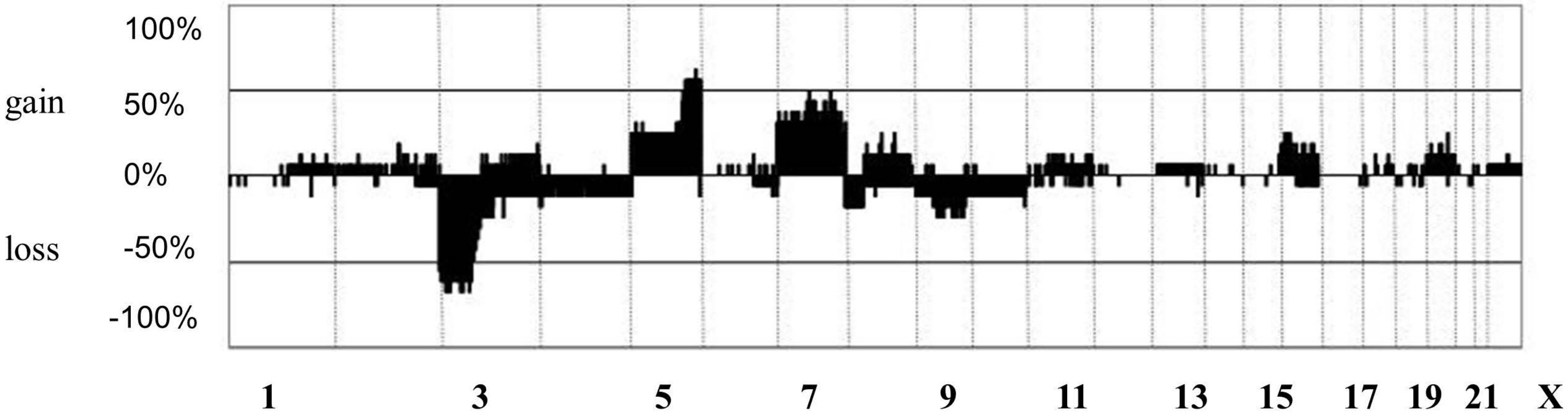
Low grade とhigh gradeのゲノム異常パターンはよく似ている



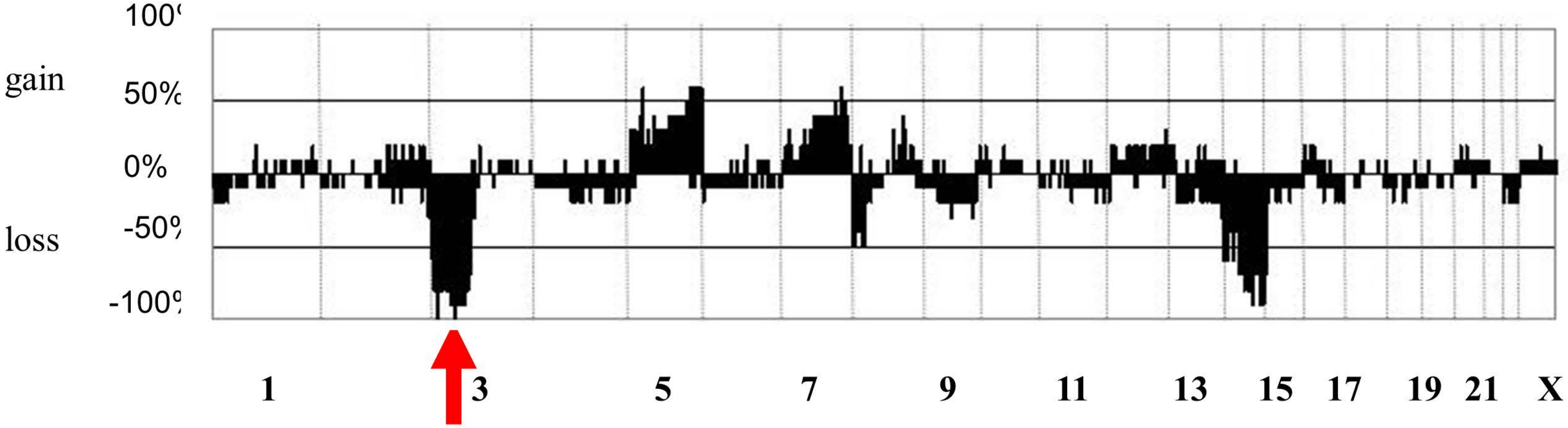
Yoshimoto et al., J Pathol, 213,392, 2007

14q loss のある症例では3p loss が必ずおこっていた

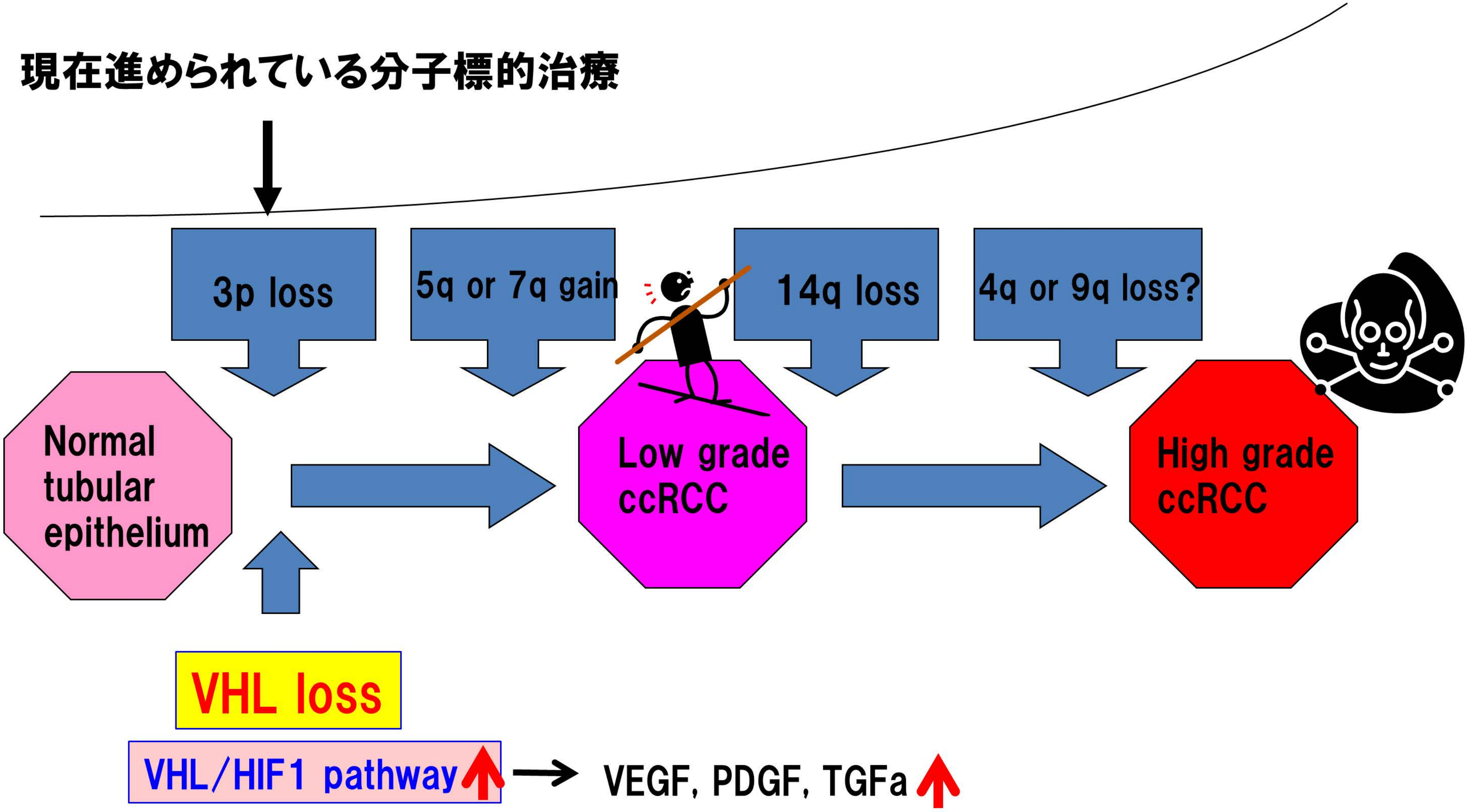
14q loss(-)



14q loss(+)



ccRCCのゲノム異常



現在進められている分子標的治療

3p loss

5q or 7q gain

14q loss

4q or 9q loss?

Normal tubular epithelium

Low grade ccRCC

High grade ccRCC

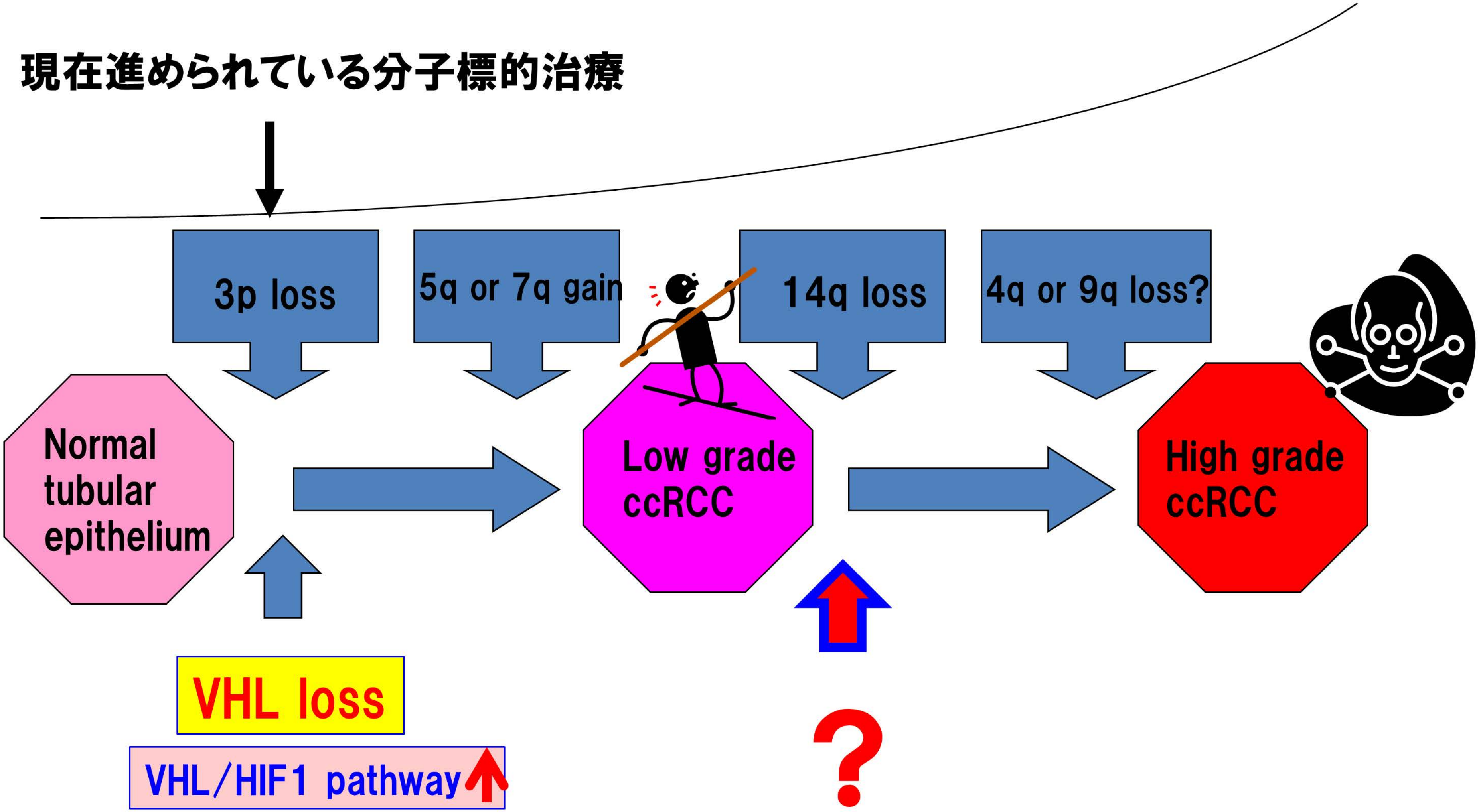
VHL loss

VHL/HIF1 pathway ↑ → VEGF, PDGF, TGFa ↑

Tk阻害薬：スニチニブ、ソラフェニブ

mTOR阻害薬：テムシロリムス、エベロリムス

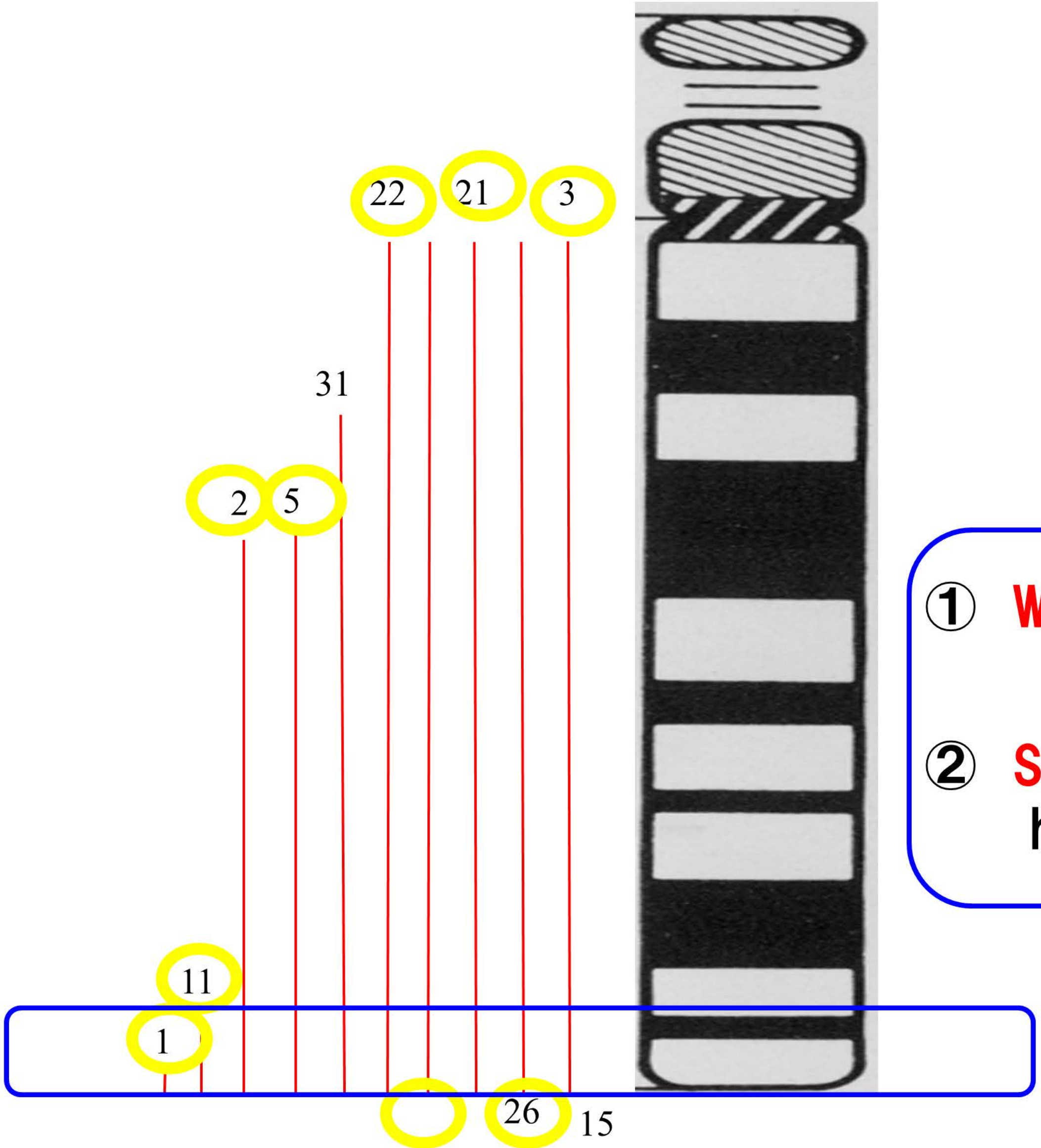
ccRCCのゲノム異常



Tk阻害薬：スニチニブ、ソラフェニブ

mTOR阻害薬：テムシロリムス、エベロリムス

Chromosome 14



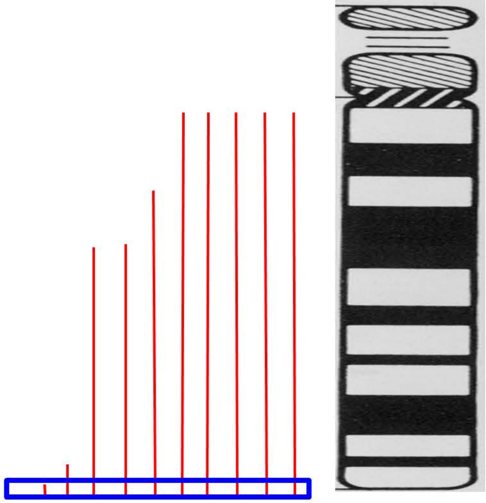
① **WDR20** identified within the minimal common region (14q32.31-33)

② **SAV1** (at 14q22.1) homozygously lost in RCC cell lines

Minimal common region

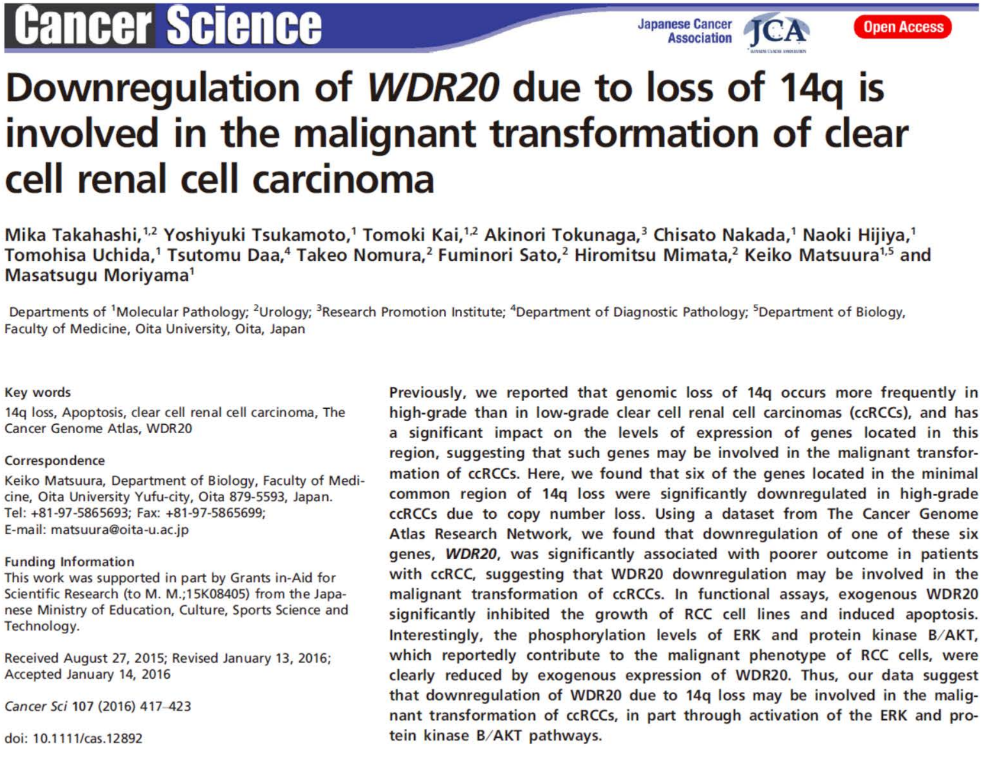
Yoshimoto et al., J Pathol, 213,392, 2007

Minimal common region (14q32.31−33)から癌抑制遺伝子候補WDR20の単離



(14q32.31-33)

14q lossを示す症例を解析し、
そのminimal common region
(14q32.31-33)から新たな癌抑制遺伝子候補としてWDR20を同定
Takahashi Mika et al.,
（Cancer Science,107：417-23,2016）



Cancer Science

Japanese Cancer Association JCA

Open Access

Downregulation of *WDR20* due to loss of 14q is involved in the malignant transformation of clear cell renal cell carcinoma

Mika Takahashi,[1,2] Yoshiyuki Tsukamoto,[1] Tomoki Kai,[1,2] Akinori Tokunaga,[3] Chisato Nakada,[1] Naoki Hijiya,[1] Tomohisa Uchida,[1] Tsutomu Daa,[4] Takeo Nomura,[2] Fuminori Sato,[2] Hiromitsu Mimata,[2] Keiko Matsuura[1,5] and Masatsugu Moriyama[1]

Departments of [1]Molecular Pathology; [2]Urology; [3]Research Promotion Institute; [4]Department of Diagnostic Pathology; [5]Department of Biology, Faculty of Medicine, Oita University, Oita, Japan

Key words
14q loss, Apoptosis, clear cell renal cell carcinoma, The Cancer Genome Atlas, WDR20

Correspondence
Keiko Matsuura, Department of Biology, Faculty of Medicine, Oita University Yufu-city, Oita 879-5593, Japan.
Tel: +81-97-5865693; Fax: +81-97-5865699;
E-mail: matsuura@oita-u.ac.jp

Funding Information
This work was supported in part by Grants in-Aid for Scientific Research (to M. M.;15K08405) from the Japanese Ministry of Education, Culture, Sports Science and Technology.

Received August 27, 2015; Revised January 13, 2016; Accepted January 14, 2016

Cancer Sci 107 (2016) 417–423

doi: 10.1111/cas.12892

Previously, we reported that genomic loss of 14q occurs more frequently in high-grade than in low-grade clear cell renal cell carcinomas (ccRCCs), and has a significant impact on the levels of expression of genes located in this region, suggesting that such genes may be involved in the malignant transformation of ccRCCs. Here, we found that six of the genes located in the minimal common region of 14q loss were significantly downregulated in high-grade ccRCCs due to copy number loss. Using a dataset from The Cancer Genome Atlas Research Network, we found that downregulation of one of these six genes, ***WDR20***, was significantly associated with poorer outcome in patients with ccRCC, suggesting that WDR20 downregulation may be involved in the malignant transformation of ccRCCs. In functional assays, exogenous WDR20 significantly inhibited the growth of RCC cell lines and induced apoptosis. Interestingly, the phosphorylation levels of ERK and protein kinase B/AKT, which reportedly contribute to the malignant phenotype of RCC cells, were clearly reduced by exogenous expression of WDR20. Thus, our data suggest that downregulation of WDR20 due to 14q loss may be involved in the malignant transformation of ccRCCs, in part through activation of the ERK and protein kinase B/AKT pathways.

Renal cell carcinom
of all adult malig
plasms.(1) Clear cell R
logical subtype, accou
cases.(1,2) Among the
ccRCC, nuclear grad
ing,(3) is the most us
nuclear grades 3 and 4
to show a poorer surv
and 2 (low-grade) ccR
Previously, to reve
malignant transformat
alterations in 26 case
grade). We found tha
high-grade than in lo
genes located on 14q
ber loss.(4) Recently,
cases), Klatte *et al.*(5)
ated with a higher T
tumor size, and poor
that 14q loss is assoc
Fuhrman grading(5,6)
from our group and
involved in the malig

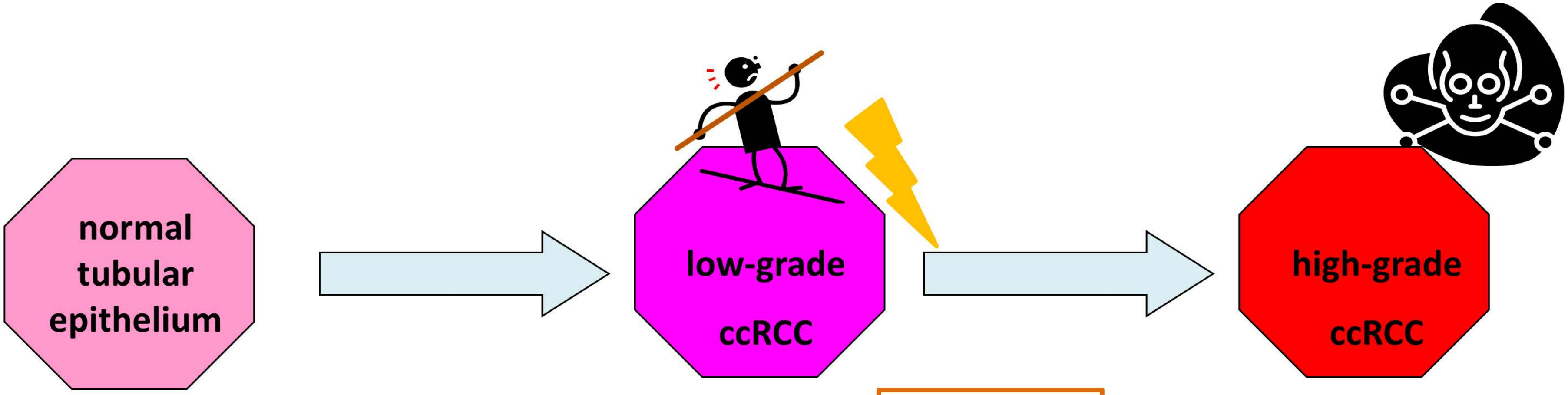
in this
s affects
largely

sible for
common
previous
between
f down-
sing the
(TCGA).
ppressive
regulated
14q and

stablish-
NA, iso-
ntitative
analysis,
chostatin

髙橋先生

WDR20 lossによる発現低下は 予後不良



14q loss

↓

WDR20 コピー数 loss

↓

WDR20 発現量低下

↓

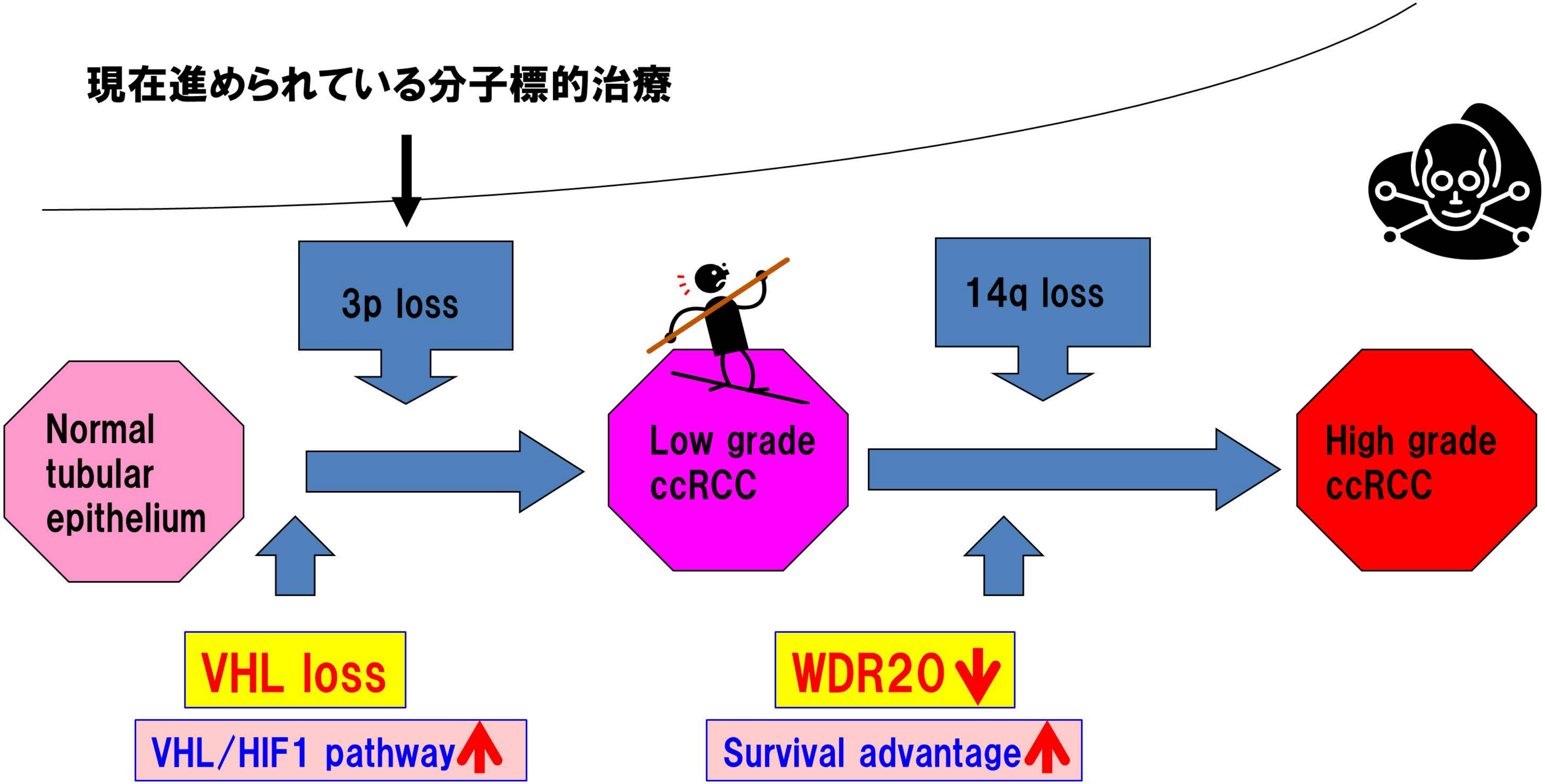
癌細胞の抗アポトーシス能増強

↓

予後不良

Takahashi et al., Cancer Sci, 2016

ccRCCのゲノム異常



現在進められている分子標的治療

3p loss

14q loss

Normal tubular epithelium

Low grade ccRCC

High grade ccRCC

VHL loss

VHL/HIF1 pathway↑

WDR20↓

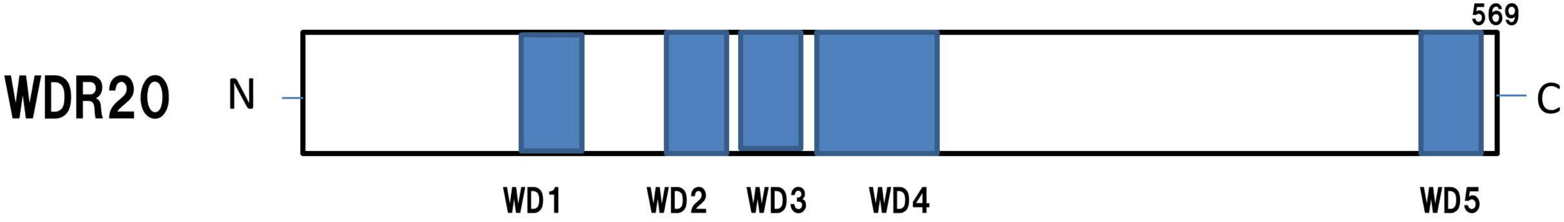
Survival advantage↑

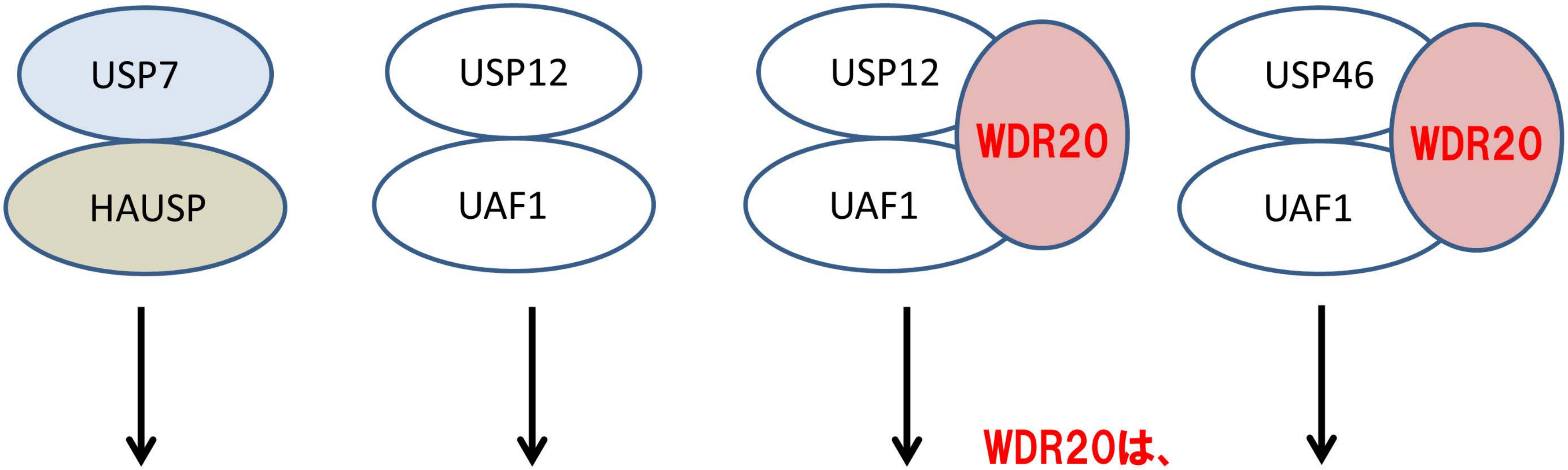
Tk阻害薬：スニチニブ、ソラフェニブ

mTOR阻害薬：テムシロリムス、エベロリムス

High grade ccRCCの治療開発

WDR20は脱ユビキチン化酵素のco-factorとして蛋白分解を制御する？





P53, MDM2の
脱ユビキチン化促進

FANCD2の
脱ユビキチン化促進

Fanconi pathway

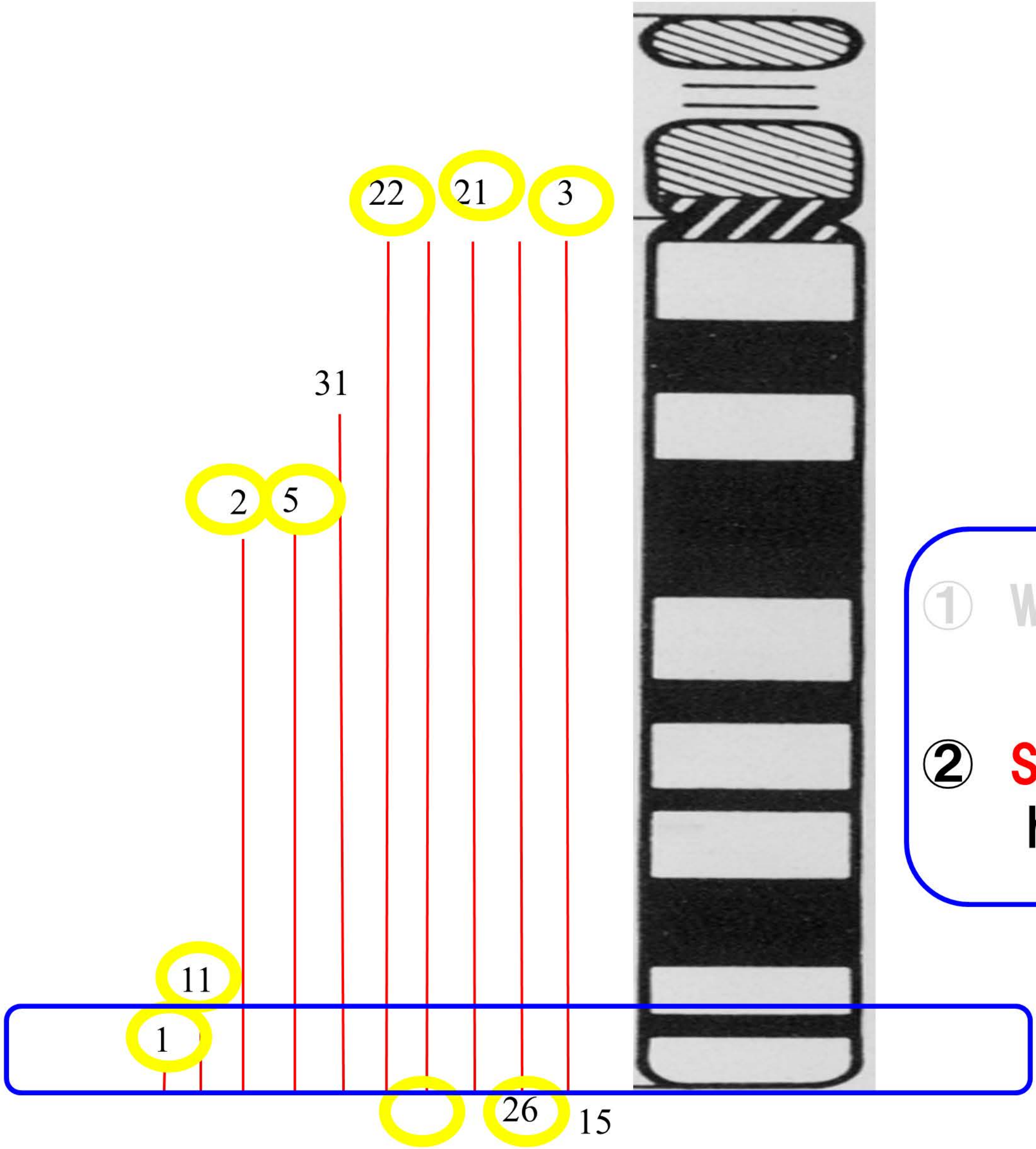
WDR20は、
① 脱ユビキチン化を促進。
② 細胞内局在(膜移行)を制御

Li et al., Mol Cell, 2004
Kee et al., J Biol Chem, 2010

基質は何か？ 治療標的の探索？

USP1, 7, 12, 46: de-ubiquitinating enzymes (DUBs)

Chromosome 14



① WDR20 identified within the minimal common region（14q32.31-33）

② **SAV1**（at 14q22.1）homozygously lost in RCC cell lines

Yoshimoto et al., J Pathol, 213,392, 2007

Cell, Vol. 110, 467–478, August 23, 2002, Copyright ©2002 by Cell Press

Tapon et al., Cell, 110, 467-478, 2002

salvador Promotes Both Cell Cycle Exit and Apoptosis in *Drosophila* and Is Mutated in Human Cancer Cell Lines

Nicolas Tapon,[2] Kieran F. Harvey,
Daphne W. Bell, Doke C.R. Wahrer,
Taryn A. Schiripo, Daniel A. Haber,
and Iswar K. Hariharan[1]
Massachusetts General Hospital Cancer Center
Building 149
13th Street
Charlestown, Massachusetts 02129

Summary

The number of cells in an organism is determined by regulating both cell proliferation and cell death. Relatively few mechanisms have been identified that can modulate both of these processes. In a screen for *Drosophila* mutations that result in tissue overgrowth, we identified *salvador (sav)*, a gene that promotes both cell cycle exit and cell death. Elevated Cyclin E and DIAP1 levels are found in mutant cells, resulting in delayed cell cycle exit and impaired apoptosis. Salvador contains two WW domains and binds to the Warts (or LATS) protein kinase. The human ortholog of *salvador* (hWW45) is mutated in three cancer cell lines. Thus, *salvador* restricts cell numbers in vivo by functioning as a dual regulator of cell proliferation and apoptosis.

Introduction

While the developmental signals that trigger cell cycle exit or apoptosis in *Drosophila* are still poorly characterized, considerable progress has been made in identifying the endpoints of these pathways. In many different tissues, cell cycle exit appears to be contingent on the downregulation of Cyclin E levels (Knoblich et al., 1994). This coincides with increased expression of the cdk inhibitor Dacapo during the final cell cycle (de Nooij et al., 1996; Lane et al., 1996). Dacapo inactivates residual Cyclin E/cdk2 complexes and facilitates a precisely timed exit from the cell cycle. The decrease in Cyclin E levels is primarily achieved by a reduction in its transcription, but other mechanisms including degradation of Cyclin E protein appear to be important (Jones et al., 2000; Moberg et al., 2001). Developmentally regulated cell death in the pupal retina is mediated by caspase activation. The Reaper, Hid, and Grim proteins bind to the *Drosophila* inhibitor of apoptosis 1 (DIAP1) protein and prevent DIAP1 from inhibiting caspases (Goyal et al., 2000; Lisi et al., 2000; Wang et al., 1999).

So far, relatively few mechanisms have been shown to be capable of regulating both cell proliferation and cell death in a coordinated manner. Using a phenotype-based screen in the *Drosophila* eye, we have identified *salvador* (*sav*), a gene that regulates both cell cycle exit and apoptosis. Here we present a phenotypic and molecular characterization of *sav* and show that its human ortholog is mutated in at least three cancer cell lines.

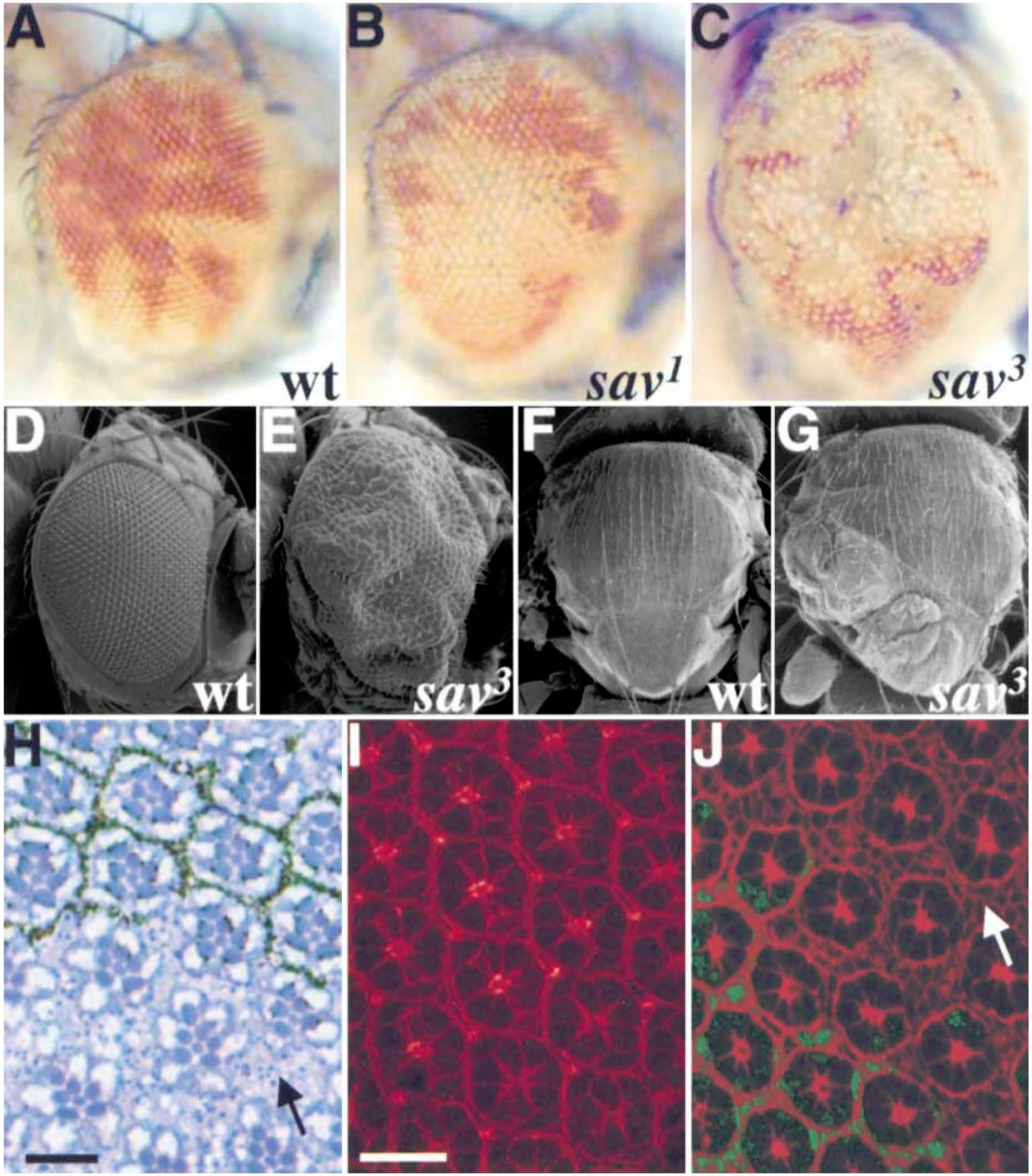


Figure 1. *sav* Mutations Result in Increased Growth Characterized by an Increase in Cell Number

(A–C) Adult eyes containing many homozygous clones of either the parent chromosome with the *FRT82B* P element (A), the *sav*^{1} allele (B), or the *sav*^{3} allele (C). Both *sav* alleles result in an increased representation of mutant (white) tissue over wild-type (red) tissue.

(D–G) Scanning electron micrographs of the eye (D) and notum (F) of wild-type flies and of flies that have *sav*^{3} mutant clones (E and G).

(H) Adult retinal sections showing *sav*^{1} clones. The mutant tissue lacks pigment. Mutant clones have excessive tissue (arrow) between adjacent ommatidia.

(I and J) Phalloidin-stained eye discs from 46 hr pupae (at 25°C) shows a single layer of interommatidial cells in the wild-type disc (I) and many additional interommatidial cell outlines (arrow) in *sav* clones (J). The mutant clone in (J) fails to stain with anti-β-galactosidase (green). Scale bars in (H) and (I) equal 10 μm.

Tapon et al., Cell, 110, 467-478, 2002

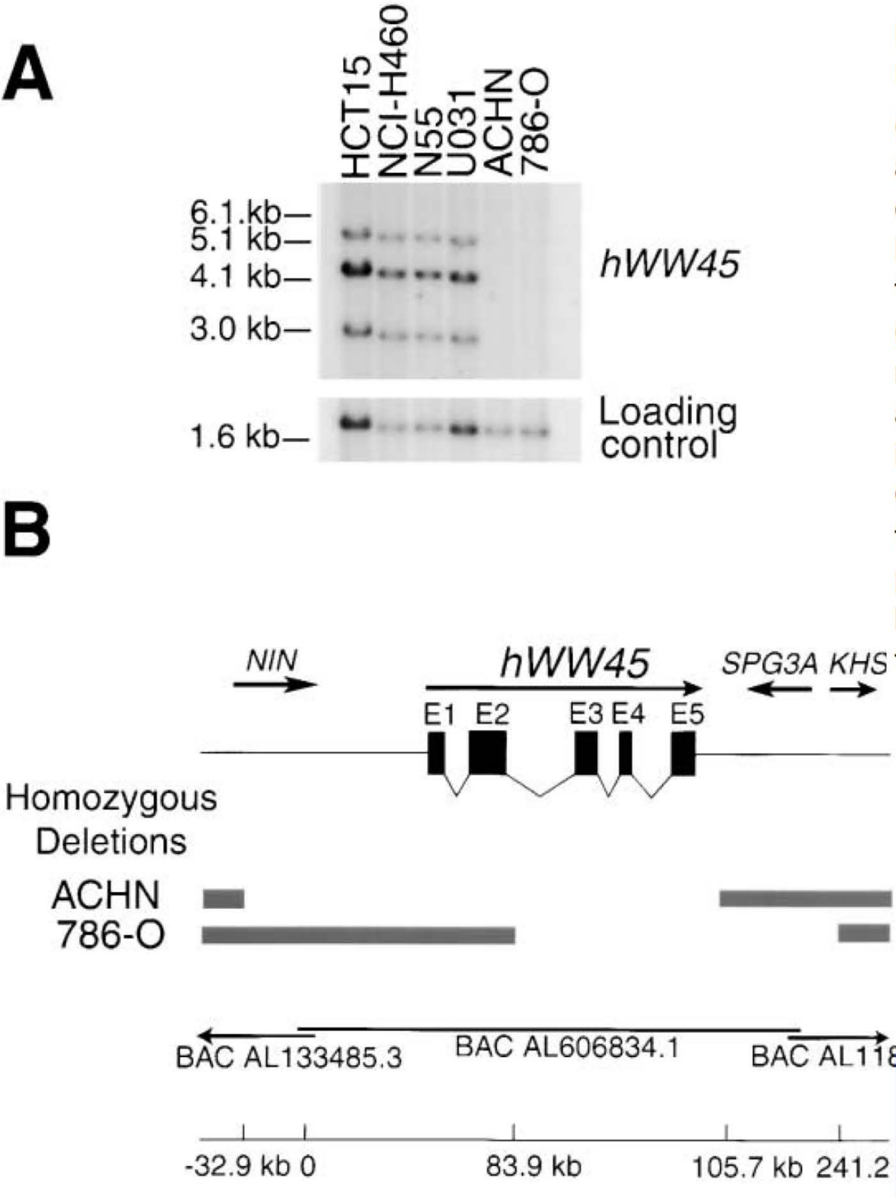


Figure 7. Homozygous Deletion of the *hWW45* Gene in the Human Renal Cancer Cell Lines ACHN and 786-O

(A) Genomic DNA from the renal cancer cell lines, ACHN and 786-O, and control cell lines was digested with EcoRI and hybridized to a cDNA probe corresponding to exons 3–5 of *hWW45* (top). As a loading control, the Southern blot was rehybridized to a cDNA probe for the *WT1* gene (bottom).

(B) Deletion map of the *hWW45* locus in ACHN and 786-O as determined by PCR. The homozygous deletion in ACHN encompasses all five exons of hWW45. The 5′ breakpoint of the deletion in 786-O is between exons 2 and 3, and the deletion extends 3′ of exon 5. On the basis of the GENSCAN exon prediction program, hWW45 is the only gene localized to the region deleted in both cell lines. The positions of other genes (Ninein, Spastic Paraplegia 3A, and Kinase homologous to SPS1/STE20) in the region are indicated in relation to deletion breakpoints and to overlapping BAC clones.

1） hSAV1は14q22.1に存在

2） hSAV1遺伝子は786-O cellとACHN cellではホモ欠失している

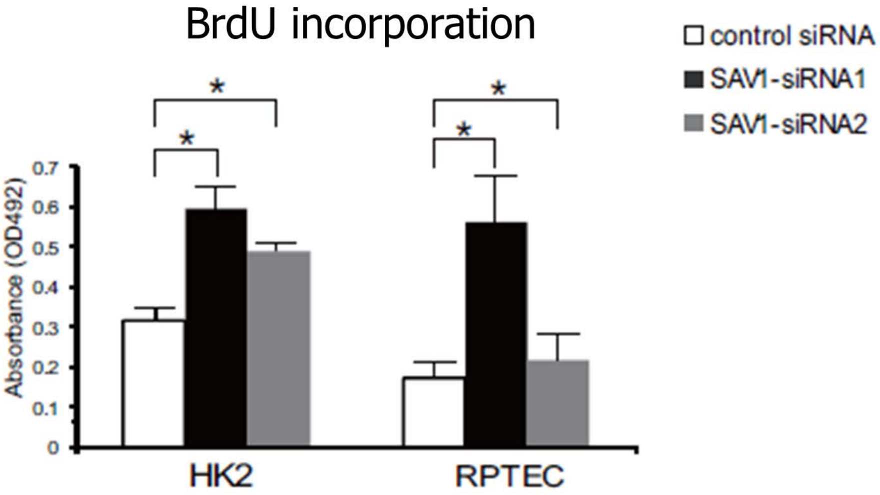
⇩

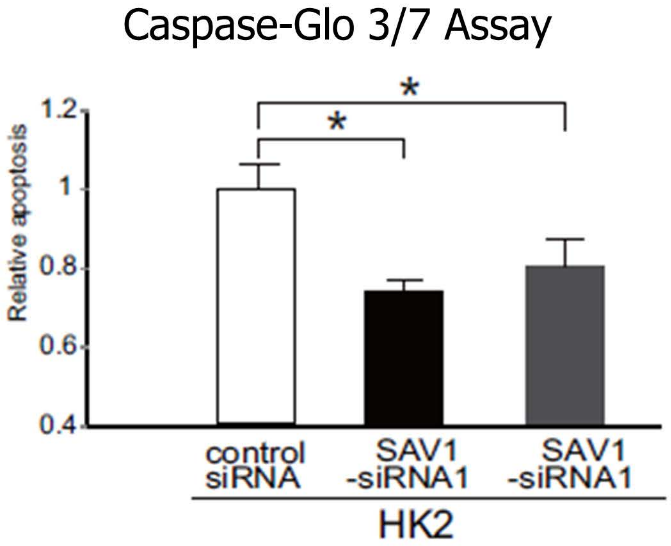
その後、20年間腎癌で変異の報告は全くなく、忘れ去られていた。
我々は、8細胞株のゲノムを調べ、14q22.1-23.1領域で片アリル欠失と著しい発現低下する遺伝子の中からSAV1を同定した。

Figure 7. Homozygous Deletion of the *hWW45* Gene in the H
Renal Cancer Cell Lines ACHN and 786-O

Tapon et al., Cell, 110, 467-478, 2002

正常腎尿細管細胞株においてSAV1をノックダウンすると、増殖能が高まり、アポトーシスが抑制される。


BrdU incorporation

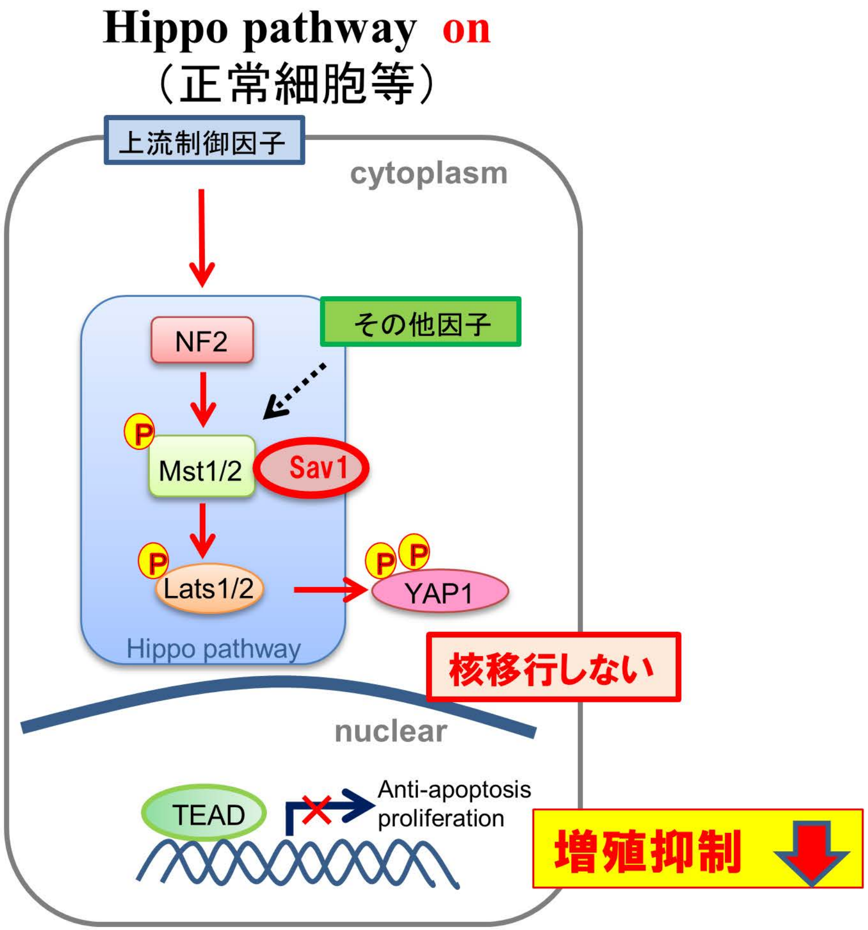

Caspase-Glo 3/7 Assay

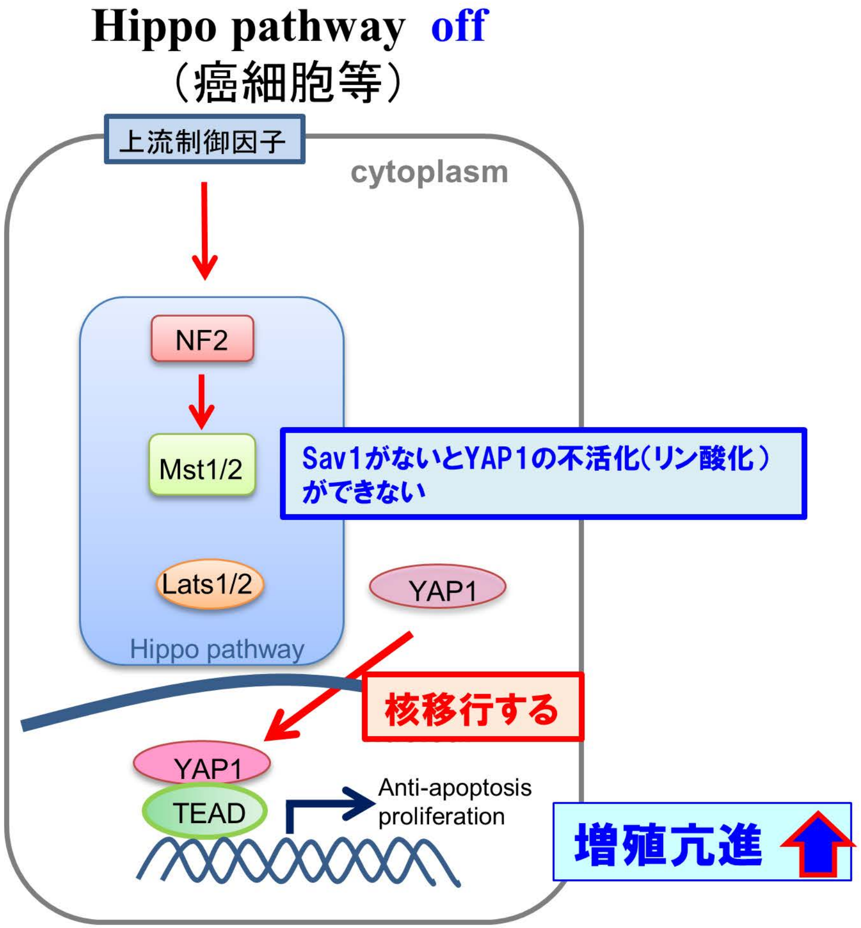
SAV1のコピー数lossによる発現低下は、
growth and survival advantageをもたらす。

Matsuura, BMC Cancer, 11:523, 2011

SAV1は癌抑制シグナルHippo pathwayの抑制因子である

Hippoシグナルが On になると、YAP1がリン酸化され、核移行せず（不活化される）、細胞増殖抑制、抗アポトーシス能の抑制がおこる。
シグナルが Off になるとYAP1が核移行して細胞増殖促進、アポトーシス抑制がおこる

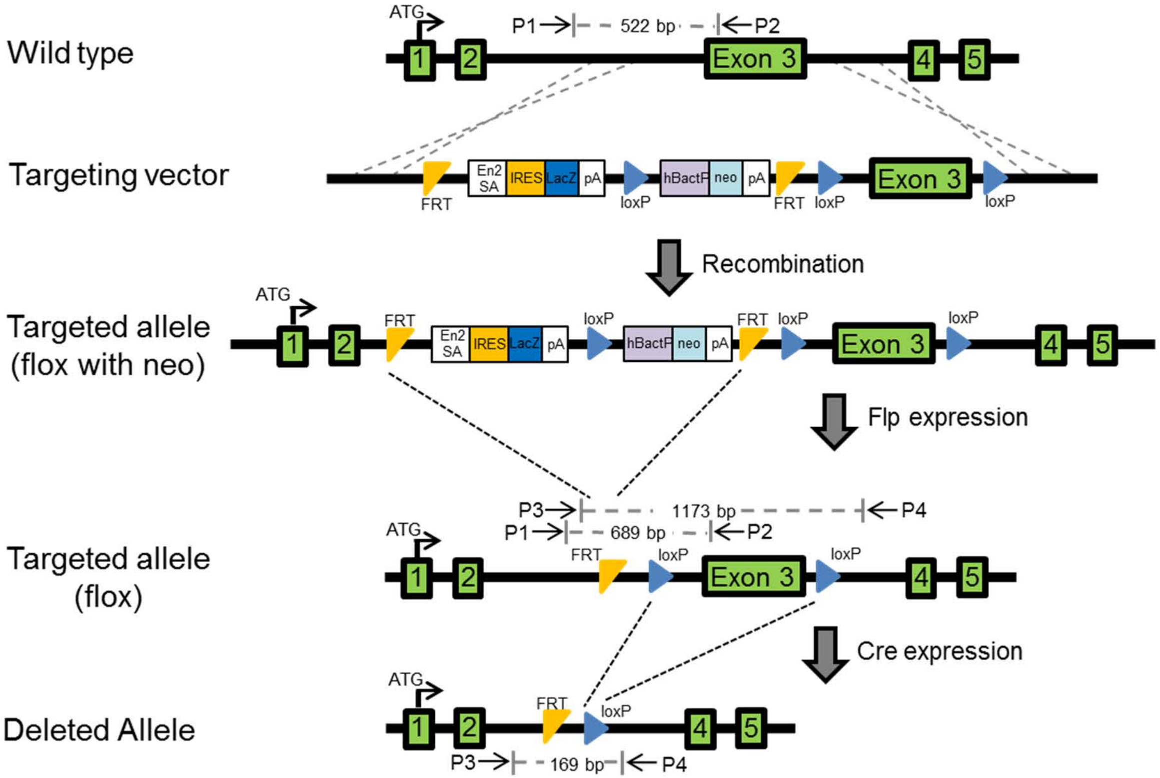




腎臓特異的SAV1-KOマウス（Cdh16-Cre;Sav1$^{fl/fl}$ ）

1，ゲノムレベルでのSav1欠失の確認

Sav1 geneとPCR primerとのシェーマ

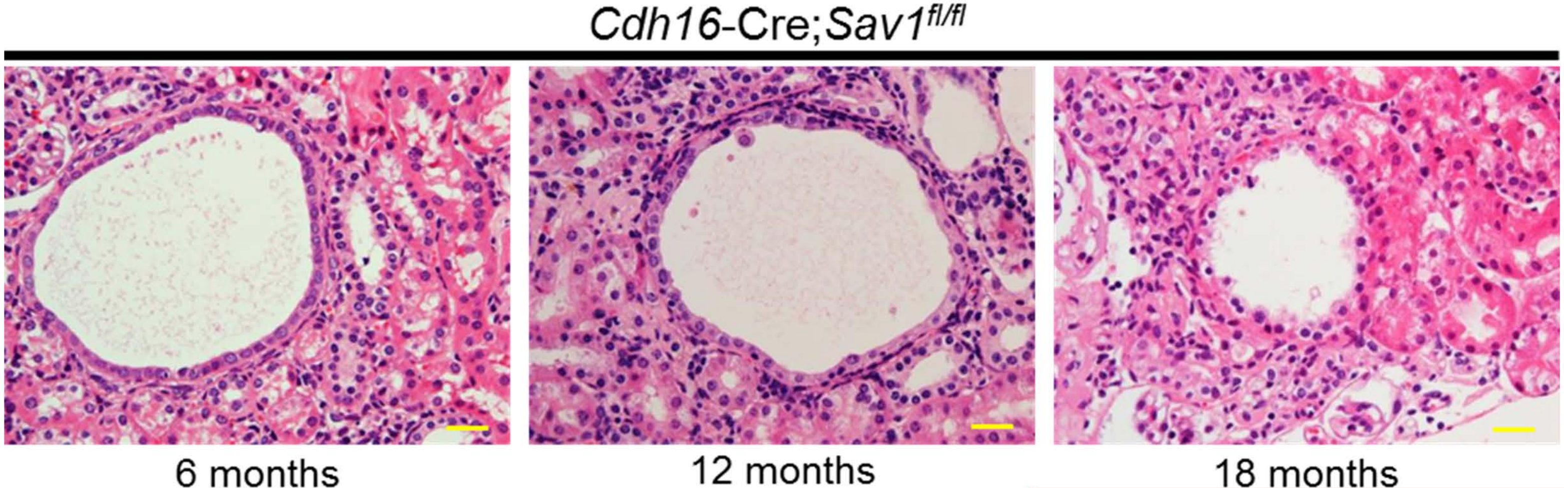


ゲノムレベル上、腎特異的にSav1 exon3が欠失している。

Kai et al, J Pathol, 2016

Cdh16-Cre;Sav1$^{fl/fl}$の腎臓における組織学的所見

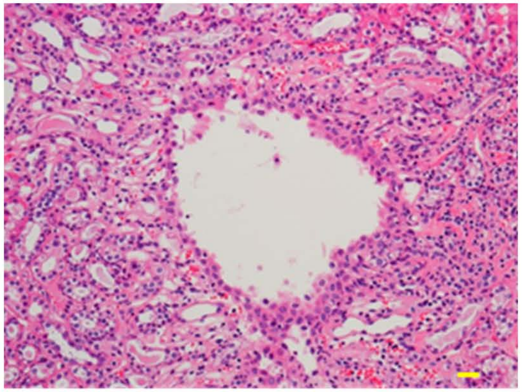
2, 糸球体嚢胞・尿細管嚢胞の形成 (異型をもつ尿細管嚢胞)



All scale bars: 25 μm

- 細胞・核型異型を呈する尿細管嚢胞を認める。これらの異型は、加齢とともに強くなる。

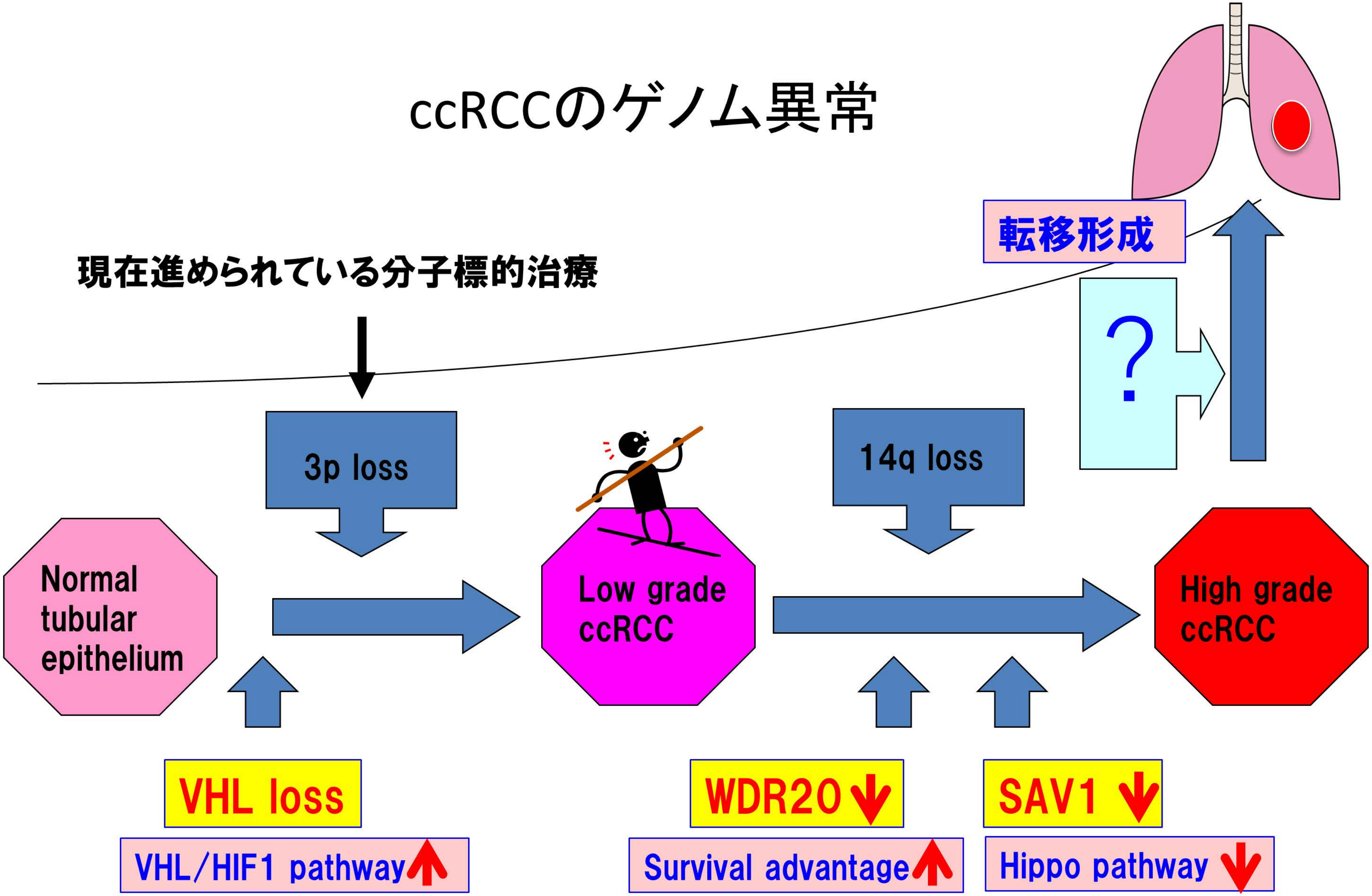
- 18か月齢のマウスにおいて、基底膜の消失・重層化した上皮をもつ異型の強い尿細管嚢胞を認める。


18months

Sav1欠損は、尿細管上皮に増殖能の亢進や核の大型化をもたらした。

Kai et al, J Pathol, 2016

ccRCCのゲノム異常

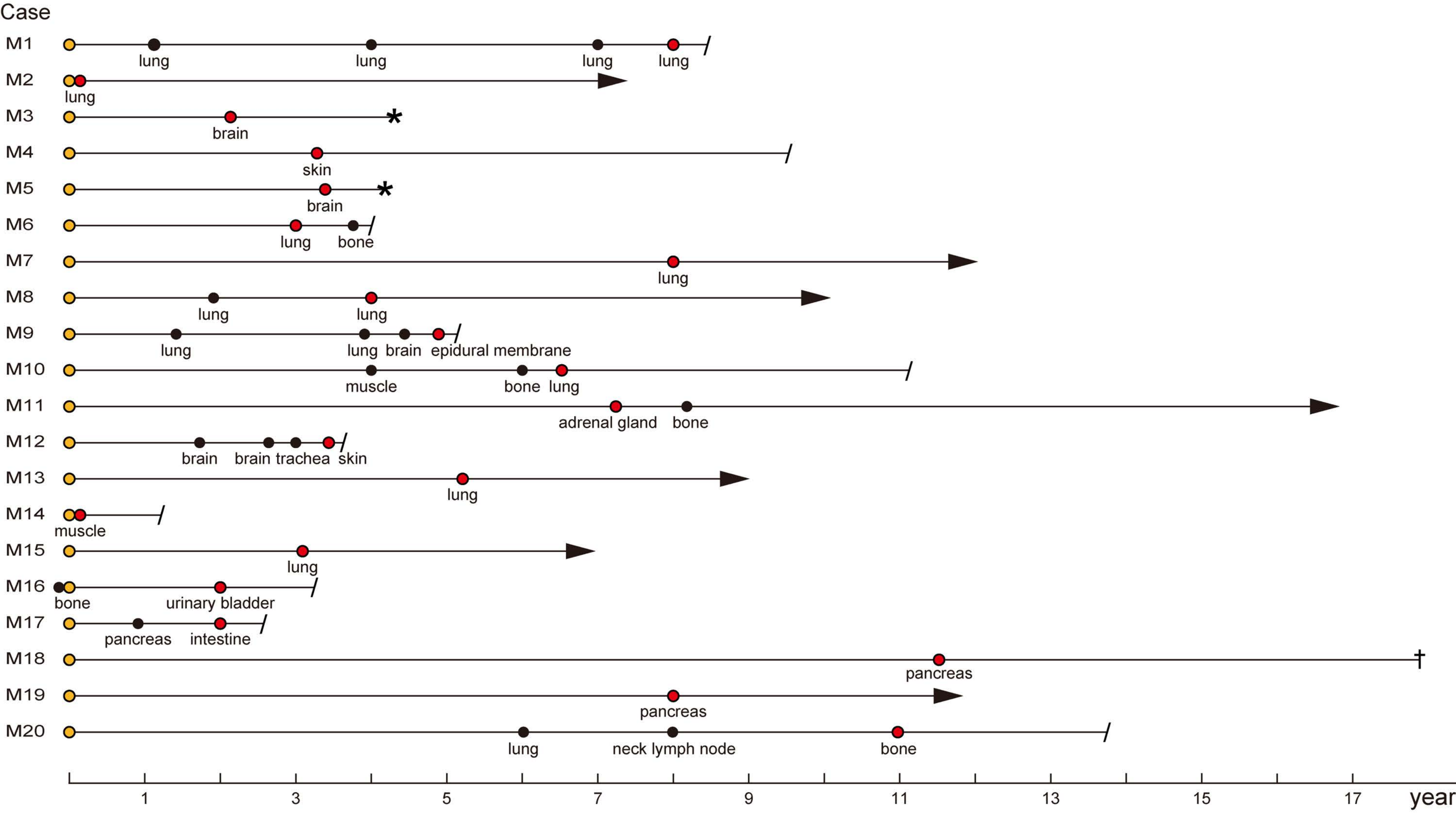


Tk阻害薬：スニチニブ、ソラフェニブ

mTOR阻害薬：テムシロリムス、エベロリムス

High grade ccRCCの治療開発

腎癌の再発(転移)により、経時的にゲノム異常が付加される？



Suppl fig 1.

Narimatsu et al, Cancer Med, 2015

原発巣に付加されたゲノム異常を転移巣から同定する

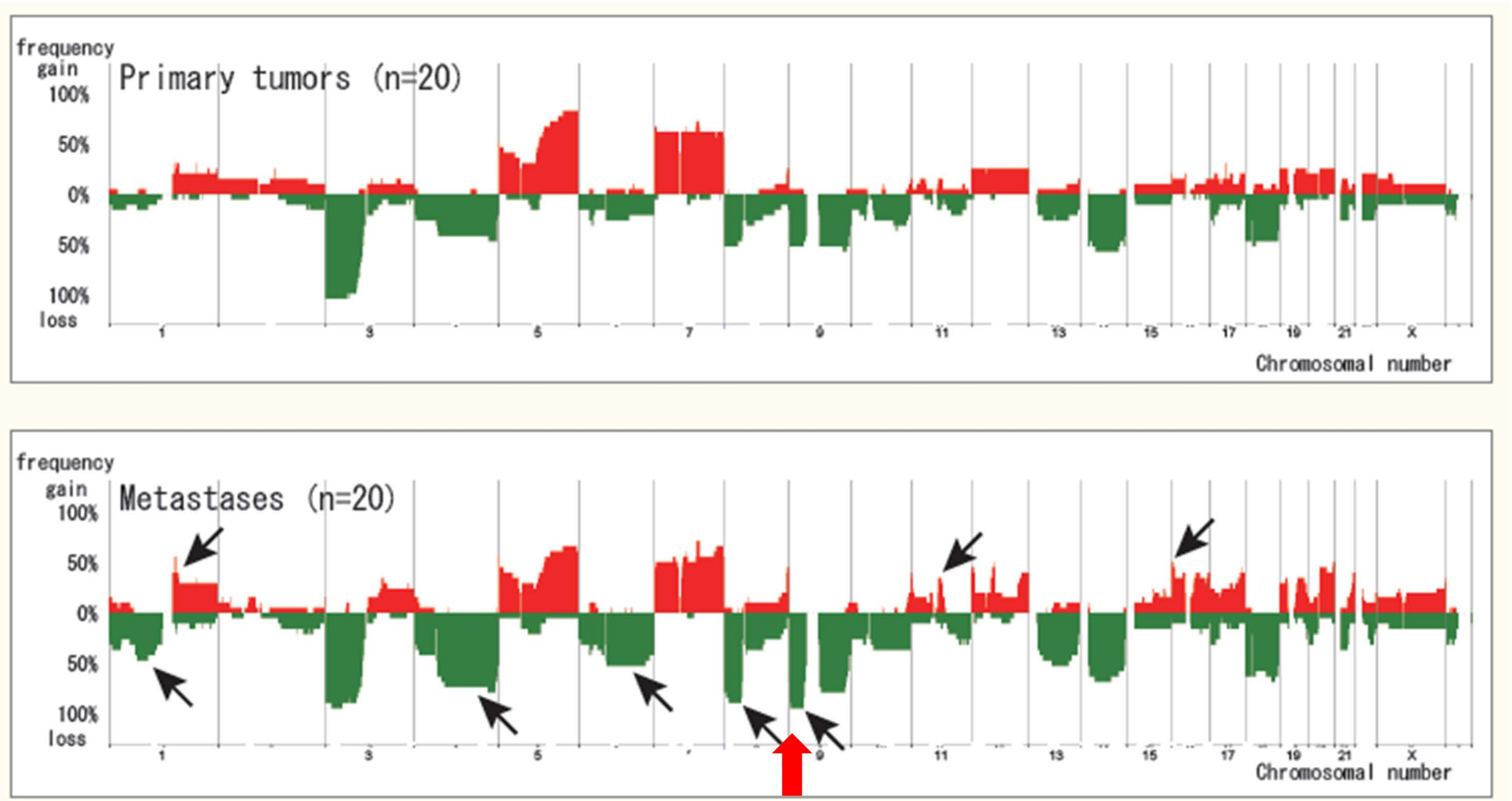
腎癌の転移に関わる癌抑制遺伝子の同定（泌尿器科　成松隆弘先生）

原発巣20例	転移巣20例
Array CGH解析	Array CGH解析
ゲノムコピー数異常を認める領域を検出	ゲノムコピー数異常を認める領域を検出

両群を比較

転移巣でゲノムコピー数異常を高頻度に認める領域を検出

転移巣では9p24.1-p13.3 lossが増加している



9p24.1-p13.3 loss

Narimatsu et al, Cancer Med, 2015

「転移に関わる遺伝子異常の同定」の流れ

原発巣と転移巣のゲノム異常の比較

転移巣では9p24.1-p13.3 lossが増加

転移巣で9p24.1-p13.3 loss陽性は予後不良

9p24.1-p13.3 lossで発現低下する遺伝子の抽出

（9p24.1-p13.3 lossを認める原発巣のmRNA発現の解析）

NDUFB6 とLRRC19 の発現低下

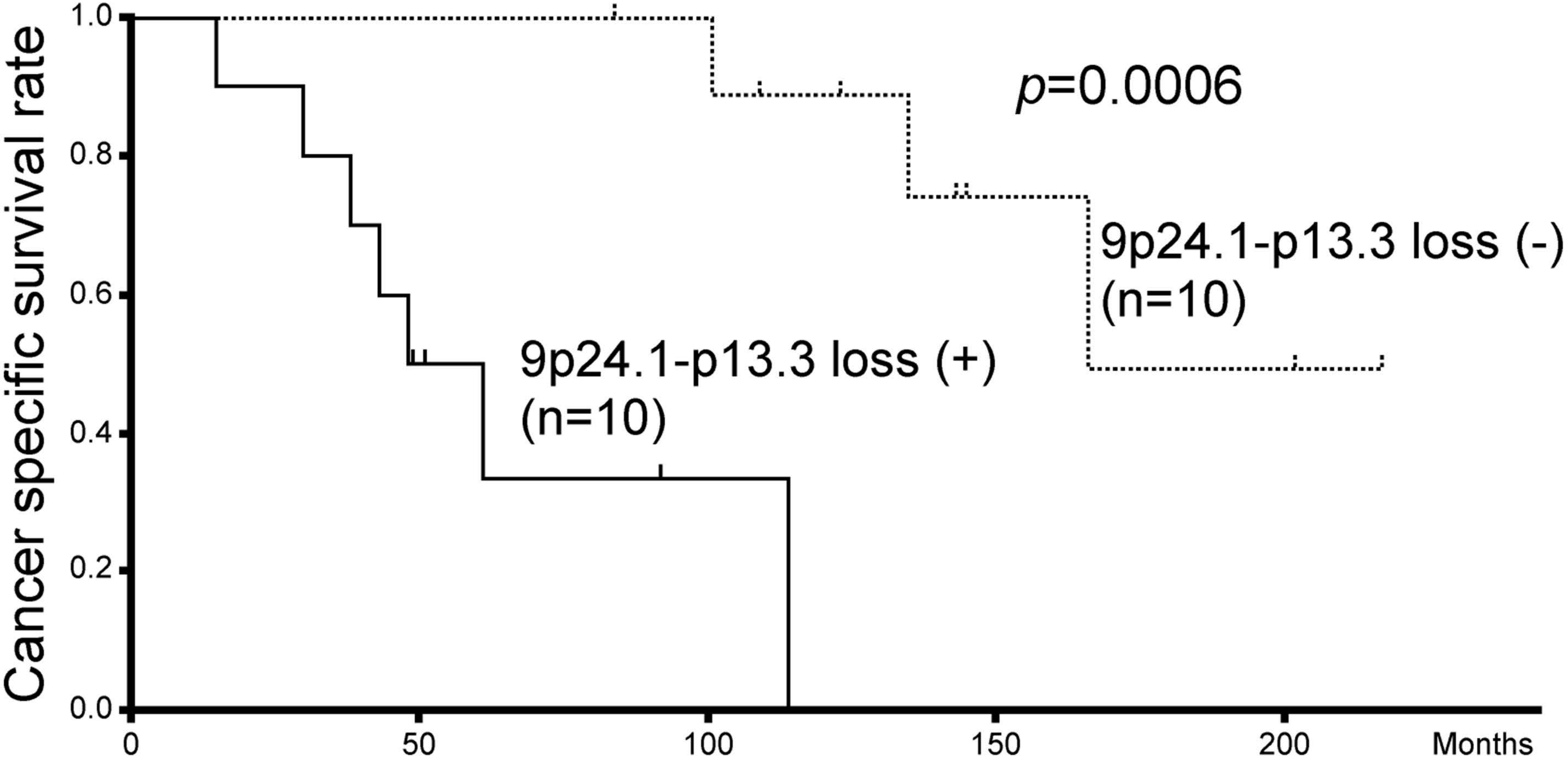
9p24.1-p13.3 lossを有する腎癌細胞(786-O, 769-P細胞)に、
NDUFB6, LRRC19を遺伝子導入

NDUFB-6遺伝子導入により増殖低下

「NDUFB-6発現低下はgrowth advantageをもたらす」

Narimatsu et al, Cancer Med, 2015

9p24.1-p13.3 lossを原発巣に有する腎癌は予後不良である



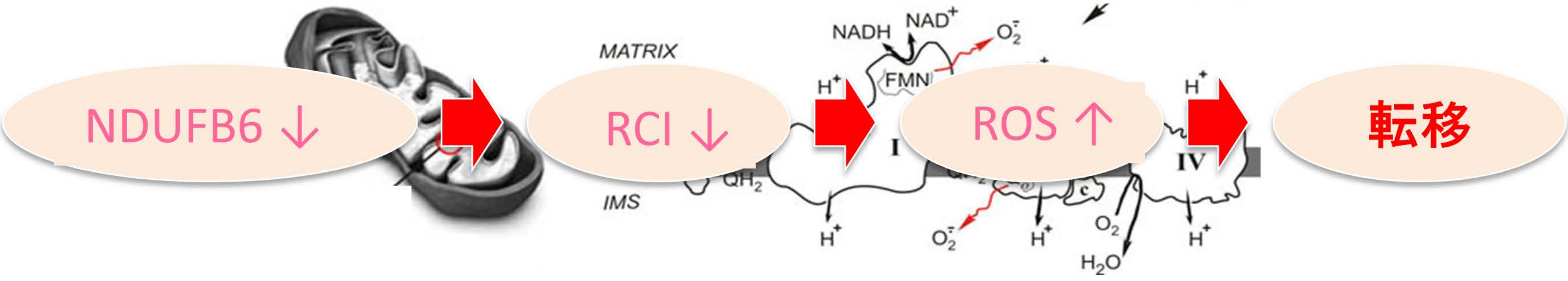
Narimatsu et al, Cancer Med, 2015

腎癌転移メカニズムの仮説（成松Dr.）

✓NDUFB6はミトコンドリアで**酸化的リン酸化**に関わるrespiratory chain complex I (RCI) を構成するサブユニットの一つである。

✓NDUFB6の抑制はRCIの活性を低下させることが知られている。

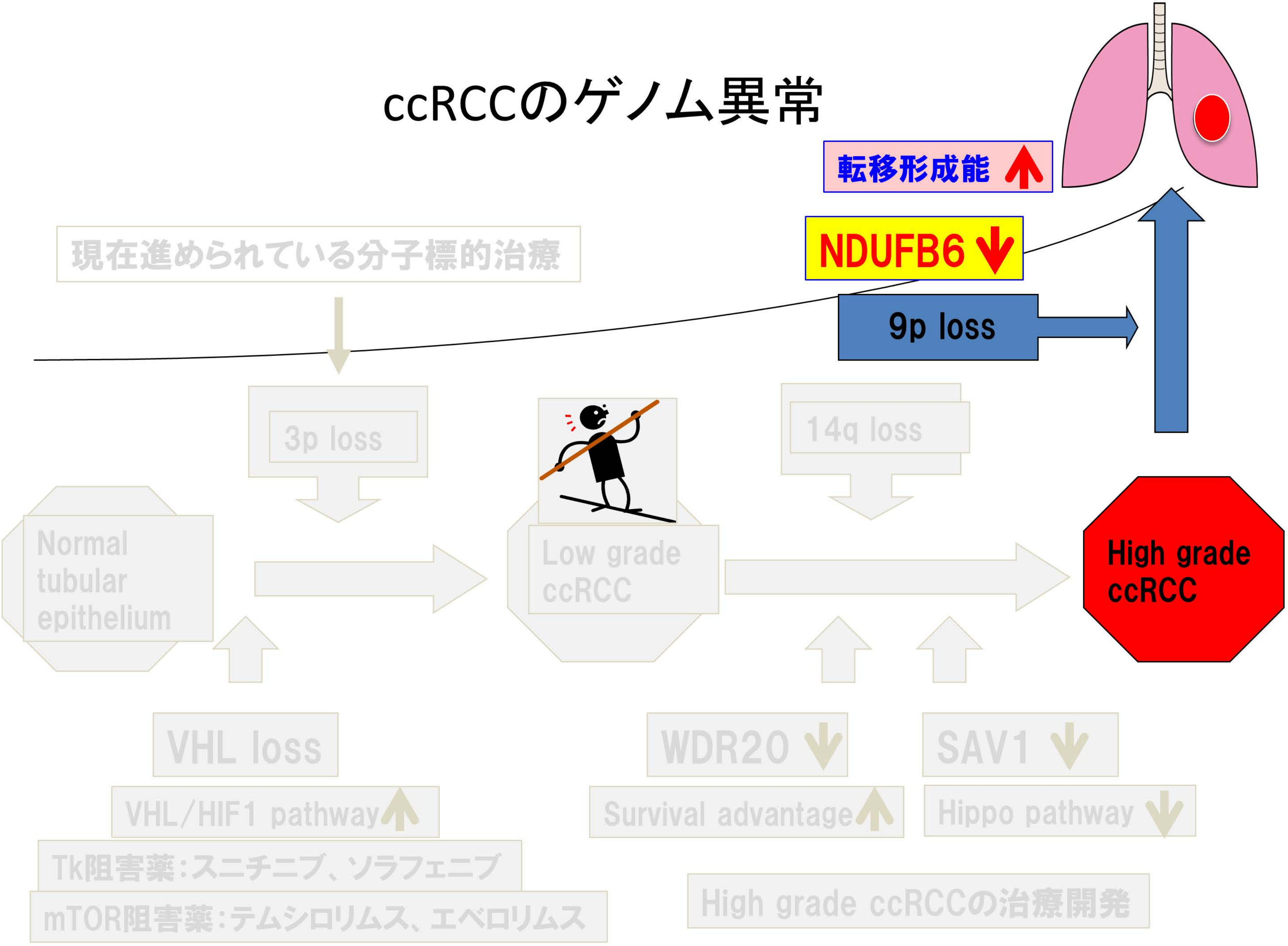
✓RCIは癌抑制的に作用し、その活性低下は活性酸素の産生増加を通じて発癌や転移能亢進に関与する。



NDUFB6 ↓ → RCI ↓ → ROS ↑ → 転移

Biochem. Biophys. Res. Commun. 2011; 414: 367-372.
PLoS One 2013; 8: e61677.

ccRCCのゲノム異常



転移形成能 ↑

NDUFB6 ↓

9p loss

現在進められている分子標的治療

3p loss

14q loss

Normal tubular epithelium

Low grade ccRCC

High grade ccRCC

VHL loss

VHL/HIF1 pathway ↑

Tk阻害薬：スニチニブ、ソラフェニブ

mTOR阻害薬：テムシロリムス、エベロリムス

WDR20 ↓

Survival advantage ↑

SAV1 ↓

Hippo pathway ↓

High grade ccRCCの治療開発

2-① 腎癌の悪性化に関わる遺伝子異常

6報　　平均IF: 6.384

1. Yoshimoto T, **Matsuura K,** Karnan S, Tagawa H, Nakada C, Tanigawa M, Tsukamoto Y, Uchida T, Kashima K, Akizuki S, Takeuchi I, Sato F, Mimata H, Seto M, and Moriyama M. High-resolution analysis of DNA copy number alterations and gene expression in renal clear cell carcinoma.
   ***J Pathol* 213: 392-401, 2007.** **IF: 7.996**

腎癌30例のゲノムコピー数異常をアレイCGH解析により網羅的に解析し、14番染色体長腕の欠失(14q loss)がlow grade RCCには認められないが、high grade RCCには高頻度に検出されることから、low grade RCCのゲノムに14q lossが加わることで腎癌は悪性化することが示唆され、14q lossにより発現低下する遺伝子の中に腎癌の悪性化に関わる癌抑制遺伝子の存在が示唆された。

2. **Matsuura K,** Nakada C, Mashio M, Narimatsu T, Yoshimoto T, Tanigawa M, Tsukamoto Y, Hijiya N, Takeuchi I, Nomura T, Sato F, Mimata H, Seto M, and Moriyama M. Downregulation of SAV1 plays a role in pathogenesis of high-grade clear cell renal cell carcinoma.
   ***BMC Cancer* 11: 523, 2011.** **IF: 4.430**

7つの腎癌細胞株を用いてアレイCGH解析とトランスクリプトーム解析を行い、14q 領域のhomozygous lossを認める領域から、癌抑制遺伝子候補としてSAV1遺伝子を同定した。その発現低下が腎癌細胞にアポトーシスの抑制をもたらすこと、ならびにYAP1の活性化をもたらすことを見いだした。したがって、SAV1が腎癌の悪性化に重要な癌抑制遺伝子候補であることを示した。

3. Inoue T, **Matsuura K,** Yoshimoto T, Nguyen L T, Tsukamoto Y, Nakada C, Hijiya N, Narimatsu T, Nomura T, Sato F, Nagashima Y, Kashima K, Hatakeyama S, Ohyama C, Numakura K, Habuchi T, Nakagawa M, Seto M, Mimata H, and Moriyama M. Genomic profiling of renal cell carcinoma in patients with end-stage renal disease.
   ***Cancer Sci* 103: 569-76,2012.** **IF: 6.716**

腎不全患者(血液透析患者)に発生した腎癌63症例をアレイCGH法によりゲノムプロファイルを解析したところ、通常のclear cell RCC(ccRCC)のプロファイルと類似するグループとpapillary RCCに類似するグループに分かれることを見いだした。これまで腎不全患者に発生する腎癌ではccRCC意外に多くの組織学的亜型の存在が指摘されてきたが、ゲノムプロファイルを比較して、それらはすべてpapillary RCCに類似したゲノムプロファイルを有することを発見した。

4. Narimatsu T, **Matsuura K**, Nakada C, Tsukamoto Y, Hijiya N, Kai T, Inoue T, Uchida T, Nomura T, Sato F, Seto M, Takeuchi I, Mimata H, and Moriyama M. Downregulation of NDUFB6 due to 9p24.1-p13.3 loss is implicated in metastatic clear cell renal cell carcinoma.
   ***Cancer Med* 4: 112-24,2015.** **IF: 4.452**

腎癌の原発巣の摘出後、転移を生じ、転移巣を摘出できた症例20例について、原発巣と転移巣のゲノムプロファイルを比較したところ、9p24.1-p13.3領域の欠失が転移巣で付加されていることを見いだした。さらに、同領域に存在する58遺伝子のうち欠失により発現低下し、その発現低下により細胞増殖が亢進する癌抑制遺伝子候補としてNDUFB6を同定した。本遺伝子は腎癌の転移を誘発する癌抑制遺伝子候補と考えられた。

5. Takahashi M, Tsukamoto Y, Kai T, Tokunaga A, Nakada C, Hijiya N, Uchida T, Daa T, Nomura T, Sato F, Mimata H, **Matsuura K,** and Moriyama M. Downregulation of WDR20 due to loss of 14q is involved in the malignant transformation of clear cell renal cell carcinoma.
   ***Cancer Sci* 107: 417-23,2016.** **IF: 6.716**

Yoshimotoらの先行研究で認めた14q loss領域のminimal common regionである14q32.31-33に存在する遺伝子のうち、欠失により発現低下する5遺伝子(WDR20, BAG5, ZHYVE21, ZNF839, C14orf79)のうち、WDR20遺伝子はその発現低下が予後不良となることを見いだした。WDR20の発現低下はアポトーシスを抑制し細胞増殖を亢進させることを見いだした。14q lossによるWDR20発現低下は腎癌の悪性化をもたらすことが示唆された。

6. Kai T, Tsukamoto Y, Hijiya N, Tokunaga A, Nakada C, Uchida T, Daa T, Iha H, Takahashi M, Nomura T, Sato F, Mimata H, Ikawa M, Seto M, **Matsuura K,** and Moriyama M. Kidney-specific knockout of Sav1 in the mouse promotes hyperproliferation of renal tubular epithelium through suppression of the Hippo pathway.
   ***J Pathol* 239: 97-108,2016.** **IF: 7.996**

腎癌の癌抑制遺伝子として我々が同定したSAV1の機能を明らかにするために、腎尿細管特異的にSAV1遺伝子を欠失させたマウスを作製したところ、SAV1ネフロンの構造異常(尿細管の不正や尿細管上皮細胞の核腫大)を認めた。またSAV1の欠失した上皮細胞ではYAP1の活性化を認め、増殖能の亢進を認めた。これらのことは、SAV1は尿細管におけるHippo pathwayを制御することで尿細管上皮細胞の増殖、核の大きさの維持、尿細管の形態の維持に機能を果たしていると考えられた。

18年間の業績の評価と総括

1. 腎癌

① 悪性化に関わる遺伝子異常	松浦、中田、三股、吉本、井上、成松、高橋、甲斐、（守山）
② 異常発現するmicroRNA	中田、塚本

2. 胃癌

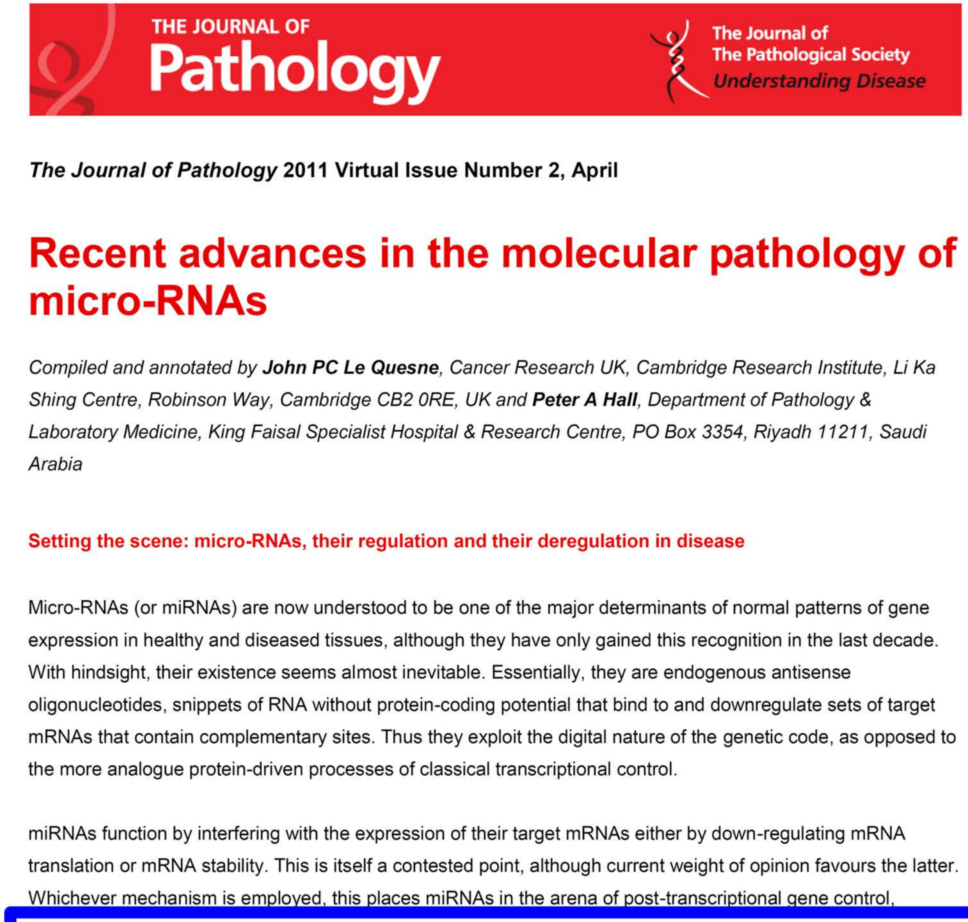
① 胃癌のゲノムプロファイルの作成とその病理学的意義	塚本、野口(剛)、村上、内田(政)、黒田、平下
② 胃癌に対する分子標的治療	塚本、平下
③ 胃癌で異常発現するmicroRNA	塚本、中田
④ ピロリ菌感染と胃癌発症の関連性	内田、山岡、藤岡、村上、Tung、金田、

3. 膵癌

① 上皮内癌が浸潤癌に進行するメカニズムの解明	泥谷、黒木、一万田、Ratsada、木下
② 膵癌の進行メカニズムに基づく治療戦略の提案	泥谷、天田

4. ポスト癌ゲノム時代の新しい個別化癌化学療法の開発

① 患者癌組織(癌オルガノイド)を用いた個別化癌化学療法	塚本、泥谷、麓、柴田、平下、黒木、木下、渕野



THE JOURNAL OF
Pathology

The Journal of
The Pathological Society
Understanding Disease

The Journal of Pathology 2011 Virtual Issue Number 2, April

Recent advances in the molecular pathology of micro-RNAs

Compiled and annotated by ***John PC Le Quesne****, Cancer Research UK, Cambridge Research Institute, Li Ka Shing Centre, Robinson Way, Cambridge CB2 0RE, UK and* ***Peter A Hall****, Department of Pathology & Laboratory Medicine, King Faisal Specialist Hospital & Research Centre, PO Box 3354, Riyadh 11211, Saudi Arabia*

Setting the scene: micro-RNAs, their regulation and their deregulation in disease

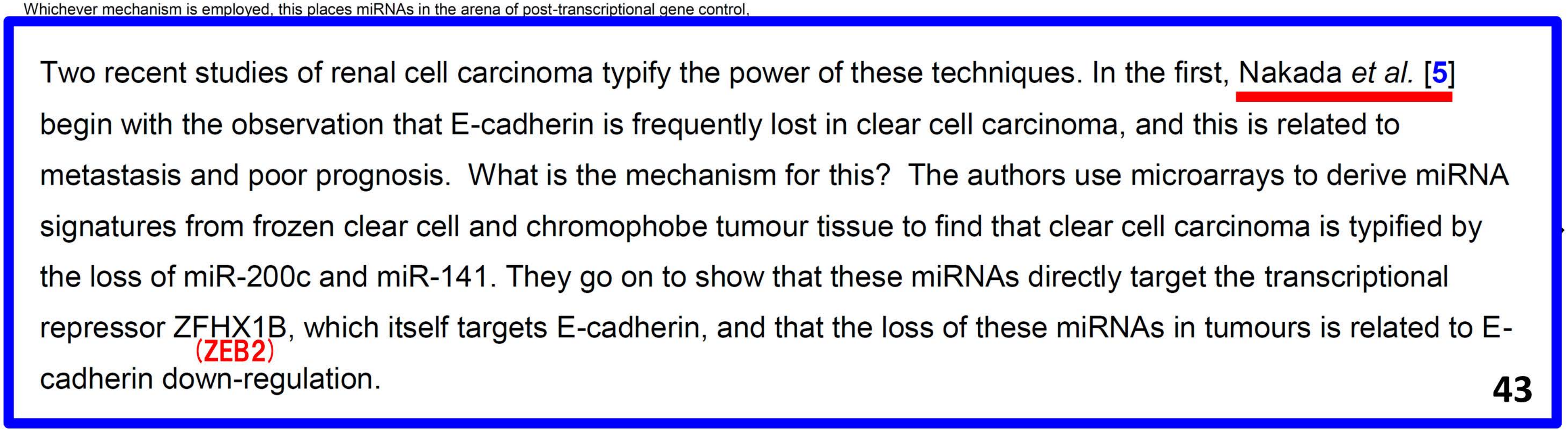
Micro-RNAs (or miRNAs) are now understood to be one of the major determinants of normal patterns of gene expression in healthy and diseased tissues, although they have only gained this recognition in the last decade. With hindsight, their existence seems almost inevitable. Essentially, they are endogenous antisense oligonucleotides, snippets of RNA without protein-coding potential that bind to and downregulate sets of target mRNAs that contain complementary sites. Thus they exploit the digital nature of the genetic code, as opposed to the more analogue protein-driven processes of classical transcriptional control.

miRNAs function by interfering with the expression of their target mRNAs either by down-regulating mRNA translation or mRNA stability. This is itself a contested point, although current weight of opinion favours the latter. Whichever mechanism is employed, this places miRNAs in the arena of post-transcriptional gene control,

The Journal of Pathologyは、major journal (Nature , Cell , Science)ではないが、Pathologyのtop journalで、日本人の論文は2ヶ月に1編くらいしか掲載されていない。それなりのqualityのジャーナルです。

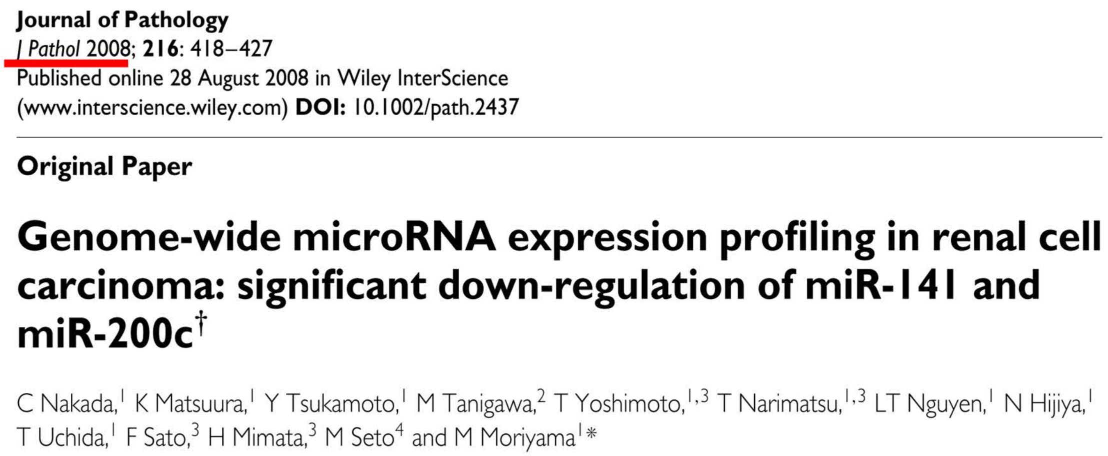
The Journal of Pathology（IF:7.996）のChief editorが、テーマごとに同誌に掲載された論文の中で特に重要なものを取り上げた特集（review形式）を組んでいる。

microRNAの特集では、重要論文16編の中に中田知里の論文が2編選ばれ、内容の紹介が行われている。



Two recent studies of renal cell carcinoma typify the power of these techniques. In the first, Nakada *et al.* [5] begin with the observation that E-cadherin is frequently lost in clear cell carcinoma, and this is related to metastasis and poor prognosis. What is the mechanism for this? The authors use microarrays to derive miRNA signatures from frozen clear cell and chromophobe tumour tissue to find that clear cell carcinoma is typified by the loss of miR-200c and miR-141. They go on to show that these miRNAs directly target the transcriptional repressor ZFHX1B (ZEB2), which itself targets E-cadherin, and that the loss of these miRNAs in tumours is related to E-cadherin down-regulation.

MicroRNA expression profile of renal cell carcinomas 2008

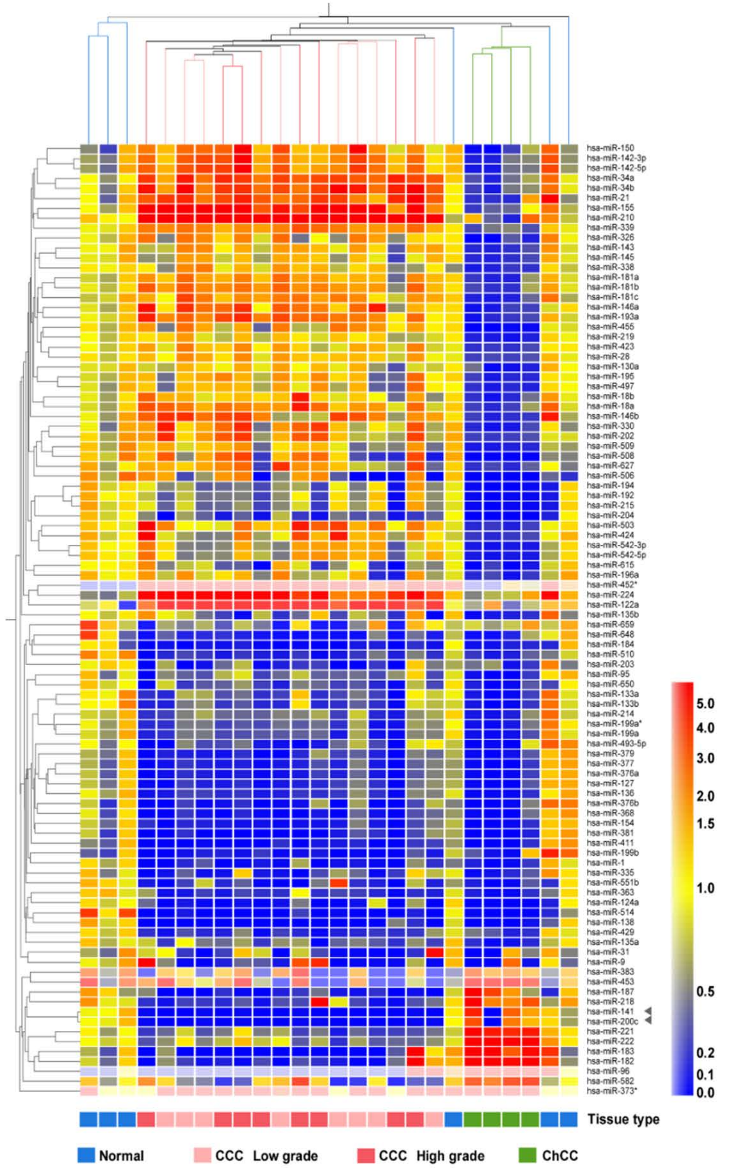


Journal of Pathology
J Pathol 2008; **216**: 418–427
Published online 28 August 2008 in Wiley InterScience
(www.interscience.wiley.com) **DOI:** 10.1002/path.2437

Original Paper

Genome-wide microRNA expression profiling in renal cell carcinoma: significant down-regulation of miR-141 and miR-200c†

C Nakada,[1] K Matsuura,[1] Y Tsukamoto,[1] M Tanigawa,[2] T Yoshimoto,[1,3] T Narimatsu,[1,3] LT Nguyen,[1] N Hijiya,[1] T Uchida,[1] F Sato,[3] H Mimata,[3] M Seto[4] and M Moriyama[1]*



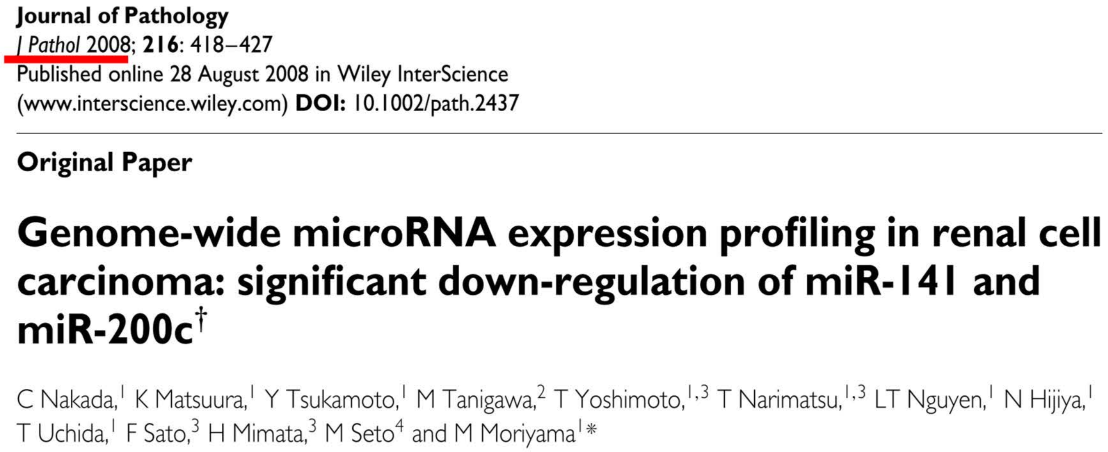
43 miRNAs were differentially expressed in ccRCCs
(16 ccRCCs vs 6 Normal kidneys, FC > 2.0, $p < 0.05$)

- ⬆ miR-210 and miR-155
- ⬇ miR-141 and miR-200c

Agilent miRNA array; Sanger miRBase 9.1 (mature 470 miRNAs)*

*2018.3~ Sanger miRBase release 22 (2,656 human miRNAs)

MicroRNA expression profile of renal cell carcinomas 2008

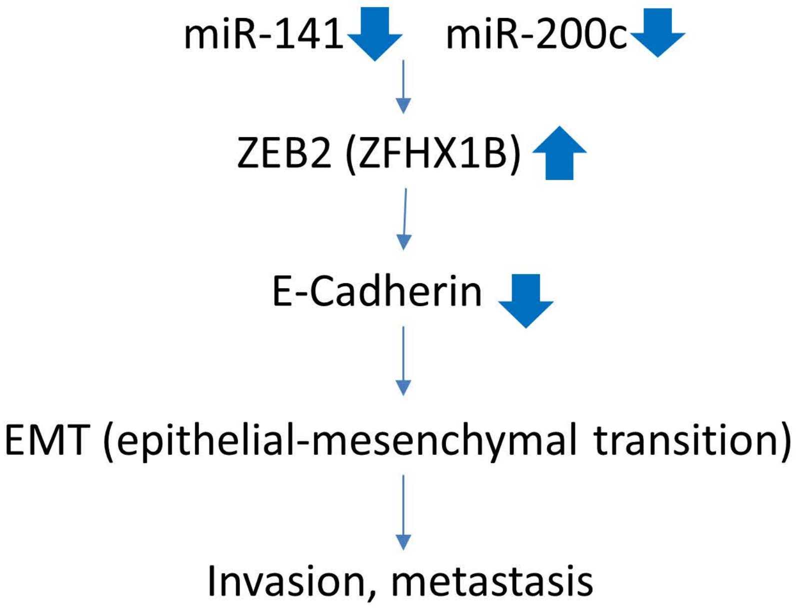


Journal of Pathology
J Pathol 2008; **216**: 418–427
Published online 28 August 2008 in Wiley InterScience
(www.interscience.wiley.com) **DOI:** 10.1002/path.2437

Original Paper

Genome-wide microRNA expression profiling in renal cell carcinoma: significant down-regulation of miR-141 and miR-200c†

C Nakada,[1] K Matsuura,[1] Y Tsukamoto,[1] M Tanigawa,[2] T Yoshimoto,[1,3] T Narimatsu,[1,3] LT Nguyen,[1] N Hijiya,[1] T Uchida,[1] F Sato,[3] H Mimata,[3] M Seto[4] and M Moriyama[1]*



miR-141 ↓ miR-200c ↓

↓

ZEB2 (ZFHX1B) ↑

↓

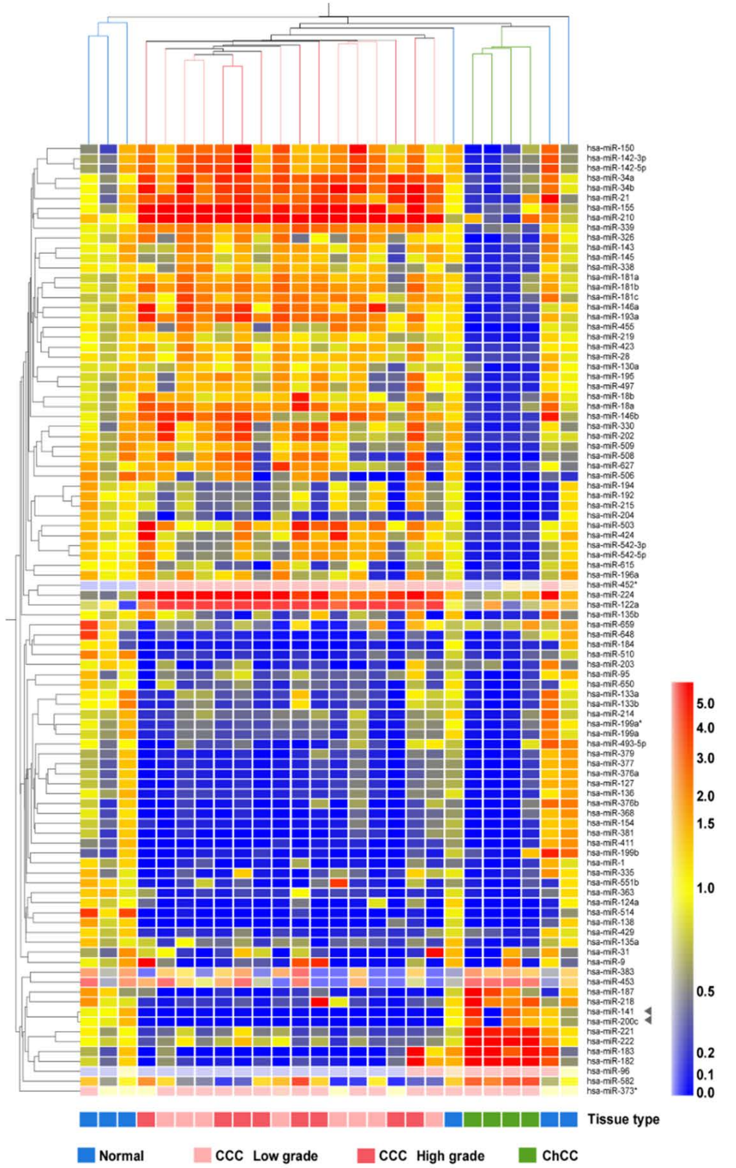
E-Cadherin ↓

↓

EMT (epithelial-mesenchymal transition)

↓

Invasion, metastasis



Gregory et al. (Australia),	Nat Cell Biol,	2008	(breast cancer)
Park et al. (USA)	Genes Dev,	2008	(Ovarian cancer)
Nakada et al., (日本)	J Pathol,	2008	(ccRCC)

*2018.3~ Sanger miRBase release 22 (2,656 human miRNAs)

Journal of Pathology IF: 7.996


WILEY-BLACKWELL

THE JOURNAL OF
Pathology
Understanding Disease

www.interscience.wiley.com/thejournalofpathology

Volume 216 • Number 4 **December 2008**

Contents include:

- Perspective: The Human Protein Atlas—a tool for pathology
- Commentary: Breast cancer special types: why bother?
- HER2-amplified cancers and ER status
- Expression profiling of phyllodes tumours.
- IGFR1 regulates synovial sarcoma growth
- MYC translocation-negative Burkitt lymphoma and miRNA
- Oncostatin M and IL-6 in melanoma
- S-phase kinase protein 2 in DLBCL
- TRAIL in resolution of autoimmune thyroiditis
- Haemangioblastic differentiation in von Hippel-Lindau disease

The Journal of
The Pathological Society

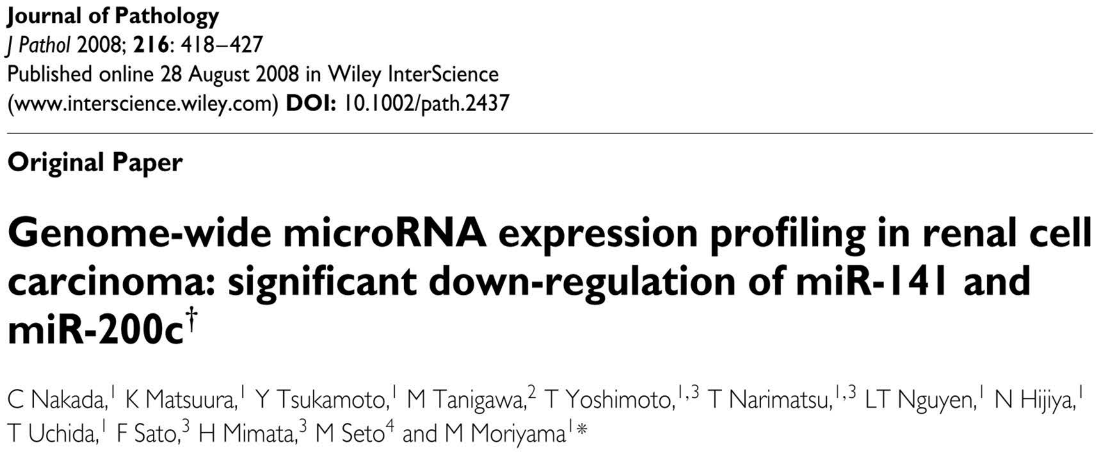
ISSN 0022-3417

Discover this journal online at
www.interscience.wiley.com


Contents

Volume 216 Number 4 December 2008

miR-210 is aberrantly upregulated in clear cell renal cell carcinoma (ccRCC)



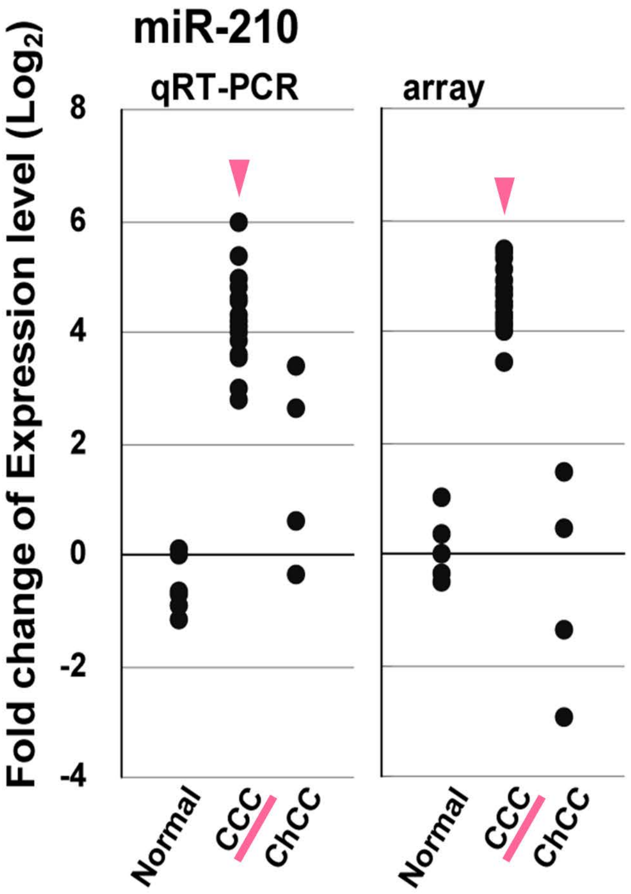
Journal of Pathology
J Pathol 2008; **216**: 418–427
Published online 28 August 2008 in Wiley InterScience
(www.interscience.wiley.com) **DOI:** 10.1002/path.2437

Original Paper

Genome-wide microRNA expression profiling in renal cell carcinoma: significant down-regulation of miR-141 and miR-200c[†]

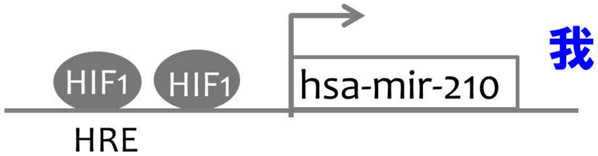
C Nakada,[1] K Matsuura,[1] Y Tsukamoto,[1] M Tanigawa,[2] T Yoshimoto,[1,3] T Narimatsu,[1,3] LT Nguyen,[1] N Hijiya,[1] T Uchida,[1] F Sato,[3] H Mimata,[3] M Seto[4] and M Moriyama[1]*

miR-210⬆ の意義は何か？



Nakada et al., J Pathol, 2008

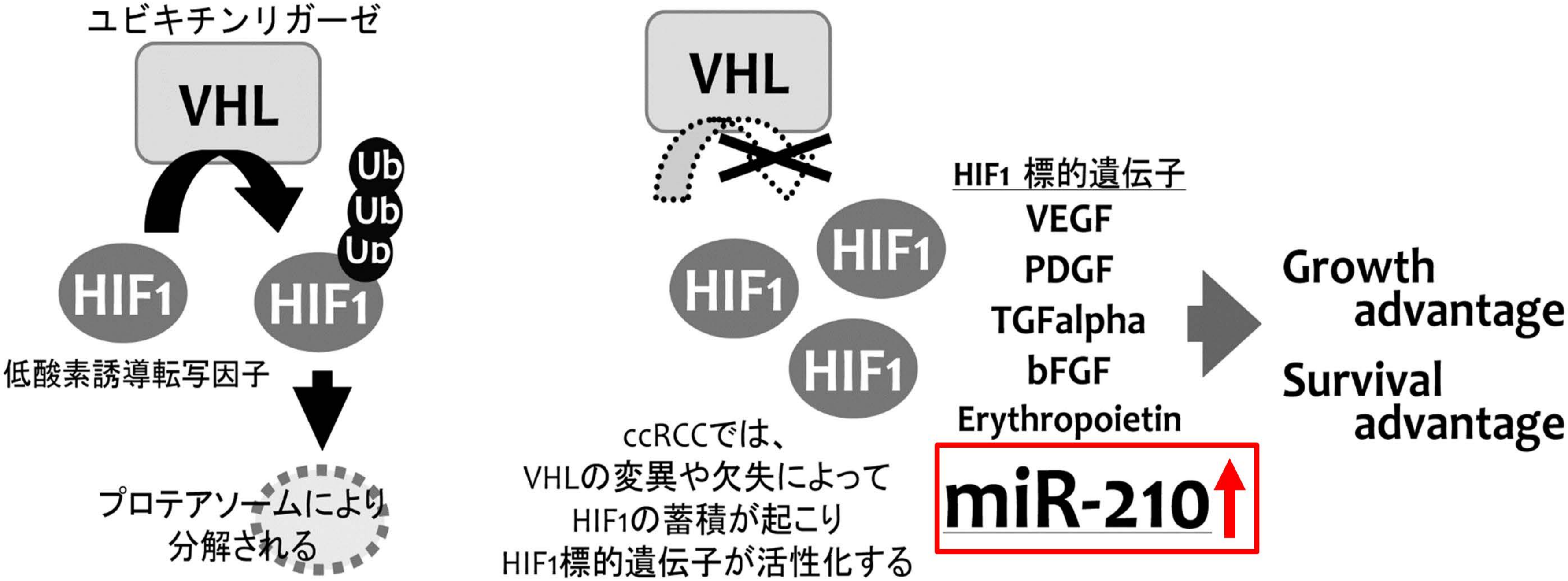
VHL変異のあるccRCCにおいてHIF1は蓄積し、その転写標的であるmiR-210が発現誘導される



我々の報告後miR-210はHIF1の転写標的であることが報告。

(Huang et al., Mol cell, 2010)

よって、miR-210高発現はVHL変異によると解される



正常組織では…

ユビキチンリガーゼ

低酸素誘導転写因子

プロテアソームにより
分解される

腎細胞癌ccRCCでは…

ccRCCでは、
VHLの変異や欠失によって
HIF1の蓄積が起こり
HIF1標的遺伝子が活性化する

HIF1 標的遺伝子
VEGF
PDGF
TGFalpha
bFGF
Erythropoietin

miR-210↑

Growth advantage

Survival advantage

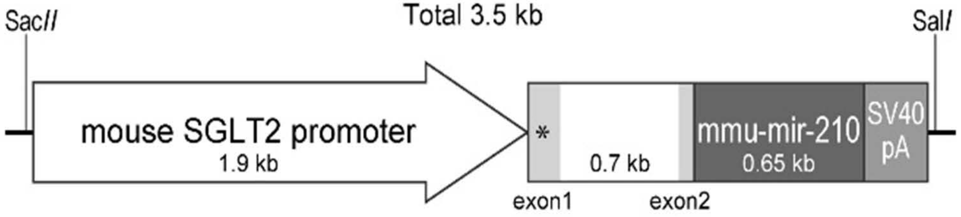
Nakada et al., J Pathol, 2008

Analysis of biological function of miR-210 in vivo ~development of miR-210 Tg mouse~

Journal of Pathology
J Pathol 2020; **251:** 12–25
Published online 20 March 2020 in Wiley Online Library
(wileyonlinelibrary.com) DOI: 10.1002/path.5394

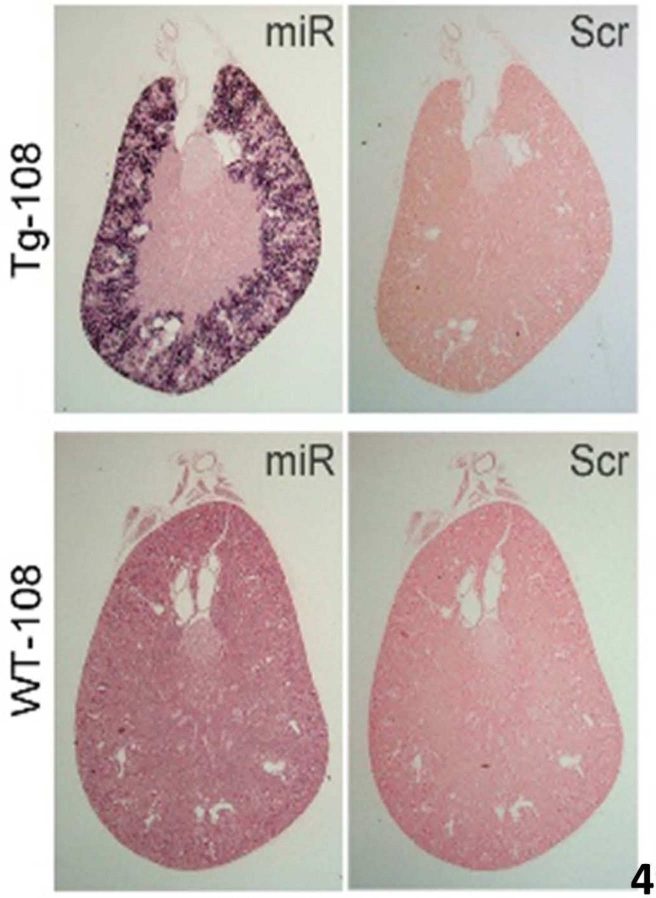
A transgenic mouse expressing miR-210 in proximal tubule cells shows mitochondrial alteration: possible association of miR-210 with a shift in energy metabolism

Chisato Nakada[1,2*], Naoki Hijiya[1], Yoshiyuki Tsukamoto[1], Shinji Yano[3], Tomoki Kai[2], Tomohisa Uchida[1], Mami Kimoto[1], Mika Takahashi[2], Tsutomu Daa[3], Keiko Matsuura[4], Toshitaka Shin[2], Hiromitsu Mimata[2] and Masatsugu Moriyama[1*]

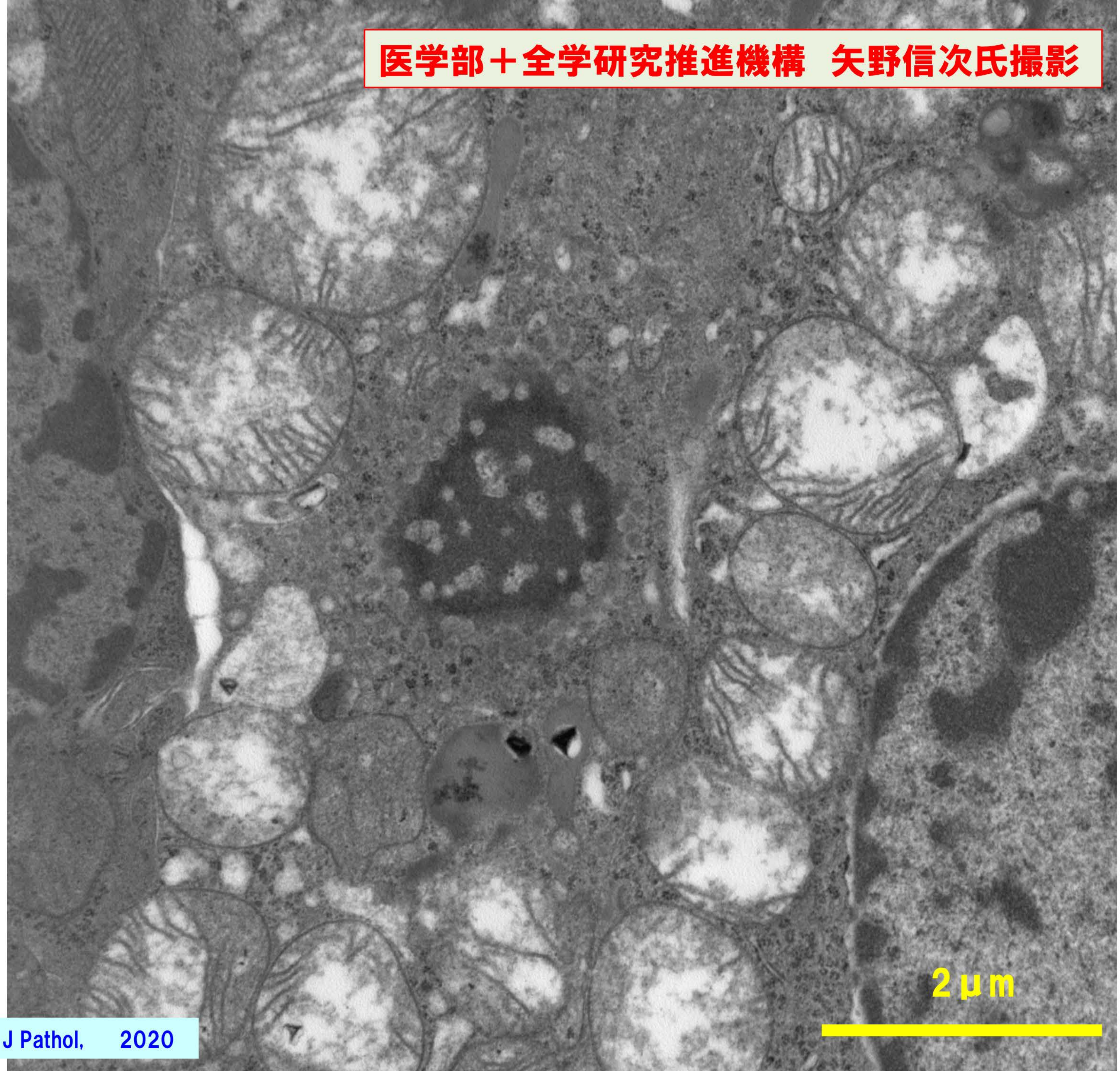


* 1st Met mutation

miR-210 (In situ hybridization)



Nakada et al., J Pathol, 2020



医学部＋全学研究推進機構　矢野信次氏撮影

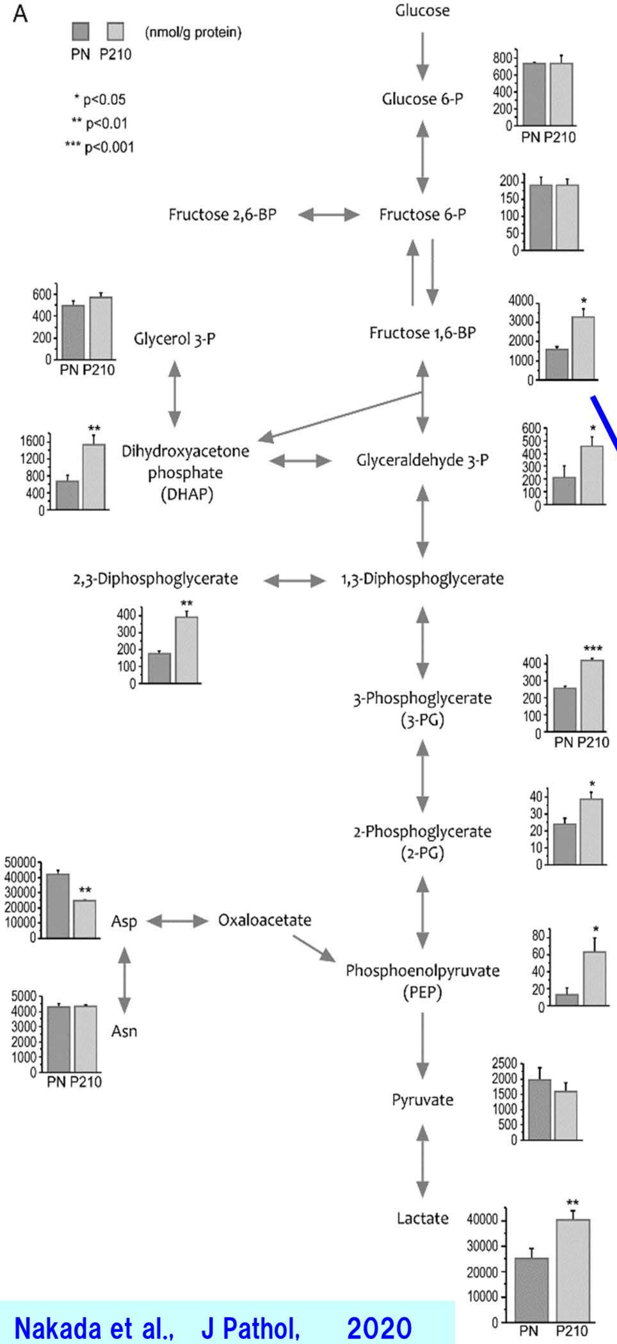
Nakada et al.,　J Pathol,　2020

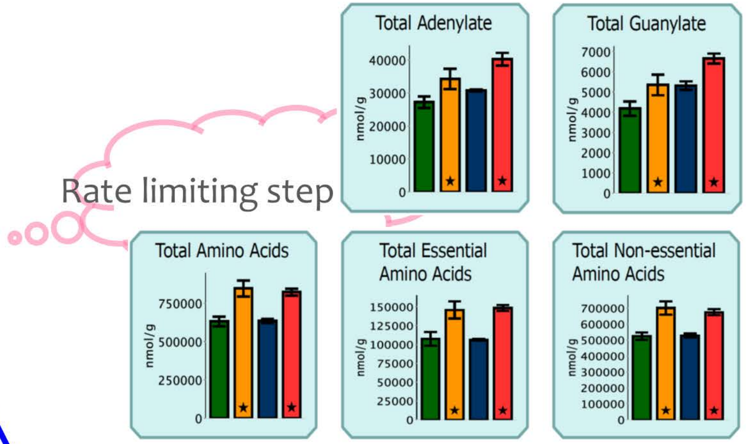
ミトコンドリアの膨化と内膜の破綻！

仮説：　miR－210の強制発現は、
細胞内代謝に不都合をもたらす

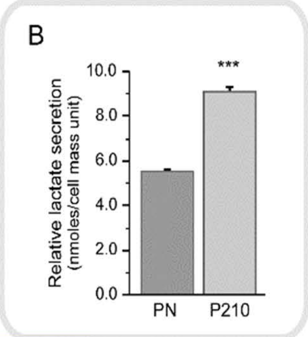
miR-210Tg腎組織とmiR-210 tranfected cellsをメタボローム解析

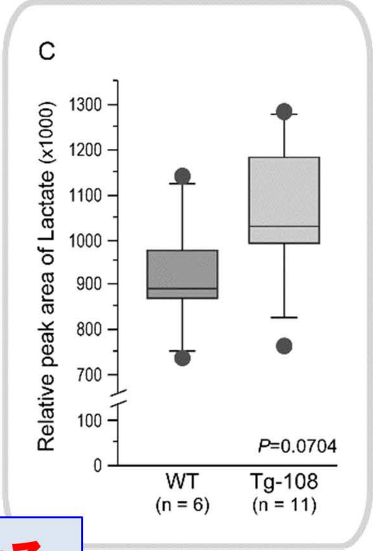
全学研究推進機構
古屋マミさん





- **Fructose1,6-BP増加**
- **アミノ酸総量増加**
- **乳酸増加（培養上清にも）**



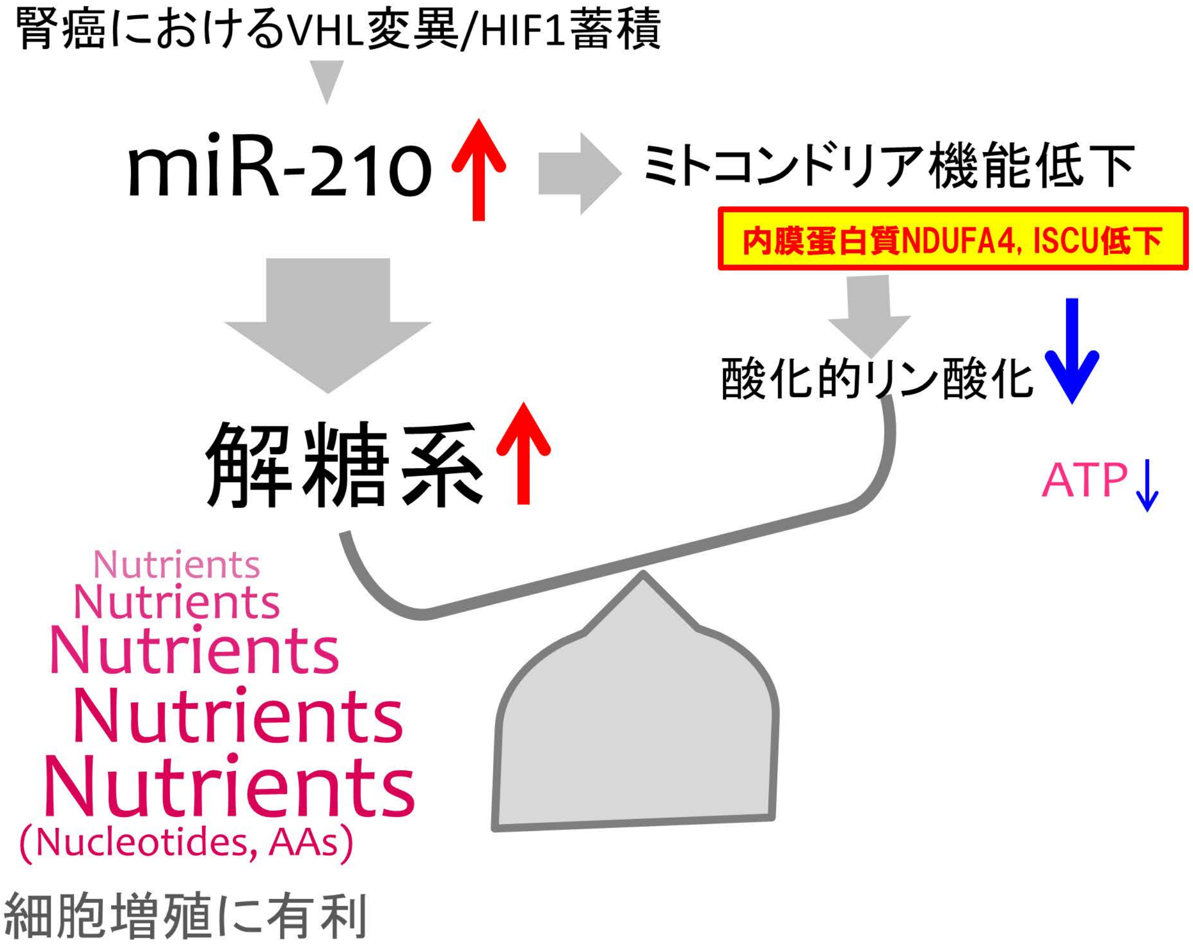


miR-210発現は解糖系を活性化させる

miR-210高発現で、エネルギー代謝が解糖系にシフトする

Nakada et al., J Pathol, 2020

VHL-HIF1 pathway/miR-210 axis の発見



腎癌におけるVHL変異/HIF1蓄積

miR-210 ↑

ミトコンドリア機能低下

内膜蛋白質NDUFA4, ISCU低下

酸化的リン酸化 ↓

ATP ↓

解糖系 ↑

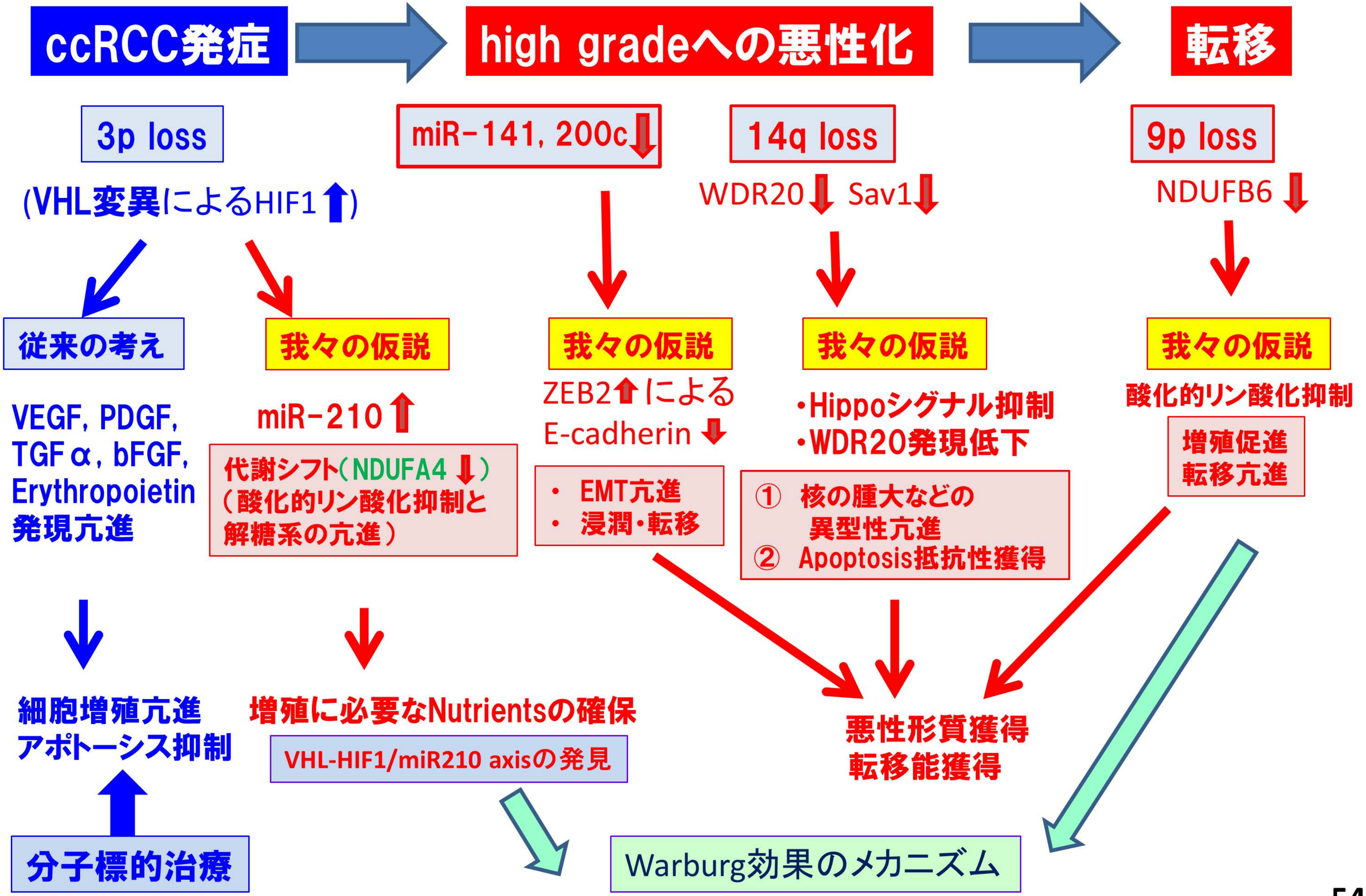
Nutrients
Nutrients
Nutrients
Nutrients
Nutrients
(Nucleotides, AAs)

細胞増殖に有利

腎癌ではmiR-210高発現により代謝が解糖系優位にシフトし、growth advantageと survival advantageを得る

Nakada et al., J Pathol, 2020

腎癌プロジェクト（まとめ）



ccRCC発症 → **high gradeへの悪性化** → **転移**

3p loss

(VHL変異によるHIF1↑)

従来の考え

VEGF, PDGF,
TGFα, bFGF,
Erythropoietin
発現亢進

細胞増殖亢進
アポトーシス抑制

分子標的治療

我々の仮説

miR-210↑

代謝シフト（NDUFA4↓）
（酸化的リン酸化抑制と
解糖系の亢進）

増殖に必要なNutrientsの確保

VHL-HIF1/miR210 axisの発見

miR-141, 200c↓

我々の仮説

ZEB2↑による
E-cadherin↓

- EMT亢進
- 浸潤・転移

14q loss

WDR20↓ Sav1↓

我々の仮説

・Hippoシグナル抑制
・WDR20発現低下

① 核の腫大などの
異型性亢進
② Apoptosis抵抗性獲得

9p loss

NDUFB6↓

我々の仮説

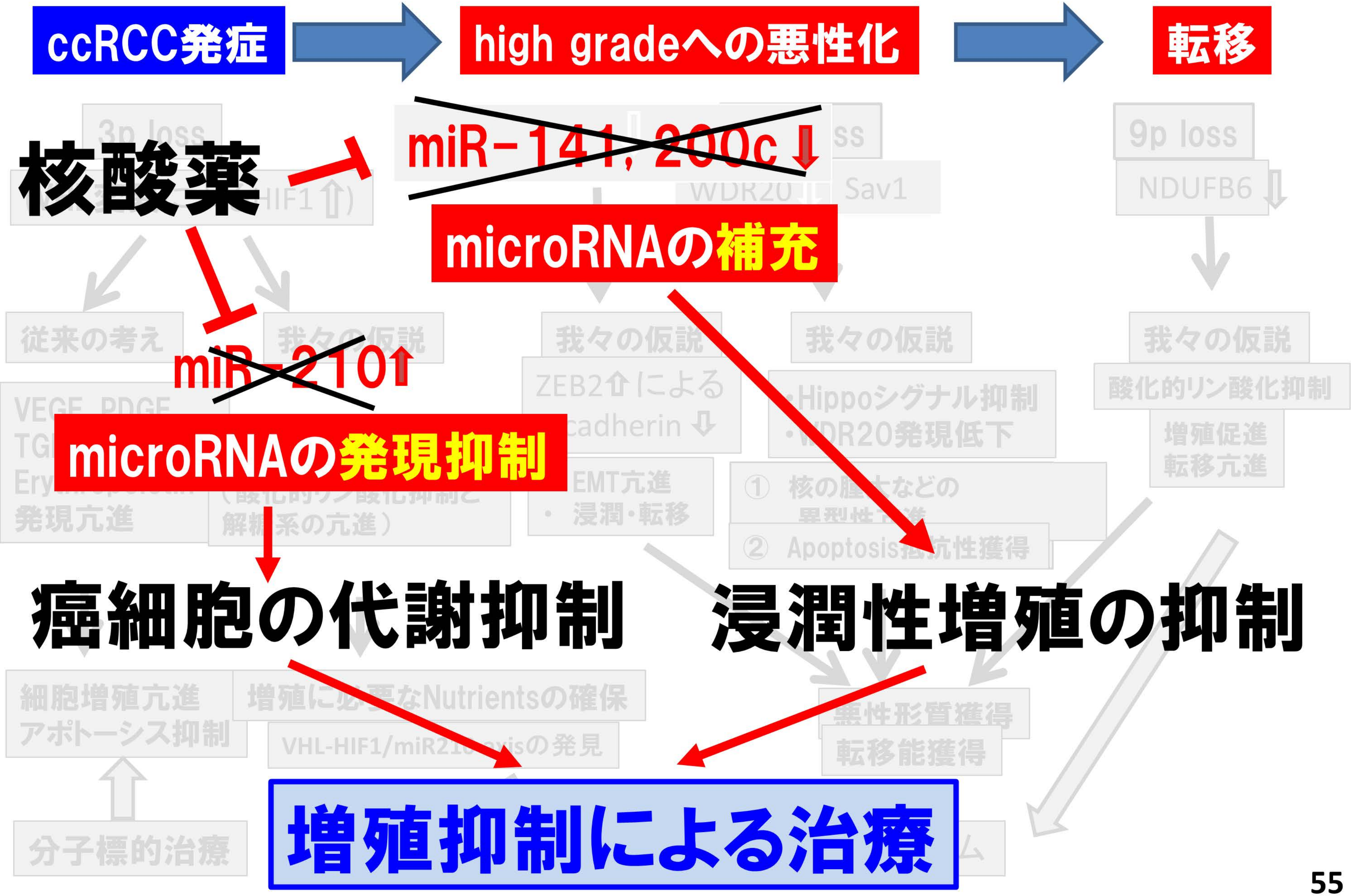
酸化的リン酸化抑制

増殖促進
転移亢進

悪性形質獲得
転移能獲得

Warburg効果のメカニズム

腎癌プロジェクト（まとめ）



ccRCC発症

high gradeへの悪性化

転移

核酸薬

~~miR-141, 200c↓~~

microRNAの補充

~~miR-210↑~~

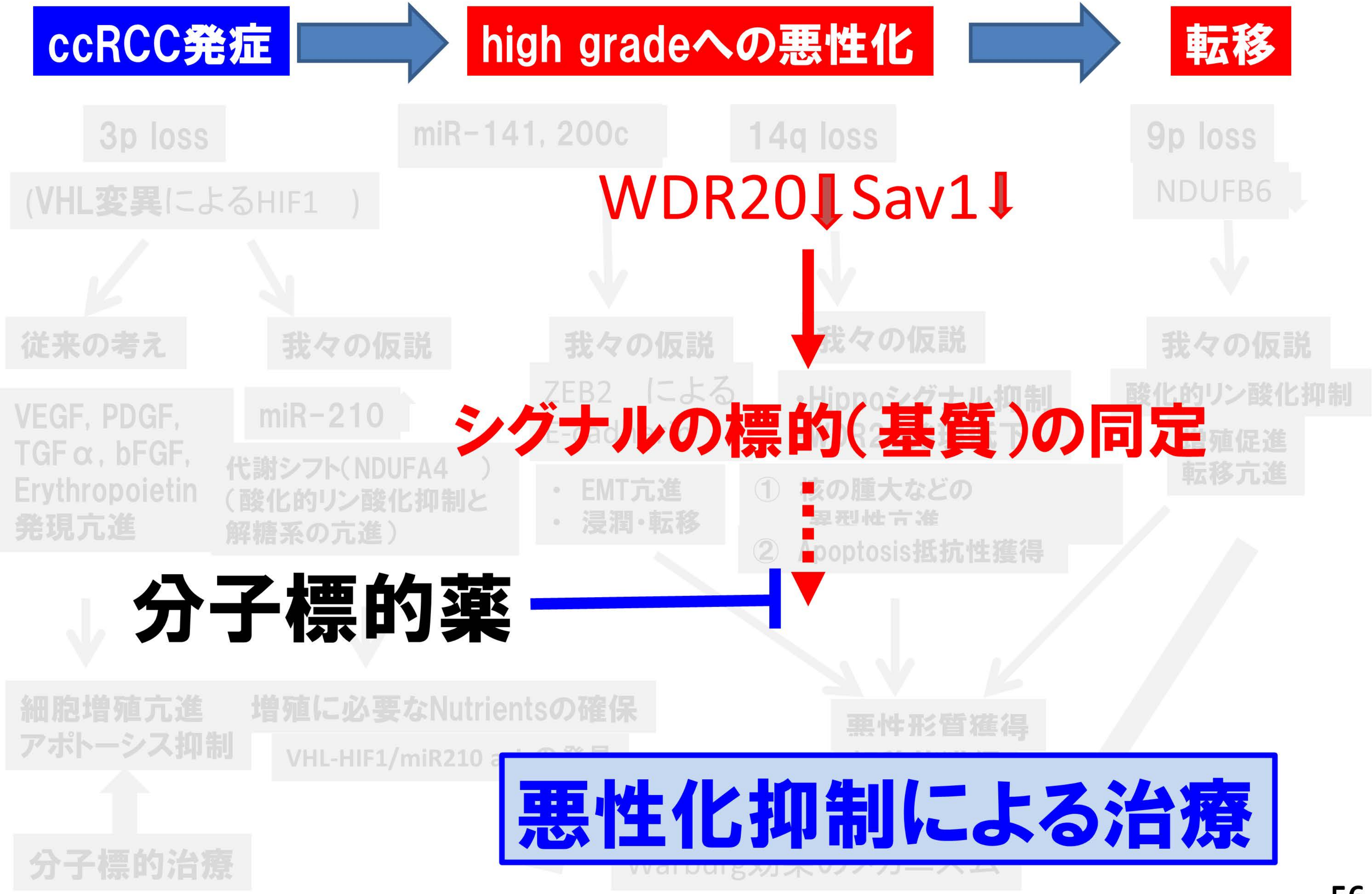
microRNAの発現抑制

癌細胞の代謝抑制

浸潤性増殖の抑制

増殖抑制による治療

腎癌プロジェクト（まとめ）



ccRCC発症 → **high gradeへの悪性化** → **転移**

3p loss

(VHL変異によるHIF1　)

従来の考え

VEGF, PDGF,
TGF α, bFGF,
Erythropoietin
発現亢進

我々の仮説

miR-210

代謝シフト（NDUFA4　）
（酸化的リン酸化抑制と
解糖系の亢進）

miR-141, 200c

我々の仮説

ZEB2　による

・ EMT亢進
・ 浸潤･転移

14q loss

WDR20↓Sav1↓

我々の仮説

・Hippoシグナル抑制

① 核の腫大などの
異型性亢進

② Apoptosis抵抗性獲得

シグナルの標的（基質）の同定

9p loss

NDUFB6

我々の仮説

酸化的リン酸化抑制

増殖促進
転移亢進

分子標的薬

細胞増殖亢進
アポトーシス抑制

分子標的治療

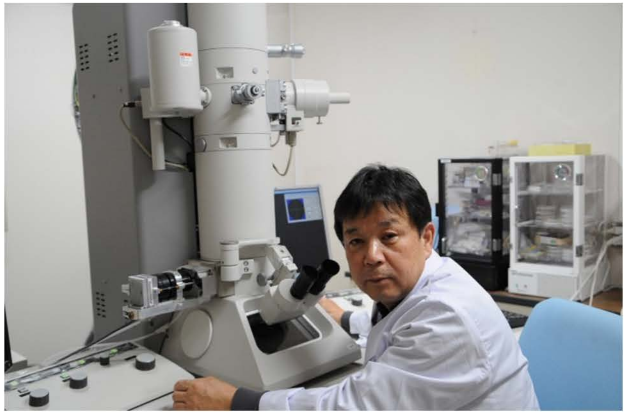
増殖に必要なNutrientsの確保

VHL-HIF1/miR210 a

悪性形質獲得

悪性化抑制による治療

挾間地区の電子顕微鏡を扱える技術職員（矢野信次さん）が定年で退職されます電子顕微鏡技術を**継承するために（電顕は職人技術ですから）**、数年でよいので技術職員を1名増員で雇用してください



18年間の業績の評価と総括

1. 腎癌

① 悪性化に関わる遺伝子異常　松浦、中田、三股、吉本、井上、成松、高橋、甲斐、(守山)
② 異常発現するmicroRNA　中田、塚本

2. 胃癌

① 胃癌のゲノムプロファイルの作成とその病理学的意義　塚本、野口(剛)、村上、内田(政)、黒田、平下
② 胃癌に対する分子標的治療　塚本、平下
③ 胃癌で異常発現するmicroRNA　塚本、中田
④ ピロリ菌感染と胃癌発症の関連性　内田、山岡、藤岡、村上、Tung、金田、

3. 膵癌

① 上皮内癌が浸潤癌に進行するメカニズムの解明　泥谷、黒木、一万田、Ratsada、木下
② 膵癌の進行メカニズムに基づく治療戦略の提案　泥谷、天田

4. ポスト癌ゲノム時代の新しい個別化癌化学療法の開発

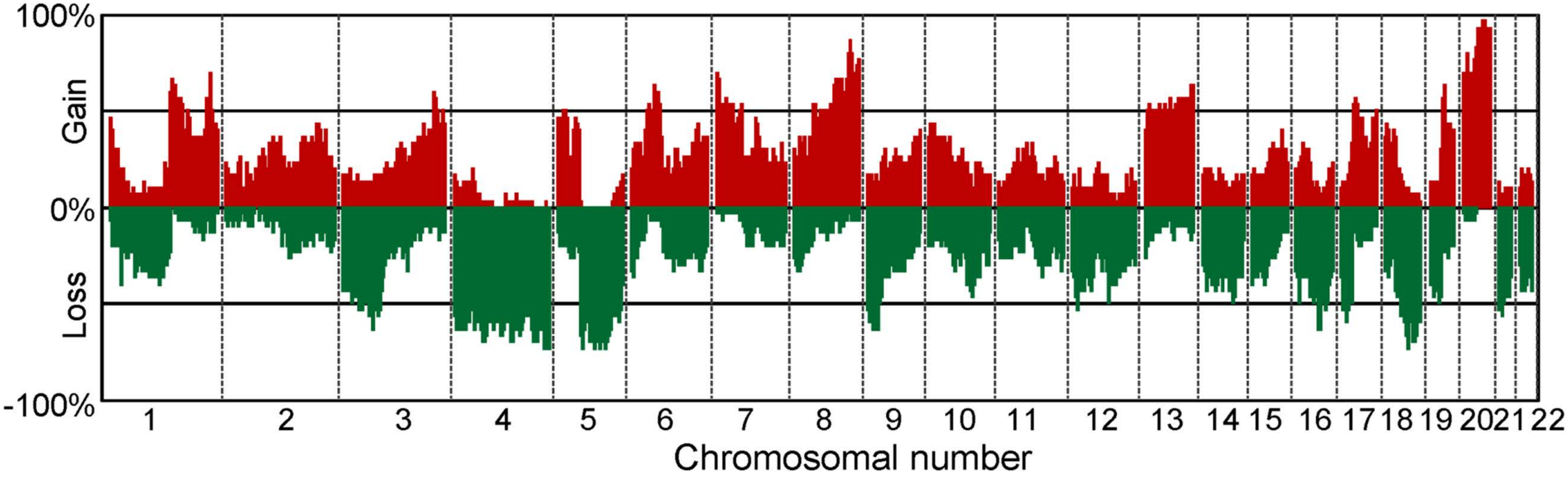
① 患者癌組織(癌オルガノイド)を用いた個別化癌化学療法

塚本、泥谷、麓、柴田、平下、黒木、木下、渕野

Result: Frequency of genomic CNAs in gastric cancer

Tsukamoto et al, ***J Pathol*** 2008

Summary of genomic profiles from 30 advanced GCs



進行胃癌では8q gain (c-myc) と20q gainが高頻度に検出された

早期癌では？

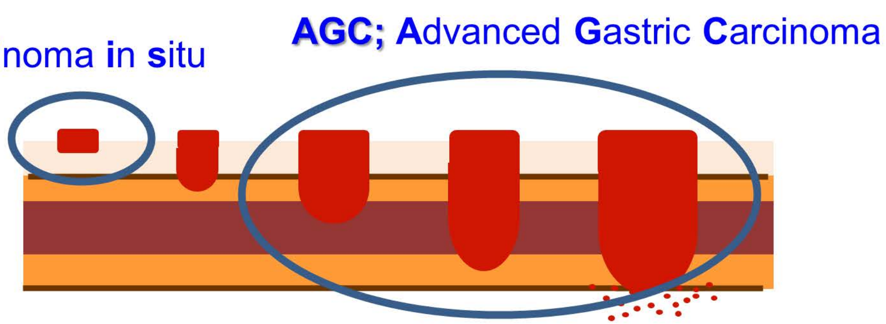
早期胃癌から進行胃癌へと進行時に付加されるゲノム異常の同定

J Pathol, 2010 IF:7.996

Genomic profiling of gastric carcinoma *in situ* and adenomas by array-based comparative genomic hybridization

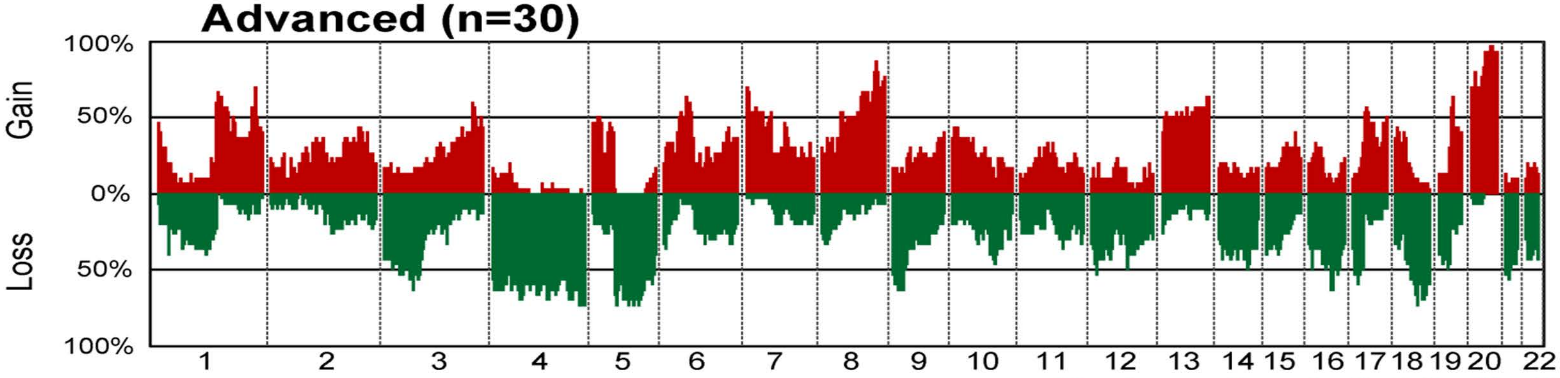
Masahiro Uchida,[1,2] Yoshiyuki Tsukamoto,[1]* Tomohisa Uchida,[1] Yuta Ishikawa,[3] Takayuki Nagai,[4] Naoki Hijiya,[1]
Lam Tung Nguyen,[1,2] Chisato Nakada,[1] Akiko Kuroda,[1,2] Tadayoshi Okimoto,[2] Masaaki Kodama,[2]
Kazunari Murakami,[2] Tsuyoshi Noguchi,[5] Keiko Matsuura,[1] Masato Tanigawa,[6] Masao Seto,[7] Hisao Ito,[8]
Toshio Fujioka,[2] Ichiro Takeuchi[3,9] and Masatsugu Moriyama[1]

早期胃癌と進行胃癌のゲノム異常の比較



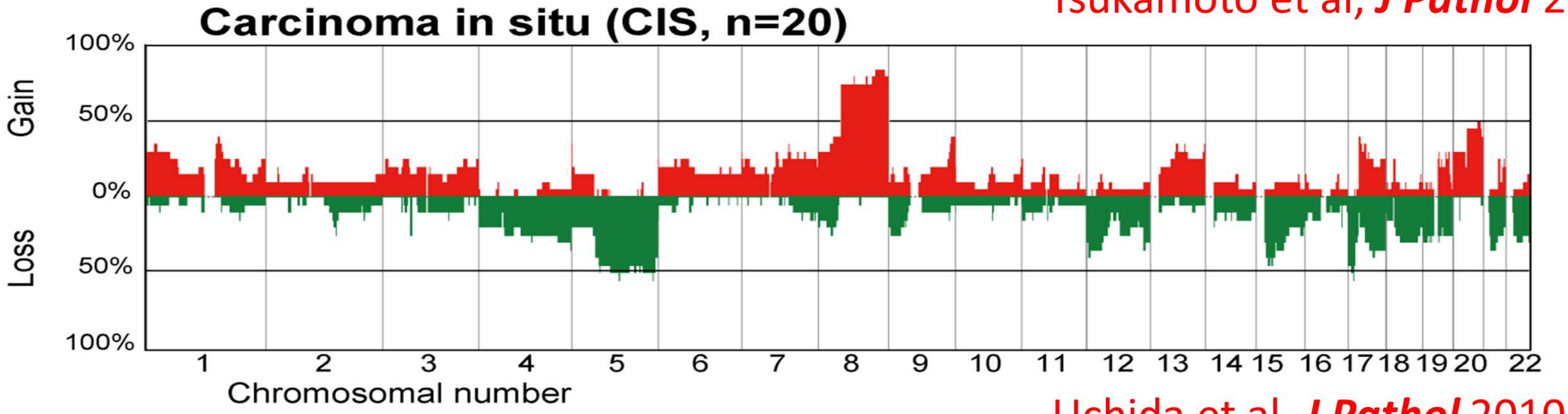
CIS; **C**arcinoma **i**n **s**itu

AGC; **A**dvanced **G**astric **C**arcinoma



Advanced (n=30)

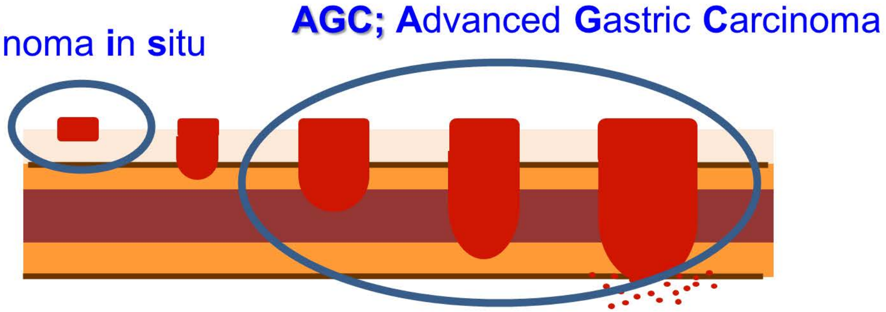
Tsukamoto et al, ***J Pathol*** 2008

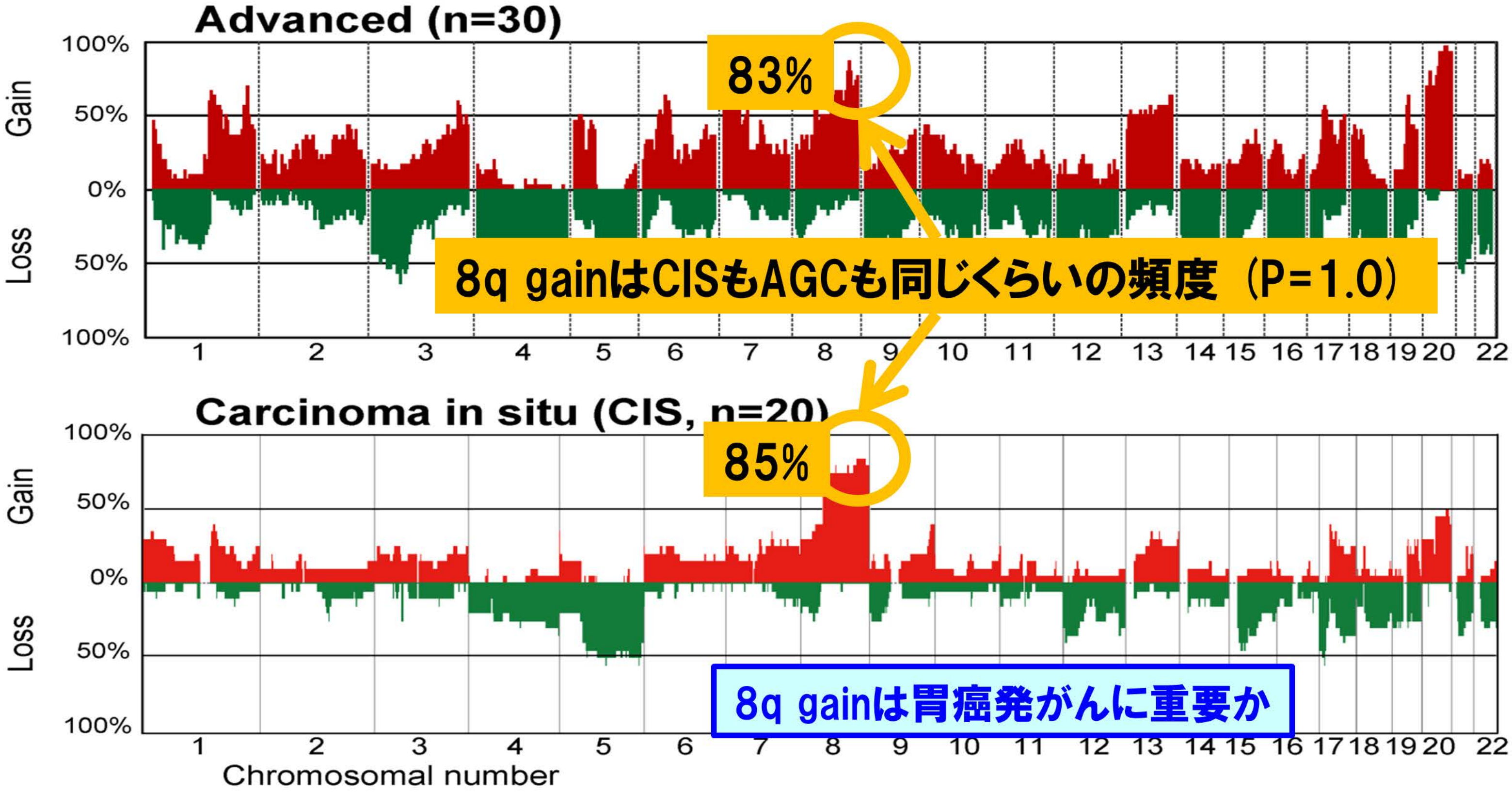


Carcinoma in situ (CIS, n=20)

Uchida et al, ***J Pathol*** 2010

8q gainの頻度は早期癌と進行癌で差がない（発癌早期に既にある）



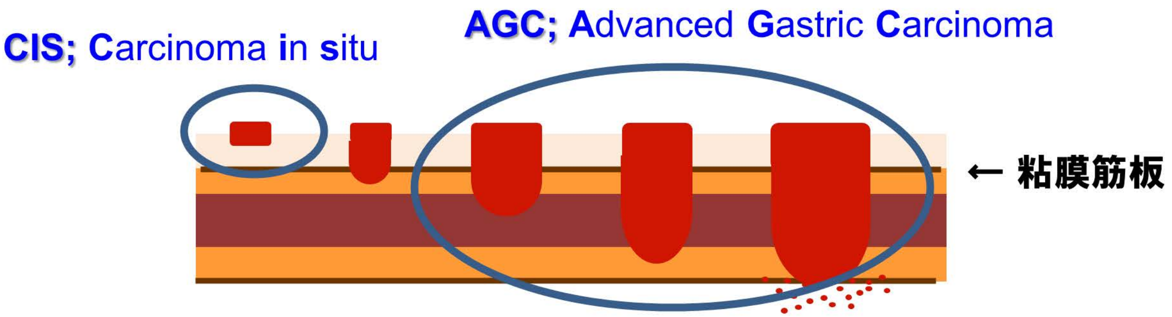


8q gainはCISもAGCも同じくらいの頻度（P=1.0）

8q gainは胃癌発がんに重要か

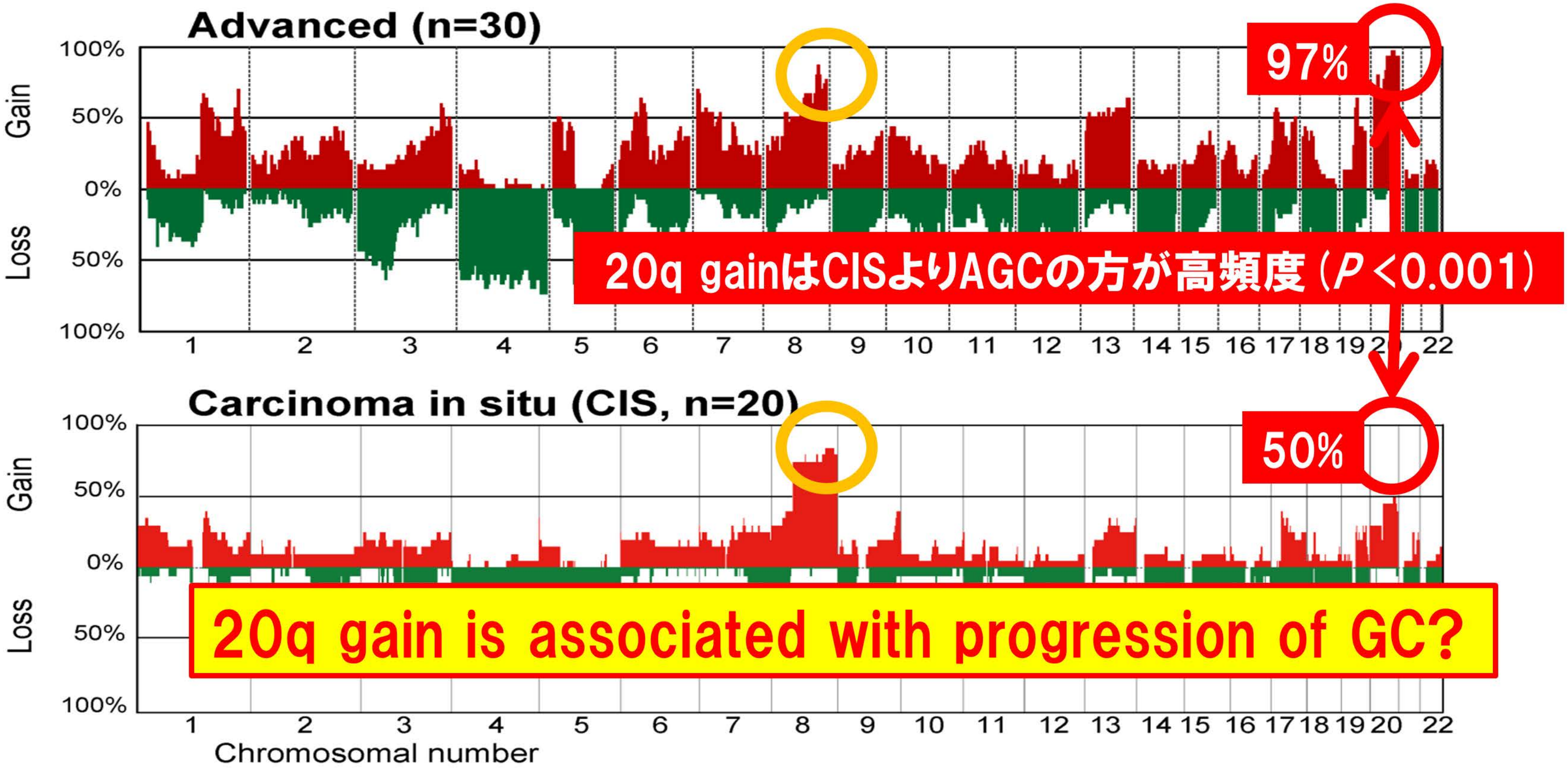
Uchida et al, *J Pathol* 2010

20q gainは進行癌により多い（20q gainは胃癌進行に重要！）


CIS; **C**arcinoma **i**n **s**itu

AGC; **A**dvanced **G**astric **C**arcinoma

← **粘膜筋板**


Advanced (n=30)

Carcinoma in situ (CIS, n=20)

97%

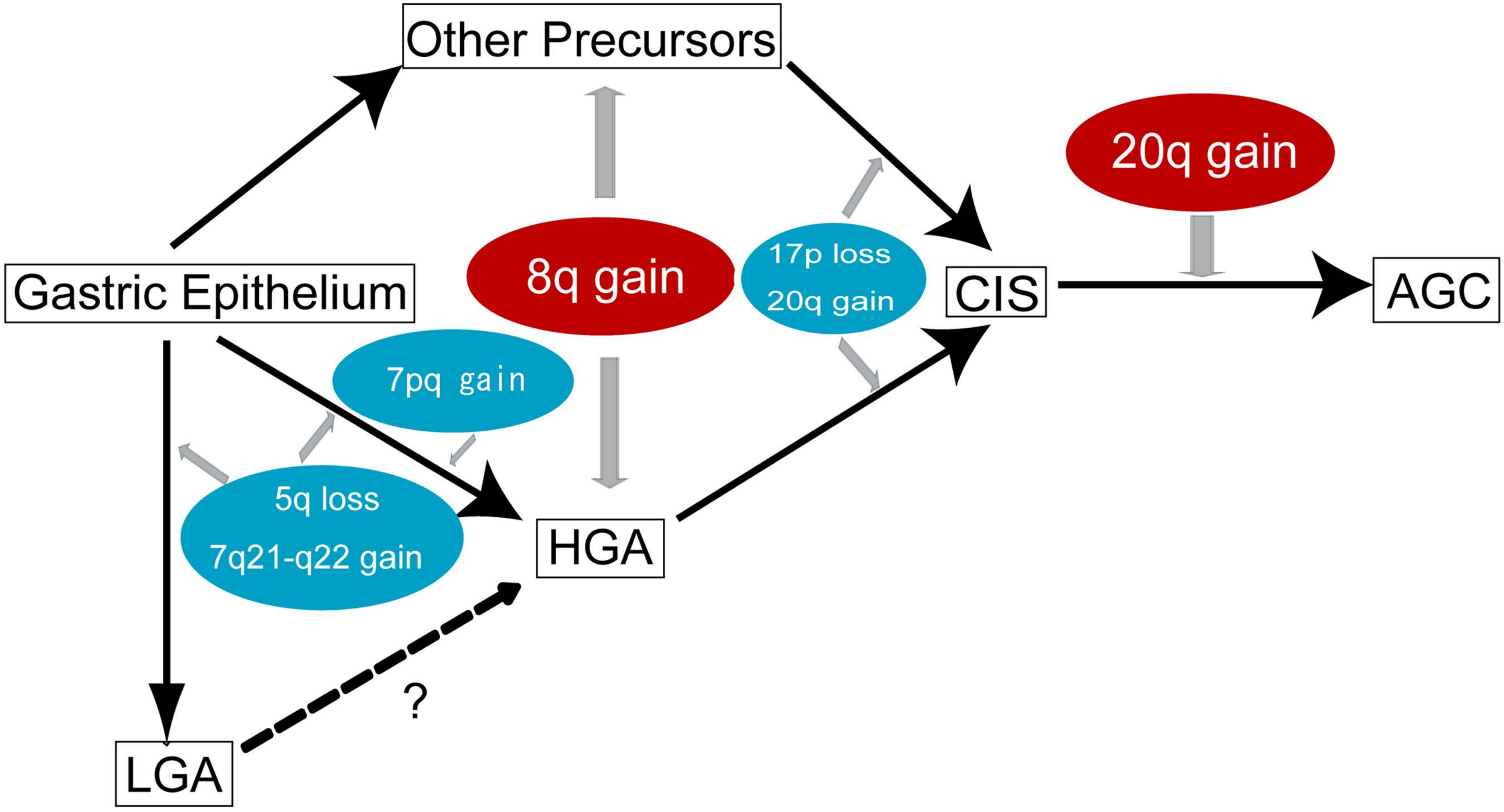
50%

20q gainはCISよりAGCの方が高頻度（*P* <0.001）

20q gain is associated with progression of GC?

Uchida et al, ***J Pathol*** 2010

20q gainが進行胃癌への進行に重要である



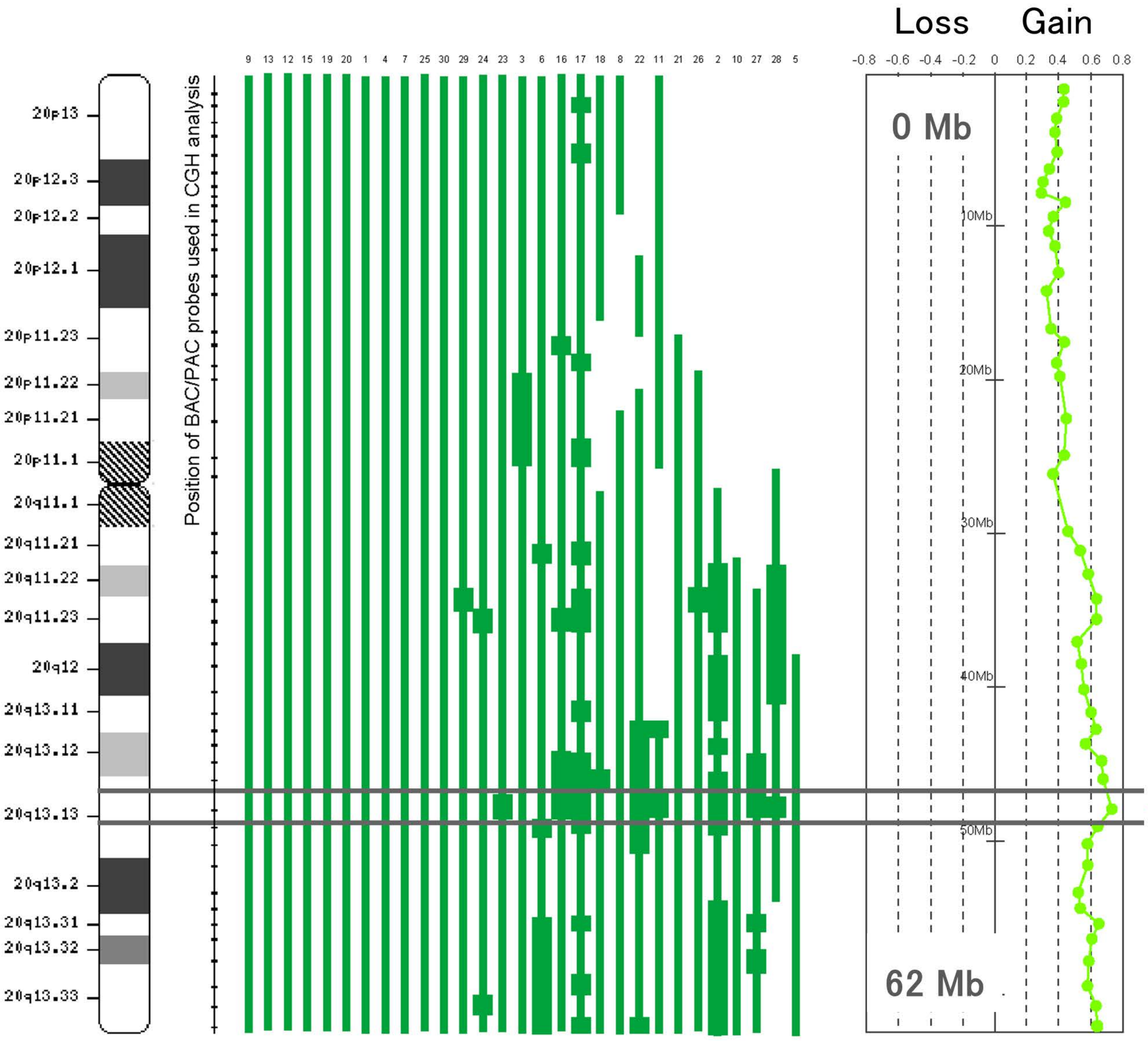
20q gainの責任遺伝子の単離へ。

Uchida et al, *J Pathol* 2010

20q gainのMinimal common regionは20q13

p：短腕

q：長腕



Regions of gain in each case

Average Log2ratio

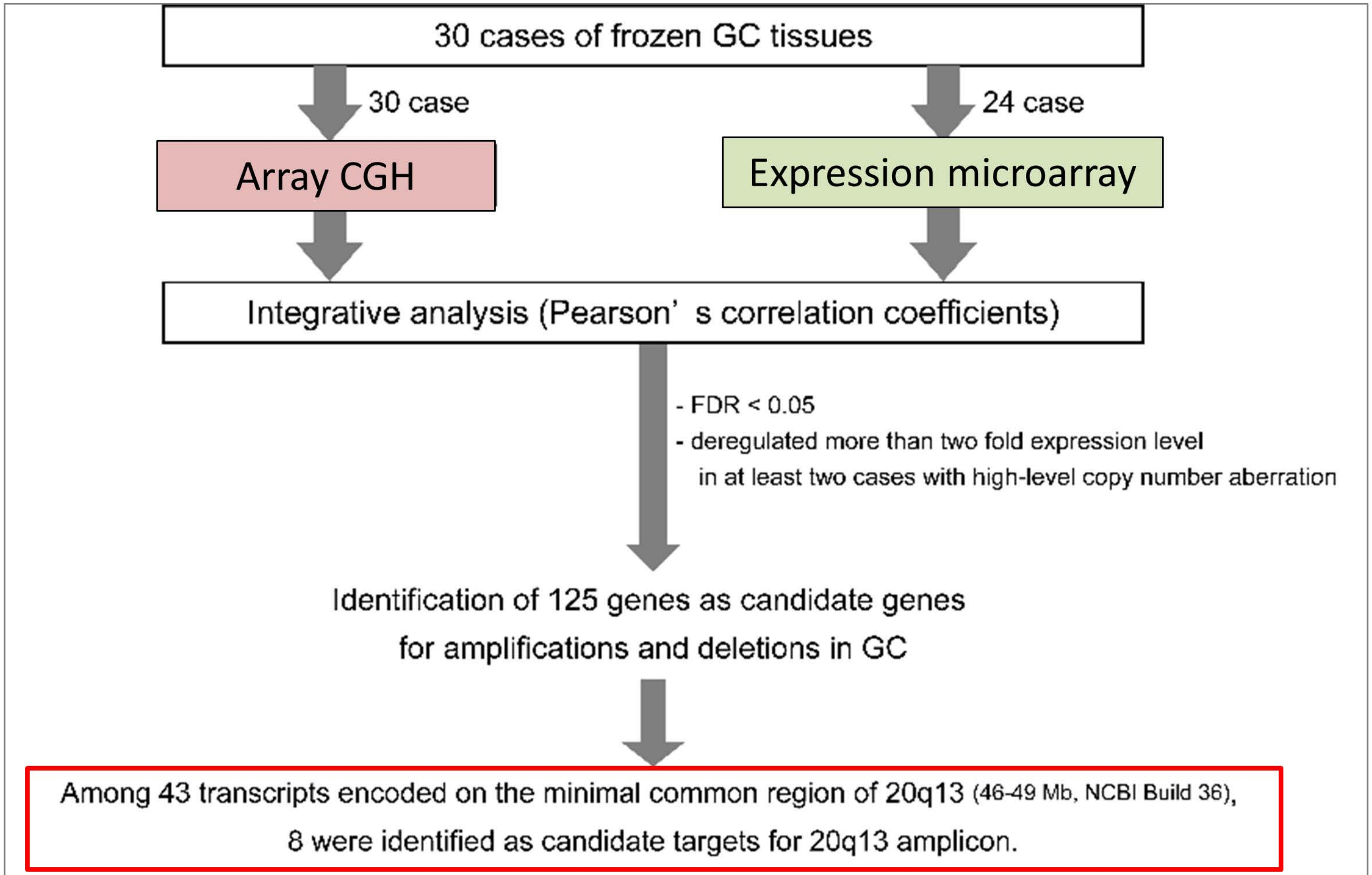
Over lapping

46–49 Mb
（20q13）

43 genes

Tsukamoto et al, ***J Pathol*** 2008

20q13増幅によって発現亢進する遺伝子



30 cases of frozen GC tissues

30 case

24 case

Array CGH

Expression microarray

Integrative analysis (Pearson' s correlation coefficients)

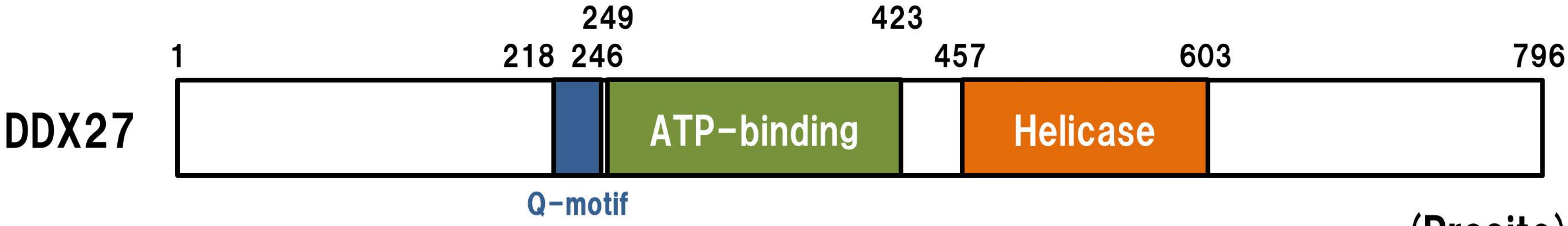
- FDR < 0.05
- deregulated more than two fold expression level in at least two cases with high-level copy number aberration

Identification of 125 genes as candidate genes for amplifications and deletions in GC

Among 43 transcripts encoded on the minimal common region of 20q13 (46-49 Mb, NCBI Build 36), 8 were identified as candidate targets for 20q13 amplicon.

Probe name	Gene name	Description	Pearson's r	FDR	Fold change
A_23_P40194	**DDX27**	**DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 27**	**0.71**	**0.00012**	**2.4**
A_24_P5935	KUA-UEV	ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 1	0.69	0.00019	1.7
A_23_P68472	DPM1	dolichyl-phosphate mannosyltransferase polypeptide 1, catalytic subunit	0.67	0.00033	1.5
A_23_P254179	ADNP	activity-dependent neuroprotector	0.66	0.00037	1.3
A_32_P205637	PARD6B	par-6 partitioning defective 6 homolog beta	0.62	0.00090	1.1
A_23_P338890	PTPN1	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 1	0.59	0.00190	1.3
A_24_P161463	C20orf199	chromosome 20 open reading frame 199	0.57	0.00281	2.1
A_23_P5995	ARFGEF2	ADP-ribosylation factor guanine nucleotide-exchange factor 2	0.54	0.00459	1.4

Background: What is DDX27?



(Prosite)

an ATP-dependent RNA helicase, functions at nucleolus

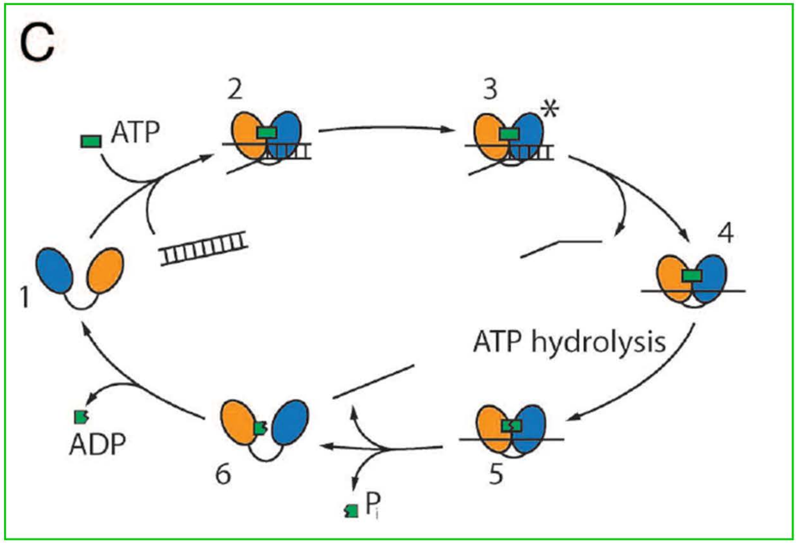
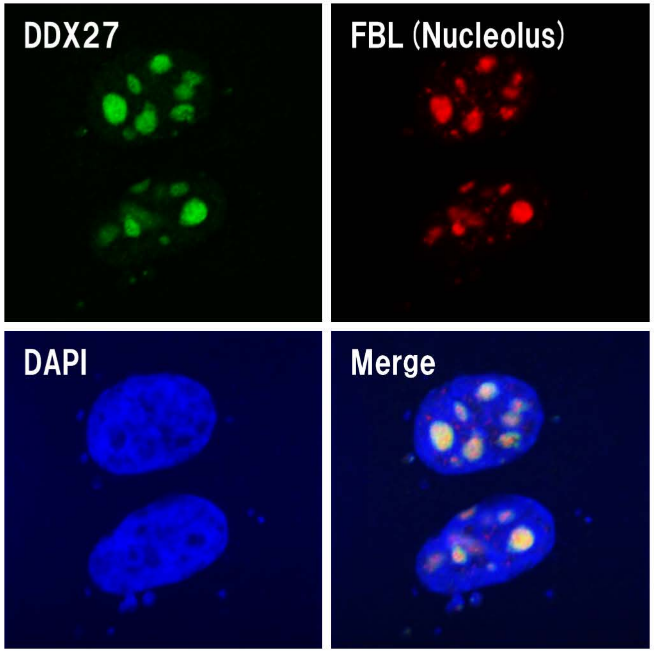


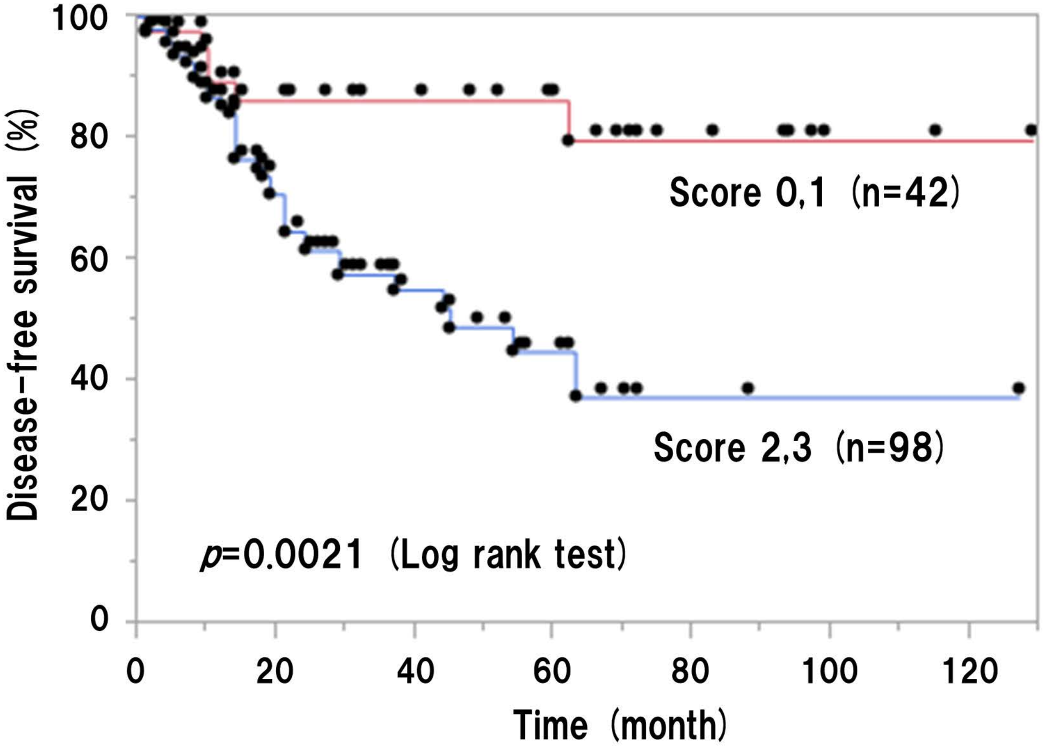
Figure1.DEAD and DExH box RNA helicases.

(Klostermeier et al, 2012, RNA Biology, vol9, p751)



Tsukamoto, Am Cancer Res, 2015

Result: DDX27 expression correlates worse prognosis of GC patients



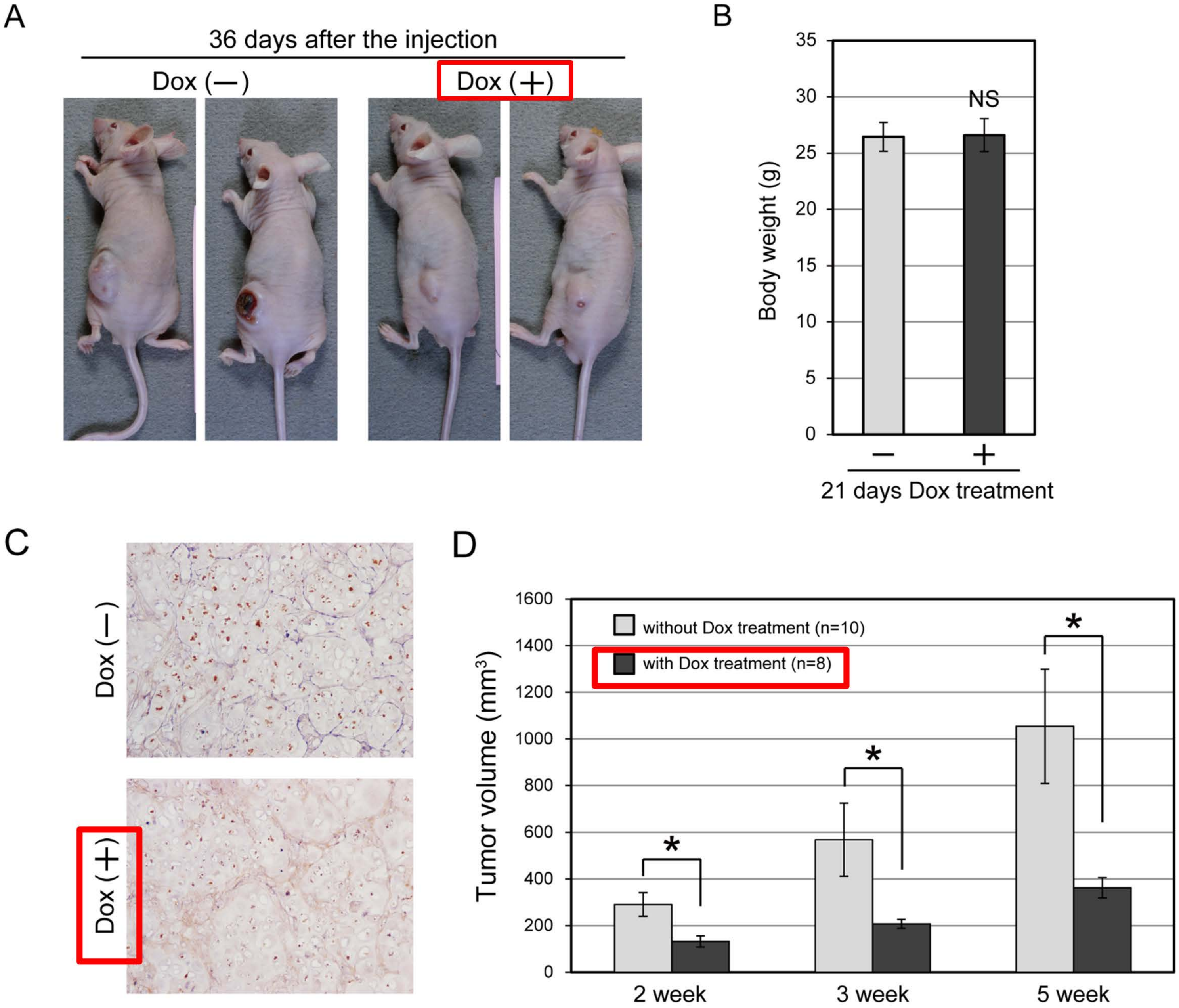
Tsukamoto, Am Cancer Res, 2015

Result: Overexpression of DDX27 is an independent prognostic factor

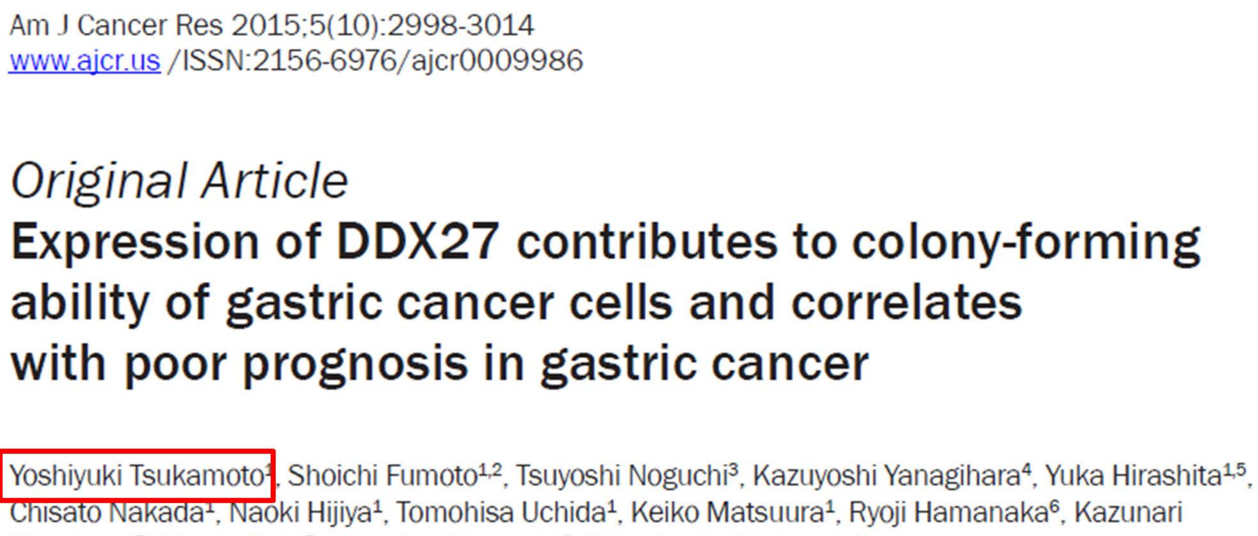
Factors	Univariate *P* value	Multivariate HR	Multivariate 95% CI	Multivariate *P* value
Age				
<65/≧65	0.0454	1.69	0.81 - 3.91	0.1683
Sex				
Female/Male	0.0585	-	-	-
Histological type				
Intestinal/Diffuse	0.9835	-	-	-
Lymphatic invasion				
Negative/Positive	0.0128	1.32	0.39 - 6.00	0.6774
Vascular invasion				
Negative/Positive	0.0001	1.15	0.55 - 2.52	0.722
Tumor depth				
m, sm, mp/ss, se, si	<0.0001	4.05	1.44 - 14.56	0.0065
Lymph node metastasis				
Negative/Positive	0.0044	1.38	0.54 - 4.28	0.523
DDX27 expression				
Score 0, 1/2, 3	0.0021	2.33	1.01 - 6.39	0.0465

Tsukamoto, Am Cancer Res, 2015

胃癌細胞でDDX27をinducibleにノックダウンすると増殖が抑えられる



Tsukamoto, Am Cancer Res, 2015



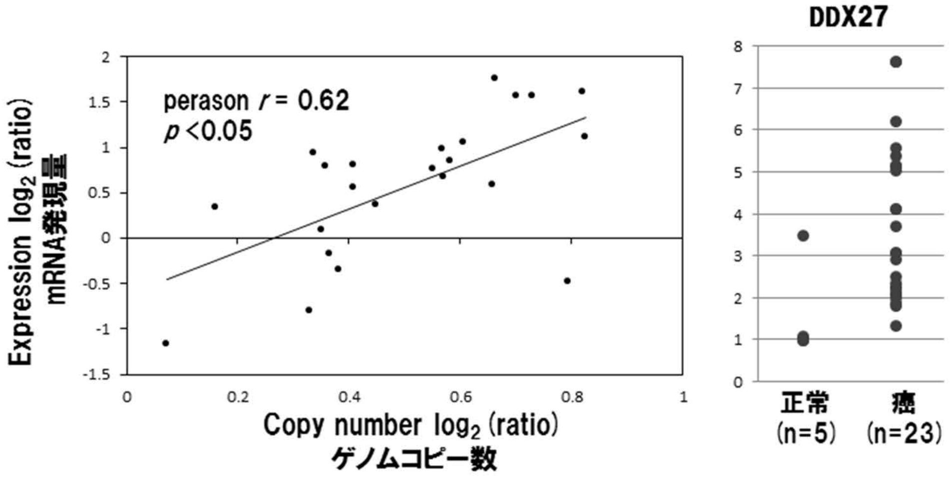
Am J Cancer Res 2015;5(10):2998-3014
www.ajcr.us /ISSN:2156-6976/ajcr0009986

Original Article

Expression of DDX27 contributes to colony-forming ability of gastric cancer cells and correlates with poor prognosis in gastric cancer

Yoshiyuki Tsukamoto[1], Shoichi Fumoto[1,2], Tsuyoshi Noguchi[3], Kazuyoshi Yanagihara[4], Yuka Hirashita[1,5], Chisato Nakada[1], Naoki Hijiya[1], Tomohisa Uchida[1], Keiko Matsuura[1], Ryoji Hamanaka[6], Kazunari Murakami[5], Masao Seto[7], Masafumi Inomata[2], Masatsugu Moriyama[1]

DDX27はゲノムコピー数の増加に伴い発現が亢進する



DDX27は20q13増幅により過剰発現して、

胃癌細胞の増殖を促進し、予後不良をもたらす

18年間の業績の評価と総括

1. 腎癌

① 悪性化に関わる遺伝子異常	松浦、中田、三股、吉本、井上、成松、高橋、甲斐、（守山）
② 異常発現するmicroRNA	中田、塚本

2. 胃癌

① 胃癌のゲノムプロファイルの作成とその病理学的意義	塚本、野口（剛）、村上、内田（政）、黒田、平下
② 胃癌に対する分子標的治療	塚本、平下
③ 胃癌で異常発現するmicroRNA	塚本、中田
④ ピロリ菌感染と胃癌発症の関連性	内田、山岡、藤岡、村上、Tung、金田、

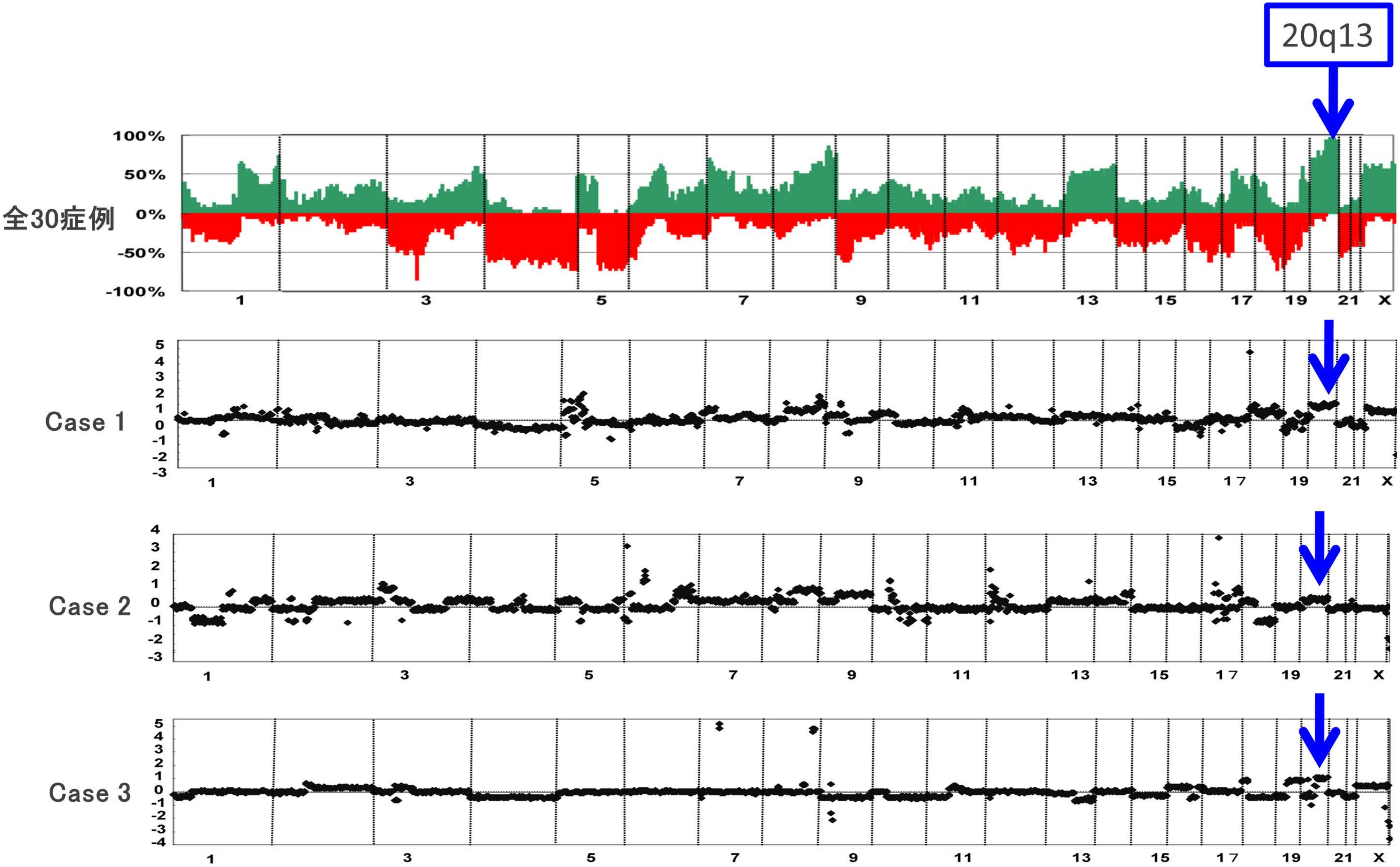
3. 膵癌

① 上皮内癌が浸潤癌に進行するメカニズムの解明	泥谷、黒木、一万田、Ratsada、木下
② 膵癌の進行メカニズムに基づく治療戦略の提案	泥谷、天田

4. ポスト癌ゲノム時代の新しい個別化癌化学療法の開発

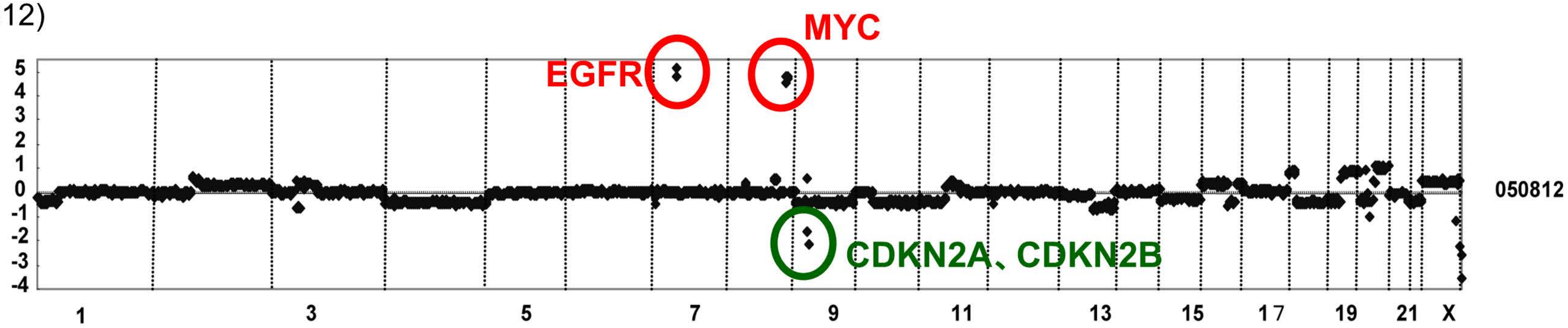
① 患者癌組織（癌オルガノイド）を用いた個別化癌化学療法	塚本、泥谷、麓、柴田、平下、黒木、木下、渕野

20q13gainは多くの胃癌で共通するが増幅のレベルは小さい

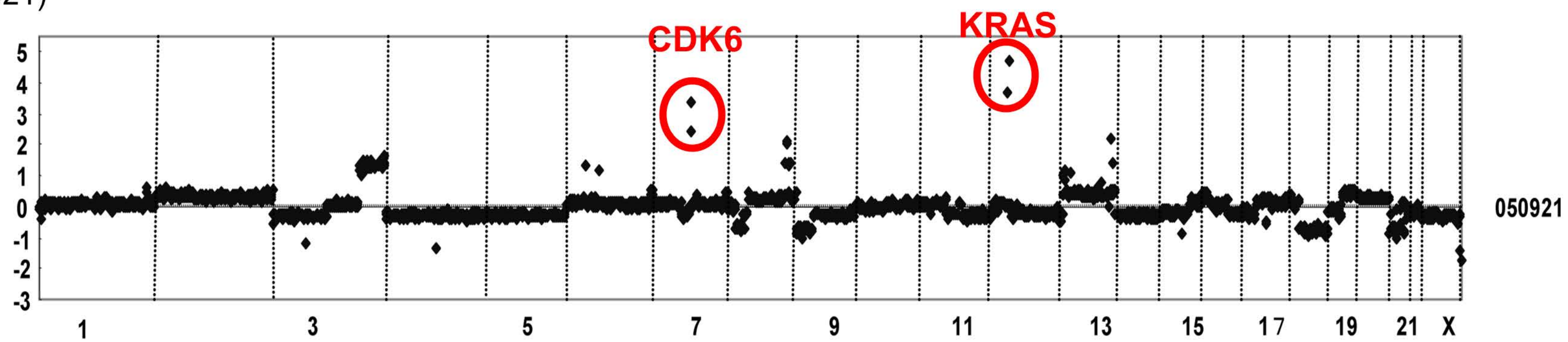


20q13に注目すると頻度は低いが高レベルなゲノムコピー数異常（○）を見落とす可能性がある

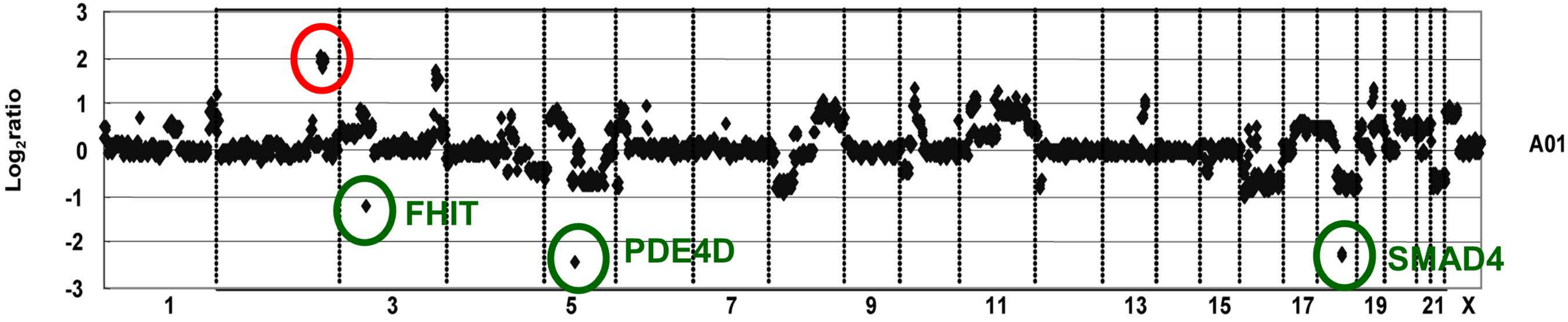
Case 09 (050812)



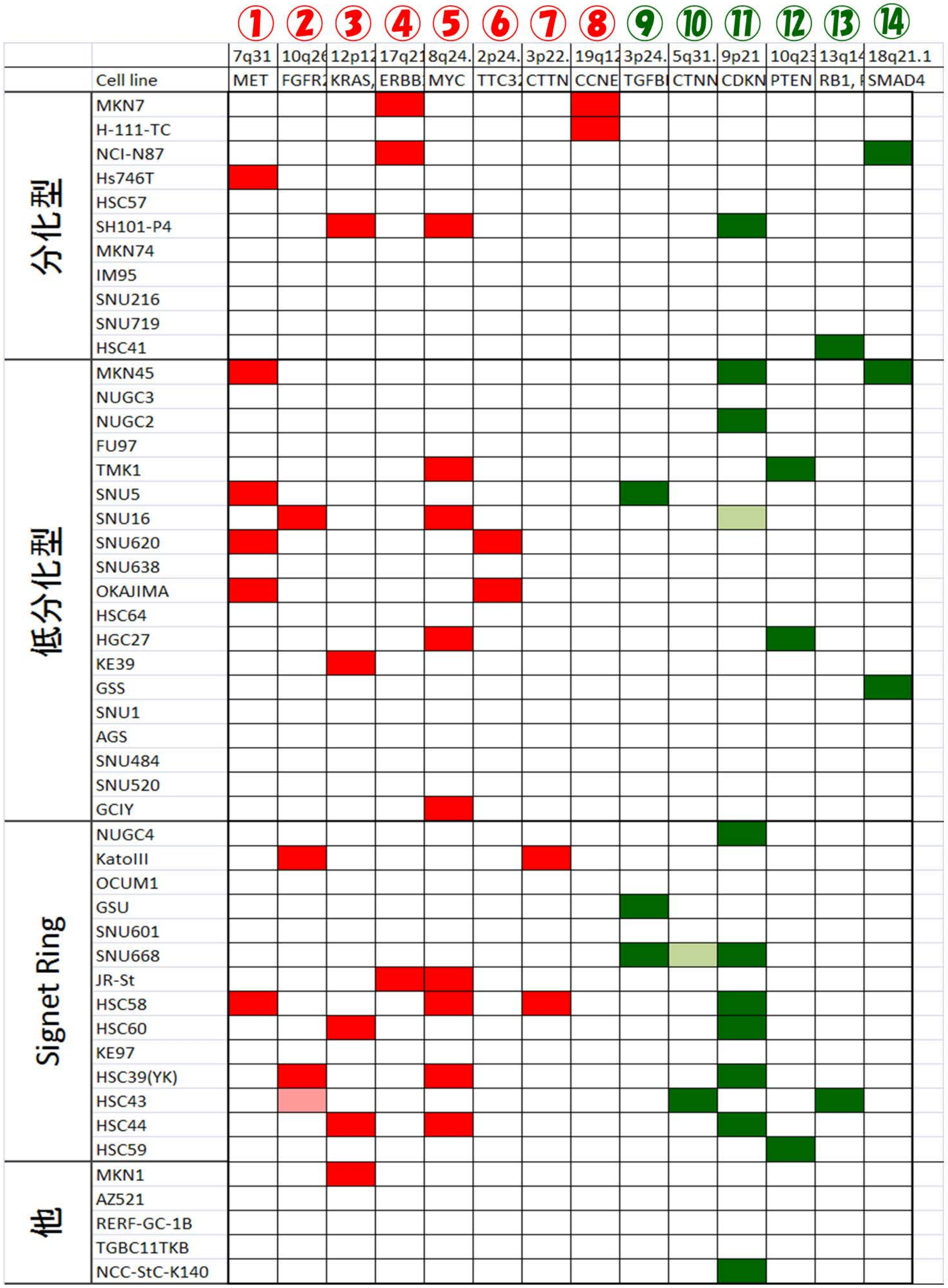
Case 16 (050921)



Case 23 (A015)



遺伝子発現変化を伴う Amplification, Deletion



		①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩	⑪	⑫	⑬	⑭
		7q31	10q2	12p1	17q2	8q24.	2p24.	3p22.	19q1	3p24.	5q31.	9p21	10q2	13q1	18q21.1
	Cell line	MET	FGFR	KRAS,	ERBB	MYC	TTC3	CTTN	CCNE	TGFB	CTNN	CDKN	PTEN	RB1,	SMAD4
分化型	MKN7				🟥				🟥						
	H-111-TC								🟥						
	NCI-N87				🟥										🟩
	Hs746T	🟥													
	HSC57														
	SH101-P4			🟥		🟥						🟩			
	MKN74														
	IM95														
	SNU216														
	SNU719														
	HSC41													🟩	
低分化型	MKN45	🟥										🟩			🟩
	NUGC3														
	NUGC2											🟩			
	FU97														
	TMK1					🟥							🟩		
	SNU5	🟥								🟩					
	SNU16		🟥			🟥						🟩			
	SNU620	🟥					🟥								
	SNU638														
	OKAJIMA	🟥					🟥								
	HSC64														
	HGC27					🟥							🟩		
	KE39			🟥											
	GSS														🟩
	SNU1														
	AGS														
	SNU484														
	SNU520														
	GCIY					🟥									
Signet Ring	NUGC4											🟩			
	KatoIII		🟥					🟥							
	OCUM1														
	GSU									🟩					
	SNU601														
	SNU668									🟩	🟩	🟩			
	JR-St				🟥	🟥									
	HSC58	🟥				🟥		🟥				🟩			
	HSC60			🟥								🟩			
	KE97														
	HSC39(YK)		🟥			🟥						🟩			
	HSC43		🟥								🟩			🟩	
	HSC44			🟥		🟥						🟩			
	HSC59												🟩		
他	MKN1			🟥											
	AZ521														
	RERF-GC-1B														
	TGBC11TKB														
	NCC-StC-K140											🟩			

① MET（6/49）

② FGFR2（4/49）

③ KRAS（5/49）

④ ERBB2（3/49）

⑤ MYC（9/49）

⑥ SDC1（2/49）

⑦ CTNNB1（2/49）

⑧ CCNE1（2/49）

⑨ TGFBR2（3/49）

⑩ CTNNA1（2/49）

⑪ CDKN2A（11/49）

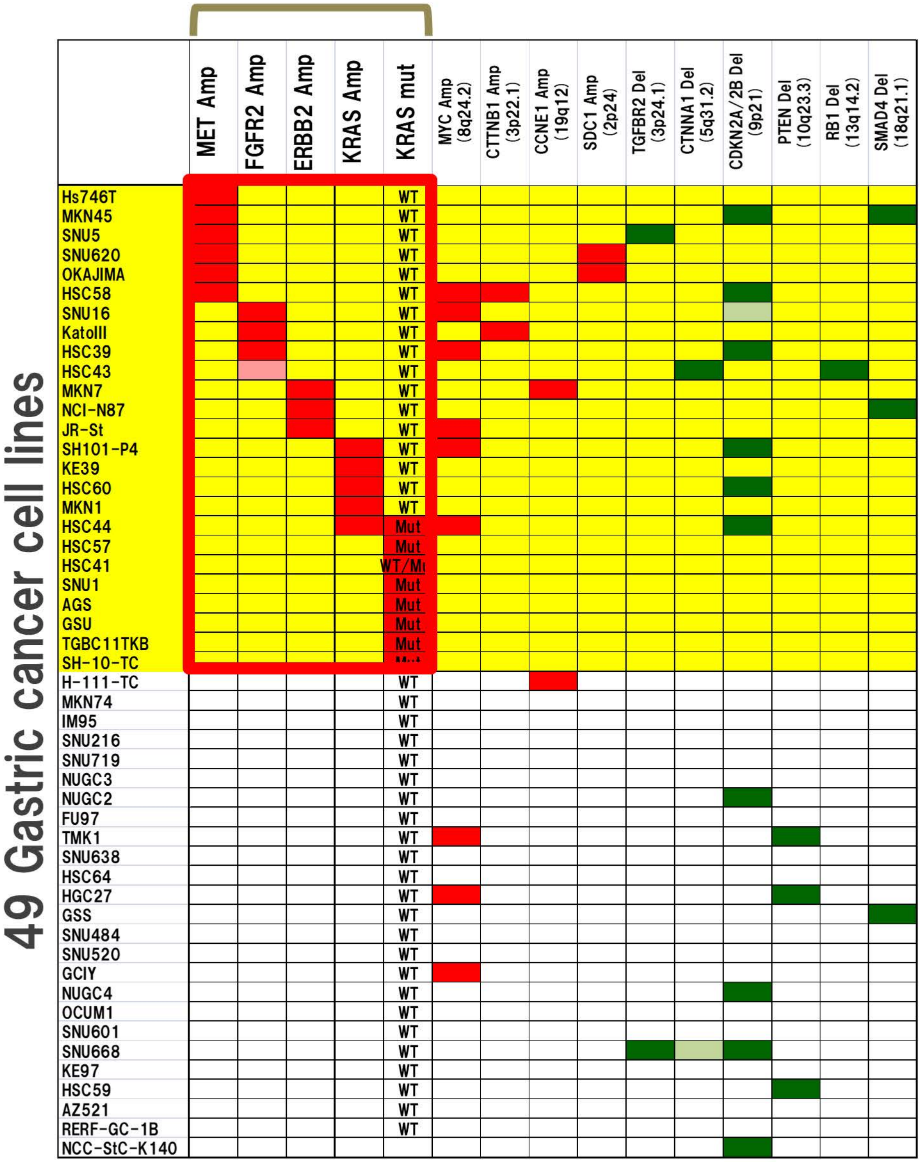
⑫ PTEN（3/49）

⑬ RB1（2/49）

⑭ SMAD4（3/49）

胃癌49細胞株において、遺伝子発現変化するAmplification, Deletion

RTK/KRAS異常でまとめられる！



	MET Amp	FGFR2 Amp	ERBB2 Amp	KRAS Amp	KRAS mut	MYC Amp (8q24.2)	CTTNB1 Amp (3p22.1)	CCNE1 Amp (19q12)	SDC1 Amp (2p24)	TGFBR2 Del (3p24.1)	CTNNA1 Del (5q31.2)	CDKN2A/2B Del (9p21)	PTEN Del (10q23.3)	RB1 Del (13q14.2)	SMAD4 Del (18q21.1)
Hs746T	🟥				WT										
MKN45	🟥				WT							🟩			🟩
SNU5	🟥				WT					🟩					
SNU620	🟥				WT				🟥						
OKAJIMA	🟥				WT				🟥						
HSC58	🟥				WT	🟥	🟥					🟩			
SNU16		🟥			WT	🟥						▨			
KatoIII		🟥			WT		🟥								
HSC39		🟥			WT	🟥						🟩			
HSC43		▨			WT						🟩			🟩	
MKN7			🟥		WT			🟥							
NCI-N87			🟥		WT										🟩
JR-St			🟥		WT	🟥									
SH101-P4				🟥	WT	🟥						🟩			
KE39				🟥	WT										
HSC60				🟥	WT							🟩			
MKN1				🟥	WT										
HSC44				🟥	Mut	🟥						🟩			
HSC57					Mut										
HSC41					WT/M										
SNU1					Mut										
AGS					Mut										
GSU					Mut										
TGBC11TKB					Mut										
SH-10-TC					Mut										
H-111-TC					WT			🟥							
MKN74					WT										
IM95					WT										
SNU216					WT										
SNU719					WT										
NUGC3					WT										
NUGC2					WT							🟩			
FU97					WT										
TMK1					WT	🟥							🟩		
SNU638					WT										
HSC64					WT										
HGC27					WT	🟥							🟩		
GSS					WT										🟩
SNU484					WT										
SNU520					WT										
GCIY					WT	🟥									
NUGC4					WT							🟩			
OCUM1					WT										
SNU601					WT										
SNU668					WT					🟩	▨	🟩			
KE97					WT										
HSC59					WT								🟩		
AZ521					WT										
RERF-GC-1B					WT										
NCC-StC-K140												🟩			

MET, FGFR2, ERBB2, KRASの
異常を重複して持つ細胞株は無い

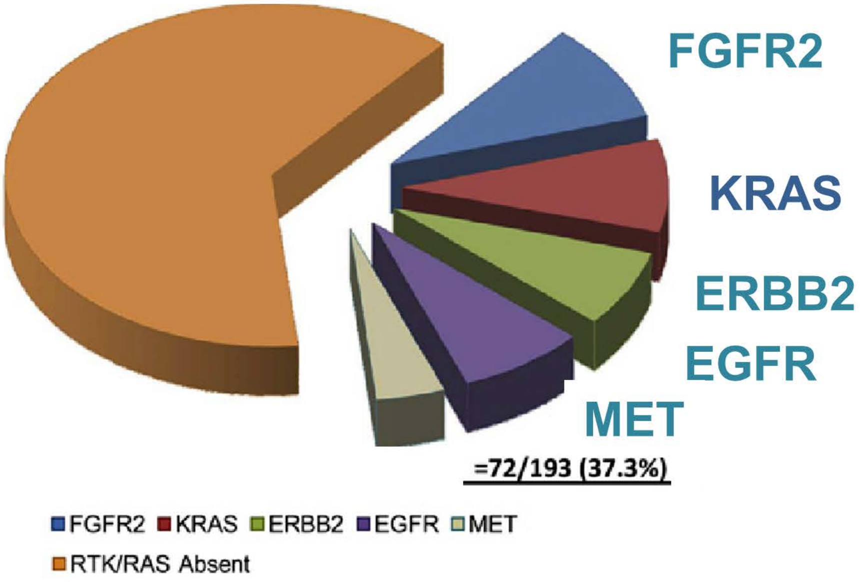
これらの異常は
互いに相互排他的
（Mutually Exclusive）
な関係である

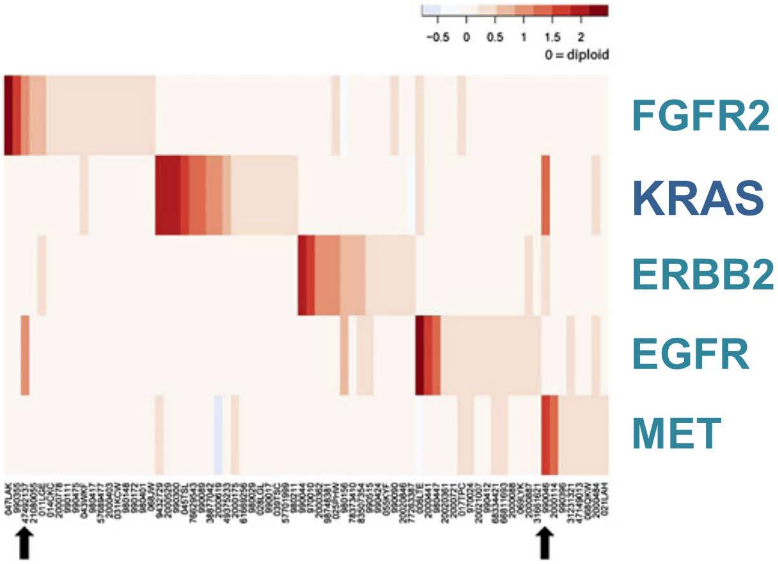
RTK/KRAS異常を持つ細胞株は
共通したシグナル経路に
依存しているかもしれない !?

Hirashita et al., Cancer Sci, 2016

胃癌ではRTK/KRAS異常が高頻度に相互排他的に検出される

Receptor Tyrosine Kinase（RTK）family

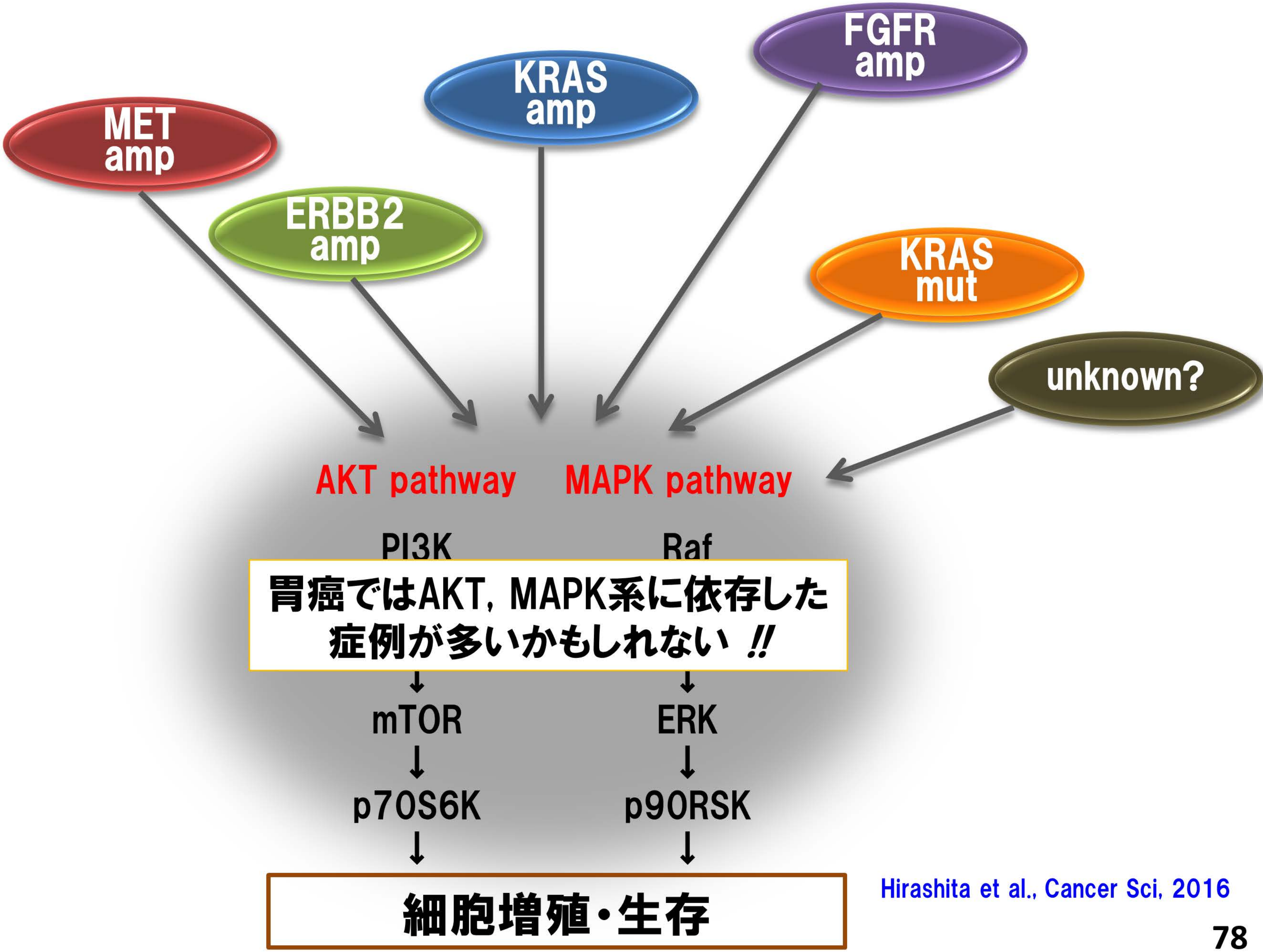




Deng et al, ***GUT*** 2012

珍しく先を越されました

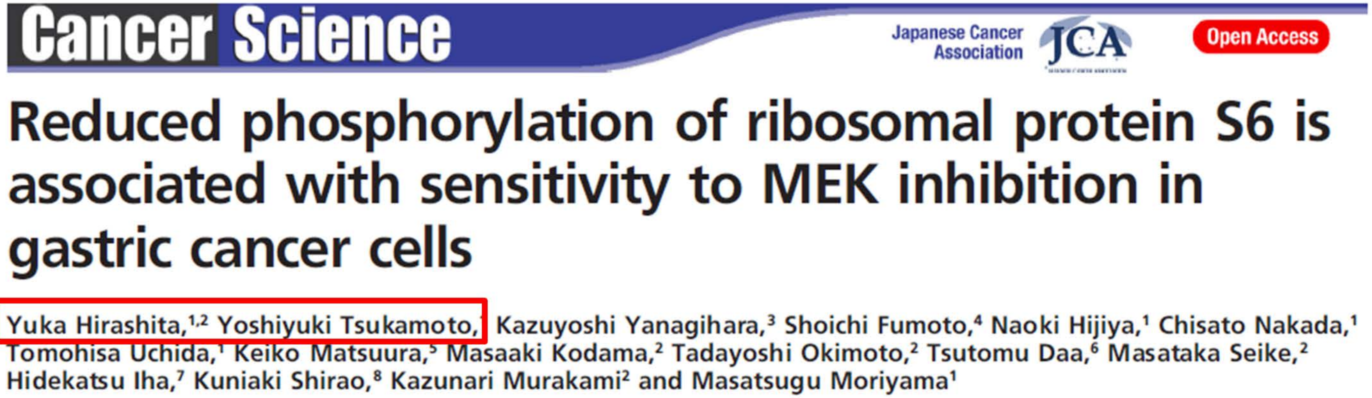
胃癌におけるRTK/KRASパスウェイ



胃癌ではAKT, MAPK系に依存した
症例が多いかもしれない ‼

細胞増殖・生存

Hirashita et al., Cancer Sci, 2016

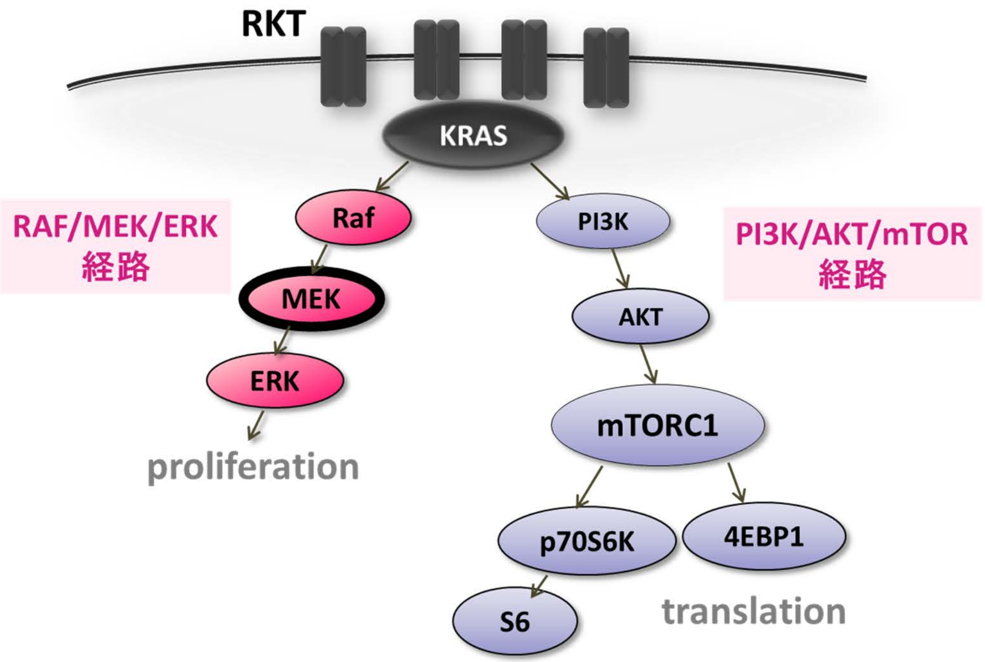


Cancer Science Japanese Cancer Association JCA Open Access

Reduced phosphorylation of ribosomal protein S6 is associated with sensitivity to MEK inhibition in gastric cancer cells

Yuka Hirashita,[1,2] Yoshiyuki Tsukamoto,[1] Kazuyoshi Yanagihara,[3] Shoichi Fumoto,[4] Naoki Hijiya,[1] Chisato Nakada,[1] Tomohisa Uchida,[1] Keiko Matsuura,[5] Masaaki Kodama,[2] Tadayoshi Okimoto,[2] Tsutomu Daa,[6] Masataka Seike,[2] Hidekatsu Iha,[7] Kuniaki Shirao,[8] Kazunari Murakami[2] and Masatsugu Moriyama[1]

胃癌においてMEK阻害は有効か？

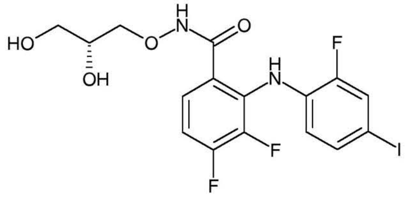


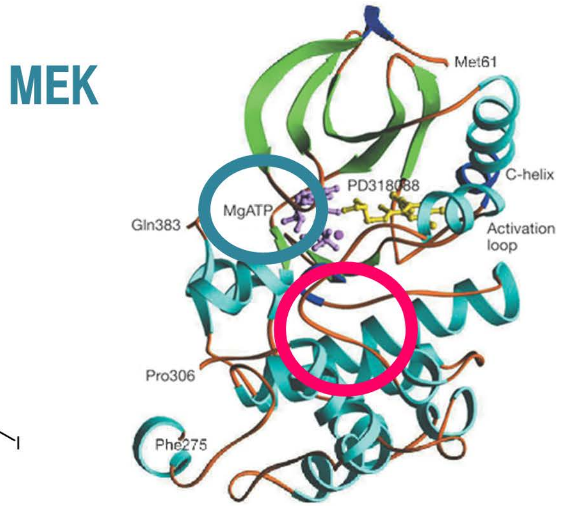
Cancer Science, 107:1919-28, 2016 IF: 6.716

MEK阻害剤への感受性評価方法

MEK阻害剤；PD0325901

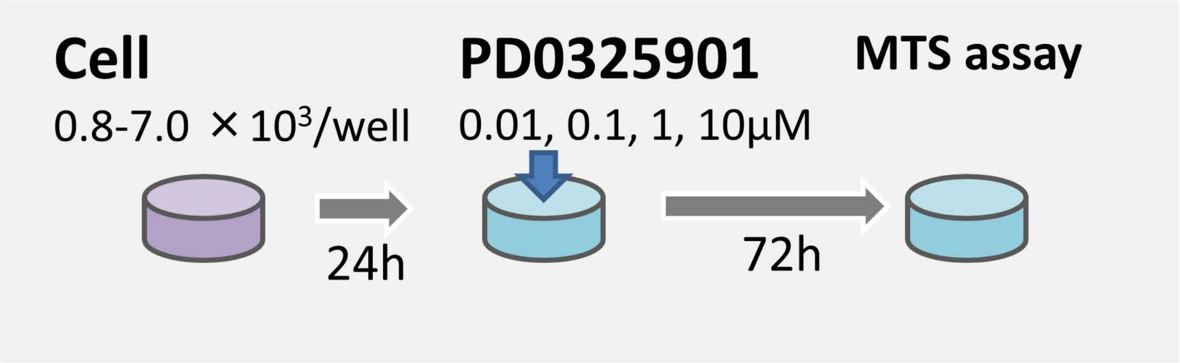
アロステリックサイトに結合する
ATP非競合的な阻害剤（アロステリック阻害薬）





Nature Reviews Cancer 4, 937-947, 2004

阻害剤の効果判定；MTS assayによるIC50



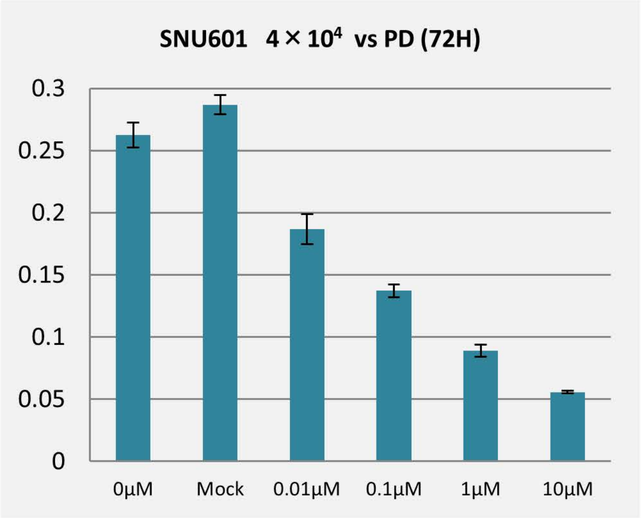
Cell
0.8-7.0 ×10^3/well

24h

PD0325901
0.01, 0.1, 1, 10μM

72h

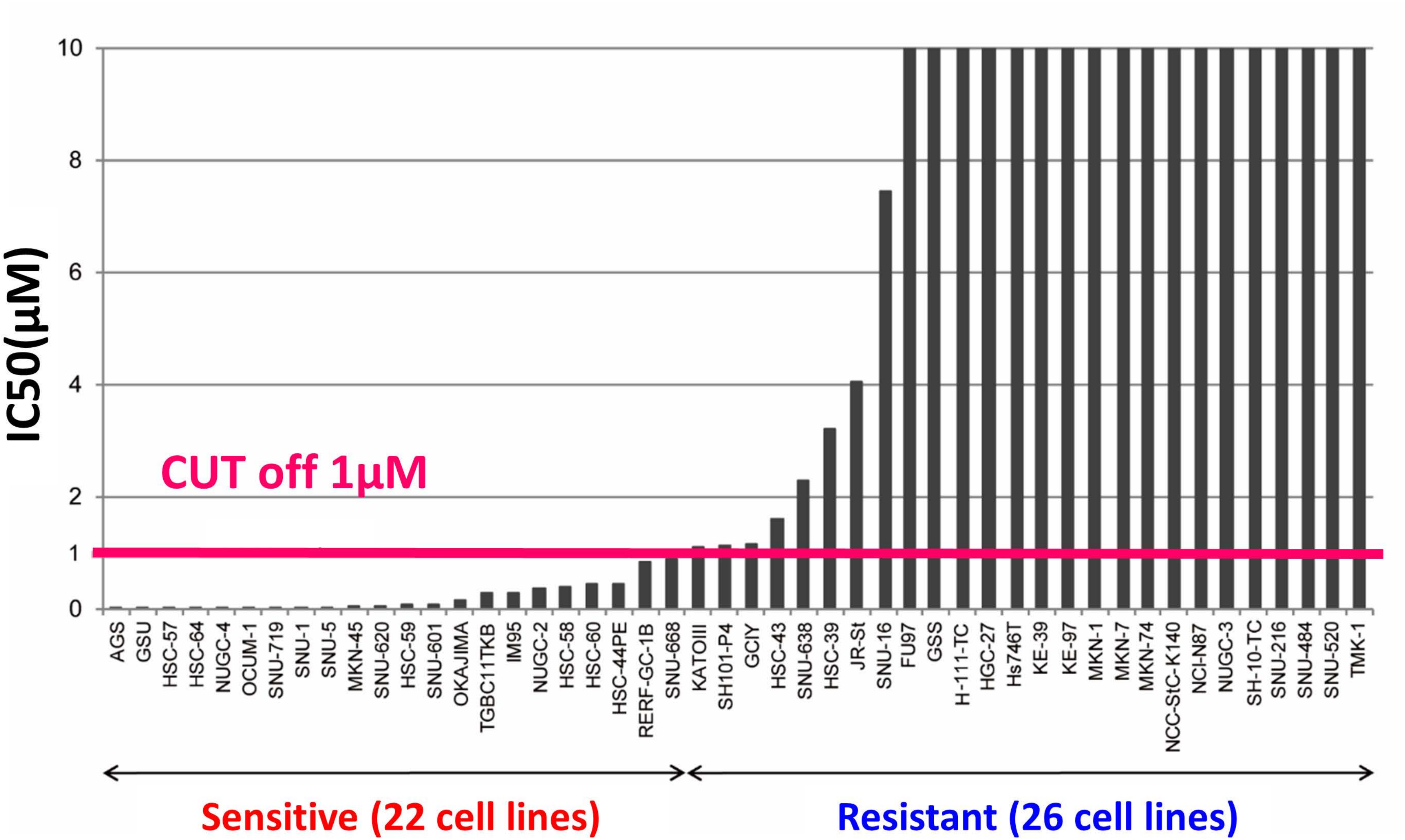
MTS assay



SNU601 4×10^4 vs PD (72H)

Hirashita et al., Cancer Sci, 2016

胃癌細胞株48株中22株でMEK阻害剤に高感受性を示した



MEK阻害薬は胃癌の一部で有効である可能性がある

Hirashita et al., Cancer Sci, 2016

① 胃癌のゲノムプロファイルの作成とその病理学的意義

4報　　平均IF: 6.349

1. **Tsukamoto Y,** Uchida T, Karnan S, Noguchi T, Nguyen L T, Tanigawa M, Takeuchi I, Matsuura K, Hijiya N, Nakada C, Kishida T, Kawahara K, Ito H, Murakami K, Fujioka T, Seto M, and Moriyama M. Genome-wide analysis of DNA copy number alterations and gene expression in gastric cancer.

   ***J Pathol*, 216: 471-82, 2008.　IF: 7.996**

   アレイCGH法により胃癌組織を用いてゲノムプロファイルを作成して、トランスクリプトームデータと付け合わせることで、97%の症例で20q13領域のゲノム増幅を検出することと、ゲノム増幅領域には発現上昇している遺伝子が119存在することを発見した。これらの中に癌の発症と進行に関わるものが存在するものと考えられた。

2. Uchida M, Tsukamoto Y, Uchida T, Ishikawa Y, Nagai T, Hijiya N, Nguyen L T, Nakada C, Kuroda A, Okimoto T, Kodama M, Murakami K, Noguchi T, Matsuura K, Tanigawa M, Seto M, Ito H, Fujioka T, Takeuchi I, and Moriyama M.Genomic profiling of gastric carcinoma in situ and adenomas by array-based comparative genomic hybridization.

   ***J Pathol*, 221: 96-105, 2010.　IF: 7.996**

   胃癌の最も初期の病変である粘膜内癌(CIS; Carcinoma in situ)のゲノムプロファイルを作成し、既報であった進行胃癌のゲノムプロファイルと比較解析することで、胃癌の発生と進行に関わるゲノム異常のスクリーニングを行った。20qのゲノム増幅がもっとも有意に胃癌の進行と相関することを発見した。さらに、胃腺腫の低異型度と高異型度のゲノムプロファイルを比較解析し、高異型度胃腺腫において8qと7pqのゲノム増幅が高頻度であることを発見した。これらのゲノム異常が胃腺腫からの胃癌発生に関与することが考えられた。

3. Kuroda A, Tsukamoto Y, Nguyen L T, Noguchi T, Takeuchi I, Uchida M, Uchida T, Hijiya N, Nakada C, Okimoto T, Kodama M, Murakami K, Matsuura K, Seto M, Ito H, Fujioka T, and Moriyama M.Genomic profiling of submucosal-invasive gastric cancer by array-based comparative genomic hybridization.

   ***PLoS One*, 6: e22313, 2011.　IF: 3.240**

   胃癌の粘膜下浸潤に関わるゲノム異常を同定するために、粘膜下浸潤胃癌の粘膜内部分と粘膜下部分の癌細胞を別々に組織切片上で切り取って回収し、ゲノムプロファイルを比較した。予想に反して、粘膜下部分でゲノム異常が増加する傾向は認められず、特徴的なゲノム異常は見つからなかった。その理由を知るため、より詳細に組織切片を切り分け、同一症例の切片上で様々な部位のゲノム異常を比較したところ、粘膜内部分のゲノム異常は多様であり、一部粘膜下部分と共通するが、共通していない部分も存在することを発見した。この結果から、胃癌は粘膜内で様々なクローンが発生し、その一部が粘膜下へ浸潤することが示唆された。

4. Tsukamoto Y, Fumoto S, Noguchi T, Yanagihara K, Hirashita Y, Nakada C, Hijiya N, Uchida T, Matsuura K, Hamanaka R, Murakami K, Seto M, Inomata M, and Moriyama M.Expression of DDX27 contributes to colony-forming ability of gastric cancer cells and correlates with poor prognosis in gastric cancer.

   ***Am J Cancer Res* 5, 2998-3014,2015.　IF: 6.166**

   胃癌の進行に関わるゲノム異常として20q13の増幅を報告していたが、その領域で最もゲノム増幅と相関して発現が亢進する遺伝子としてDDX27を同定した。胃癌140症例の組織染色解析より、DDX27の過剰発現は胃癌の独立予後因子であることが示された。また、DDX27を過剰発現する胃癌細胞において、DDX27発現を抑制すると、In vitroにおけるコロニー形成能、マウス個体における腫瘍形成能が著しく低下することがわかった。これらの結果から、DDX27は胃癌の治療標的として有望であることが示唆された。

18年間の業績の評価と総括

1. 腎癌

① 悪性化に関わる遺伝子異常	松浦、中田、三股、吉本、井上、成松、高橋、甲斐、（守山）
② 異常発現するmicroRNA	中田、塚本

2. 胃癌

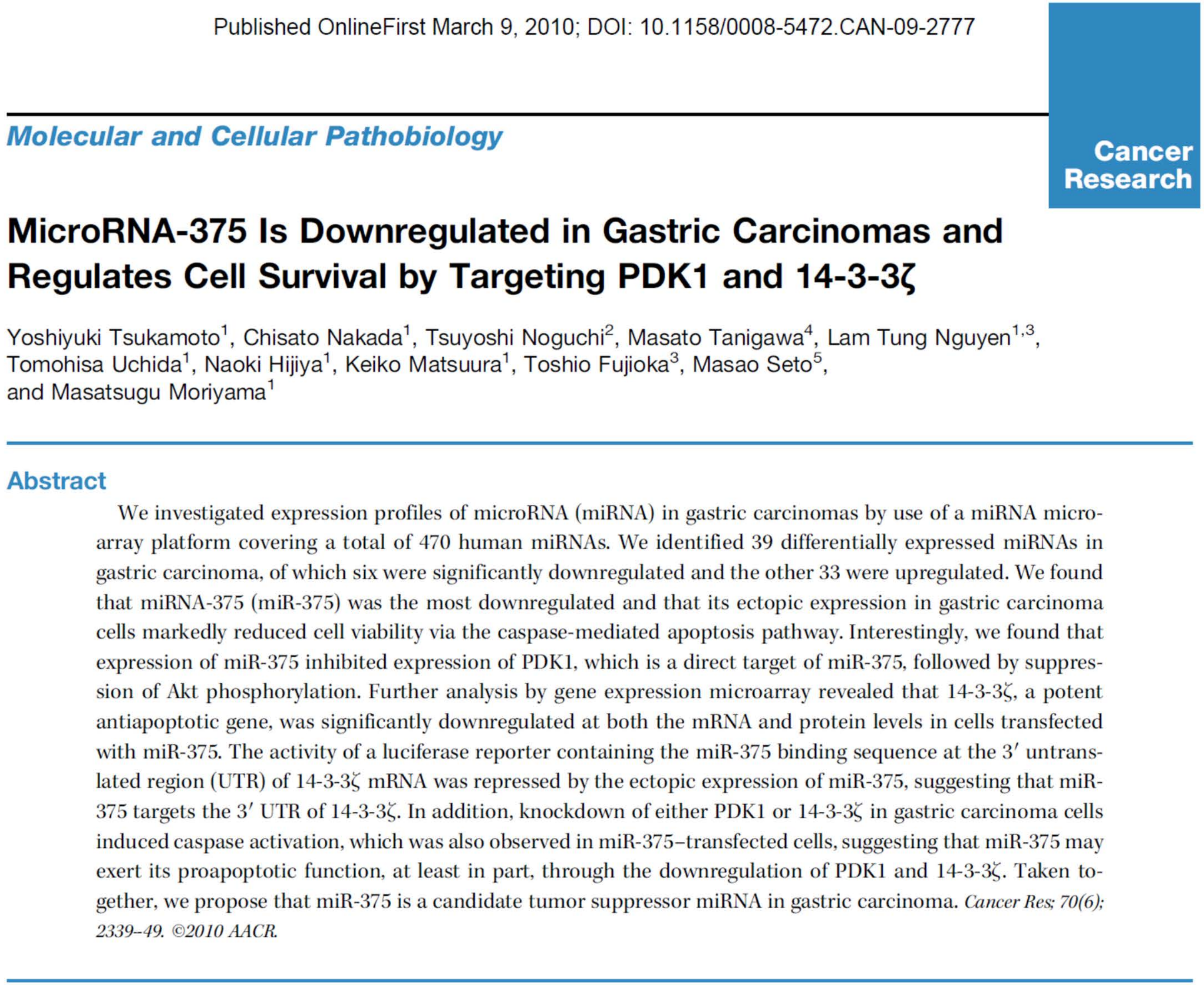
① 胃癌のゲノムプロファイルの作成とその病理学的意義	塚本、野口(剛)、村上、内田(政)、黒田、平下
② 胃癌に対する分子標的治療	塚本、平下
③ 胃癌で異常発現するmicroRNA	塚本、中田
④ ピロリ菌感染と胃癌発症の関連性	内田、山岡、藤岡、村上、Tung、金田、

3. 膵癌

① 上皮内癌が浸潤癌に進行するメカニズムの解明	泥谷、黒木、一万田、Ratsada、木下
② 膵癌の進行メカニズムに基づく治療戦略の提案	泥谷、天田

4. ポスト癌ゲノム時代の新しい個別化癌化学療法の開発

① 患者癌組織（癌オルガノイド）を用いた個別化癌化学療法	塚本、泥谷、麓、柴田、平下、黒木、木下、渕野



Molecular and Cellular Pathobiology

Cancer Research

MicroRNA-375 Is Downregulated in Gastric Carcinomas and Regulates Cell Survival by Targeting PDK1 and 14-3-3ζ

Yoshiyuki Tsukamoto[1], Chisato Nakada[1], Tsuyoshi Noguchi[2], Masato Tanigawa[4], Lam Tung Nguyen[1,3], Tomohisa Uchida[1], Naoki Hijiya[1], Keiko Matsuura[1], Toshio Fujioka[3], Masao Seto[5], and Masatsugu Moriyama[1]

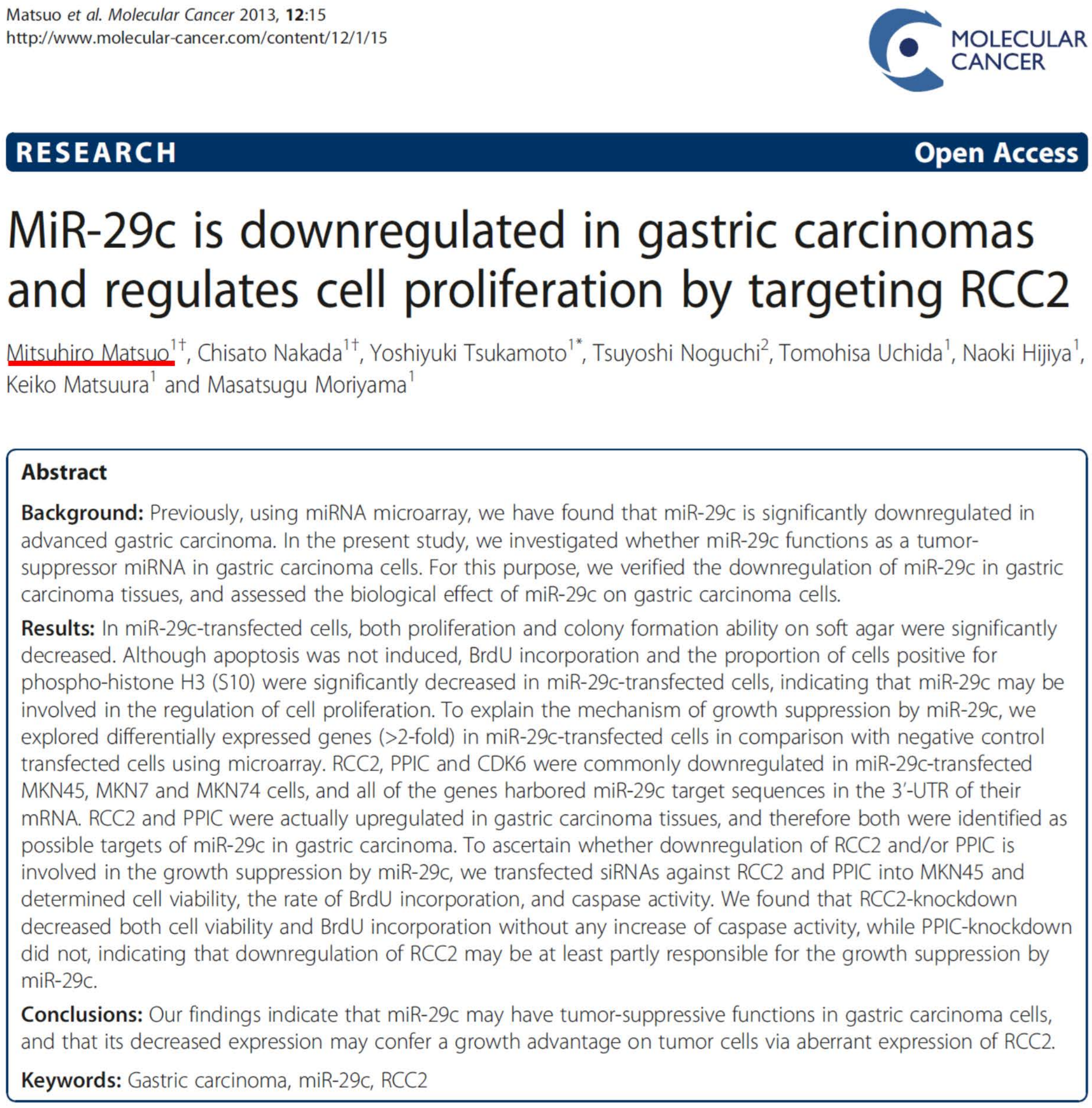
Abstract

We investigated expression profiles of microRNA (miRNA) in gastric carcinomas by use of a miRNA microarray platform covering a total of 470 human miRNAs. We identified 39 differentially expressed miRNAs in gastric carcinoma, of which six were significantly downregulated and the other 33 were upregulated. We found that miRNA-375 (miR-375) was the most downregulated and that its ectopic expression in gastric carcinoma cells markedly reduced cell viability via the caspase-mediated apoptosis pathway. Interestingly, we found that expression of miR-375 inhibited expression of PDK1, which is a direct target of miR-375, followed by suppression of Akt phosphorylation. Further analysis by gene expression microarray revealed that 14-3-3ζ, a potent antiapoptotic gene, was significantly downregulated at both the mRNA and protein levels in cells transfected with miR-375. The activity of a luciferase reporter containing the miR-375 binding sequence at the 3′ untranslated region (UTR) of 14-3-3ζ mRNA was repressed by the ectopic expression of miR-375, suggesting that miR-375 targets the 3′ UTR of 14-3-3ζ. In addition, knockdown of either PDK1 or 14-3-3ζ in gastric carcinoma cells induced caspase activation, which was also observed in miR-375–transfected cells, suggesting that miR-375 may exert its proapoptotic function, at least in part, through the downregulation of PDK1 and 14-3-3ζ. Taken together, we propose that miR-375 is a candidate tumor suppressor miRNA in gastric carcinoma. *Cancer Res; 70(6); 2339–49. ©2010 AACR.*

miR-375は我々が最初に報告した胃癌の癌抑制microRNA（2021年11月まで**474回引用**）

miR-375はPDK1と14-3-3ζを標的としており、miR-375発現低下がPDK1と14-3-3ζ発現亢進させ、癌細胞のアポトーシス抑制をもたらしていることを報告した。

Tsukamoto and Nakada et al., Cancer Res, 70: 2339-49, 2010. IF: 12.701



Matsuo *et al. Molecular Cancer* 2013, **12**:15
http://www.molecular-cancer.com/content/12/1/15

MOLECULAR CANCER

RESEARCH **Open Access**

MiR-29c is downregulated in gastric carcinomas and regulates cell proliferation by targeting RCC2

Mitsuhiro Matsuo[1†], Chisato Nakada[1†], Yoshiyuki Tsukamoto[1*], Tsuyoshi Noguchi[2], Tomohisa Uchida[1], Naoki Hijiya[1], Keiko Matsuura[1] and Masatsugu Moriyama[1]

Abstract

Background: Previously, using miRNA microarray, we have found that miR-29c is significantly downregulated in advanced gastric carcinoma. In the present study, we investigated whether miR-29c functions as a tumor-suppressor miRNA in gastric carcinoma cells. For this purpose, we verified the downregulation of miR-29c in gastric carcinoma tissues, and assessed the biological effect of miR-29c on gastric carcinoma cells.

Results: In miR-29c-transfected cells, both proliferation and colony formation ability on soft agar were significantly decreased. Although apoptosis was not induced, BrdU incorporation and the proportion of cells positive for phospho-histone H3 (S10) were significantly decreased in miR-29c-transfected cells, indicating that miR-29c may be involved in the regulation of cell proliferation. To explain the mechanism of growth suppression by miR-29c, we explored differentially expressed genes (>2-fold) in miR-29c-transfected cells in comparison with negative control transfected cells using microarray. RCC2, PPIC and CDK6 were commonly downregulated in miR-29c-transfected MKN45, MKN7 and MKN74 cells, and all of the genes harbored miR-29c target sequences in the 3′-UTR of their mRNA. RCC2 and PPIC were actually upregulated in gastric carcinoma tissues, and therefore both were identified as possible targets of miR-29c in gastric carcinoma. To ascertain whether downregulation of RCC2 and/or PPIC is involved in the growth suppression by miR-29c, we transfected siRNAs against RCC2 and PPIC into MKN45 and determined cell viability, the rate of BrdU incorporation, and caspase activity. We found that RCC2-knockdown decreased both cell viability and BrdU incorporation without any increase of caspase activity, while PPIC-knockdown did not, indicating that downregulation of RCC2 may be at least partly responsible for the growth suppression by miR-29c.

Conclusions: Our findings indicate that miR-29c may have tumor-suppressive functions in gastric carcinoma cells, and that its decreased expression may confer a growth advantage on tumor cells via aberrant expression of RCC2.

Keywords: Gastric carcinoma, miR-29c, RCC2

胃癌の癌抑制microRNA miR-29cは胃癌において発現低下し、分子標的RCC2の発現を高めることで細胞増殖を亢進させ、胃癌の増殖に貢献している。

Matsuo, Nakada, Tsukamoto et al.,　Molecular Cancer, 12:15, 2013　IF 27.5

腎癌と胃癌におけるmicroRNA発現異常とその意義

5報　　平均IF：12.818

1. **Tsukamoto Y, Nakada C,** Noguchi T, Tanigawa M, Nguyen L T, Uchida T, Hijiya N, Matsuura K, Fujioka T, Seto M, and Moriyama M. MicroRNA-375 is downregulated in gastric carcinomas and regulates cell survival by targeting PDK1 and 14-3-3zeta.

   ***Cancer Res*, 70: 2339-49, 2010.　　IF: 12.701**

胃癌組織22症例を用いてマイクロアレイ解析を実施したところ、ほぼ全ての胃癌においてmiR-375の発現が低下していることがわかった。胃癌のもっとも初期である粘膜内癌においてもすでに発現が低下していたことから、miR-375は胃癌の発生に関わることが示唆された。胃癌細胞株への導入実験より、miR-375がPDK1と14-3-3ζを抑制することでPI3K/AKT経路の活性を抑え、アポトーシスを誘導するがん抑制的な機能を持つことを発見した。世界でもっとも早くmiR-375の癌との関連を示した論文であり、2021年11月までに474回引用されている。

2. Matsuo M, **Nakada C, Tsukamoto Y,** Noguchi T, Uchida T, Hijiya N, Matsuura K, and Moriyama M. MiR-29c is downregulated in gastric carcinomas and regulates cell proliferation by targeting RCC2.

   ***Mol Cancer*, 12: 15, 2013.　　IF: 27.401**

miR-29cは、進行胃がんで発現低下している。これを細胞に導入すると、RCC2の発現低下を介して細胞増殖を抑制したことから、miR-29cはがん抑制性microRNAであることが分かった。また、miR-29cによる細胞増殖の抑制は細胞周期を抑制したことによるものであり、アポトーシス誘導によるものではなかった。

3. **Nakada C**, Matsuura K, Tsukamoto Y, Tanigawa M, Yoshimoto T, Narimatsu T, Nguyen L T, Hijiya N, Uchida T, Sato F, Mimata H, Seto M, and Moriyama M.Genome-wide microRNA expression profiling in renal cell carcinoma: significant down-regulation of miR-141 and miR-200c.

   ***J Pathol.*, 216: 418-27, 2008.　　IF: 7.996**

腎癌におけるmicroRNA発現について網羅的に解析し、そのプロファイルを世界で初めて報告した。特に腎淡明細胞癌ではmiR-210、miR-155が過剰発現し、miR-200c、miR-141が発現低下していることを発見した。

4. **Nakada C,** Tsukamoto Y, Matsuura K, Nguyen T L, Hijiya N, Uchida T, Sato F, Mimata H, Seto M, and Moriyama M. Overexpression of miR-210, a downstream target of HIF1alpha, causes centrosome amplification in renal carcinoma cells.

   ***J Pathol.*, 224: 280-8, 2011.　　IF: 7.996**

腎淡明細胞癌でのmiR-210異常発現は、VHLの不活化によるHIF1αの蓄積によることを確認し、それが細胞分裂時に染色体の分配異常を引き起こし、染色体のコピー数異常をもたらす可能性を示した。この結果は、腎がんのゲノム異常が遺伝子変異よりも染色体数異常が特徴的であることを説明できるかもしれない。

5. Nakada C, Hijiya N, Tsukamoto Y, Yano S, Kai T, Uchida T, Kimoto M, Takahashi M, Daa T, Matsuura K, Shin T, Mimata H, and Moriyama M.A transgenic mouse expressing miR-210 in proximal tubule cells shows mitochondrial alteration: possible association of miR-210 with a shift in energy metabolism.

   ***J Pathol*, 251: 12-25, 2020.　　IF: 7.996**

近位尿細管特異的にmiR-210を発現するTgマウスを作製し、in vivoでの機能解析を行った。miR-210発現により、ATP産生の場であるミトコンドリア内膜が消失してしまうこと、また解糖系を活性化することから、miR-210がエネルギー代謝制御に関与することが示唆された。解糖系へのシフトはがん細胞にgrowth advantage、survival advantageをもたらすため、miR-210は腎がん発生のごく初期にそのクローンの成立に一役かっていると推測される。

18年間の業績の評価と総括

1. 腎癌

① 悪性化に関わる遺伝子異常　松浦、中田、三股、吉本、井上、成松、高橋、甲斐、（守山）

② 異常発現するmicroRNA　中田、塚本

2. 胃癌

① 胃癌のゲノムプロファイルの作成とその病理学的意義　塚本、野口(剛)、村上、内田(政)、黒田、平下

② 胃癌に対する分子標的治療　塚本、平下

③ 胃癌で異常発現するmicroRNA　塚本、中田

④ ピロリ菌感染と胃癌発症の関連性　内田、山岡、藤岡、村上、Tung、金田、

3. 膵癌

① 上皮内癌が浸潤癌に進行するメカニズムの解明　泥谷、黒木、一万田、Ratsada、木下

② 膵癌の進行メカニズムに基づく治療戦略の提案　泥谷、天田

4. ポスト癌ゲノム時代の新しい個別化癌化学療法の開発

① 患者癌組織（癌オルガノイド）を用いた個別化癌化学療法

塚本、泥谷、麓、柴田、平下、黒木、木下、渕野

② ピロリ菌感染と胃癌発症の関連性

1. **Uchida T**, Kanada R, Tsukamoto Y, Hijiya N, Matsuura K, Yano S, Yokoyama S, Kishida T, Kodama M, Murakami K, Fujioka T, and Moriyama M. Immunohistochemical diagnosis of the cagA-gene genotype of Helicobacter pylori with anti-East Asian CagA-specific antibody.
   ***Cancer Sci*, 98: 521-8, 2007.**
   強毒型ピロリ菌の毒素蛋白質CagAに特異的な抗体を作成してピロリ菌の遺伝型を免疫組織科学的に診断できる方法を開発した
2. Kanada R, **Uchida T**, Tsukamoto Y, Nguyen L T, Hijiya N, Matsuura K, Kodama M, Okimoto T, Murakami K, Fujioka T, Yanagisawa S, and Moriyama M. Genotyping of the cagA gene of Helicobacter pylori on immunohistochemistry with East Asian CagA-specific antibody.
   ***Pathol Int*, 58: 218-25, 2008.**
   我々の開発した強毒型CagAに対するポリクローナル抗体を用いて多くの胃癌症例におけるピロリ菌遺伝子型を診断した

3. **Uchida T**, **Nguyen L T**, Takayama A, Okimoto T, Kodama M, Murakami K, Matsuhisa T, Trinh T D, Ta L, Ho D Q, Hoang H H, Kishida T, Fujioka T, Moriyama M, and Yamaoka Y.Analysis of virulence factors of Helicobacter pylori isolated from a Vietnamese population.
   ***BMC Microbiol* 9, 175, 2009.**

4. Yasuda A, **Uchida T, Nguyen L T**, Kawazato H, Tanigawa M, Murakami K, Kishida T, Fujioka T, and Moriyama M. A novel diagnostic monoclonal antibody specific for Helicobacter pylori CagA of East Asian type.
   ***APMIS* 117, 893-9,2009.**
   東アジア型CagA特異的モノクローナル抗体を作成した

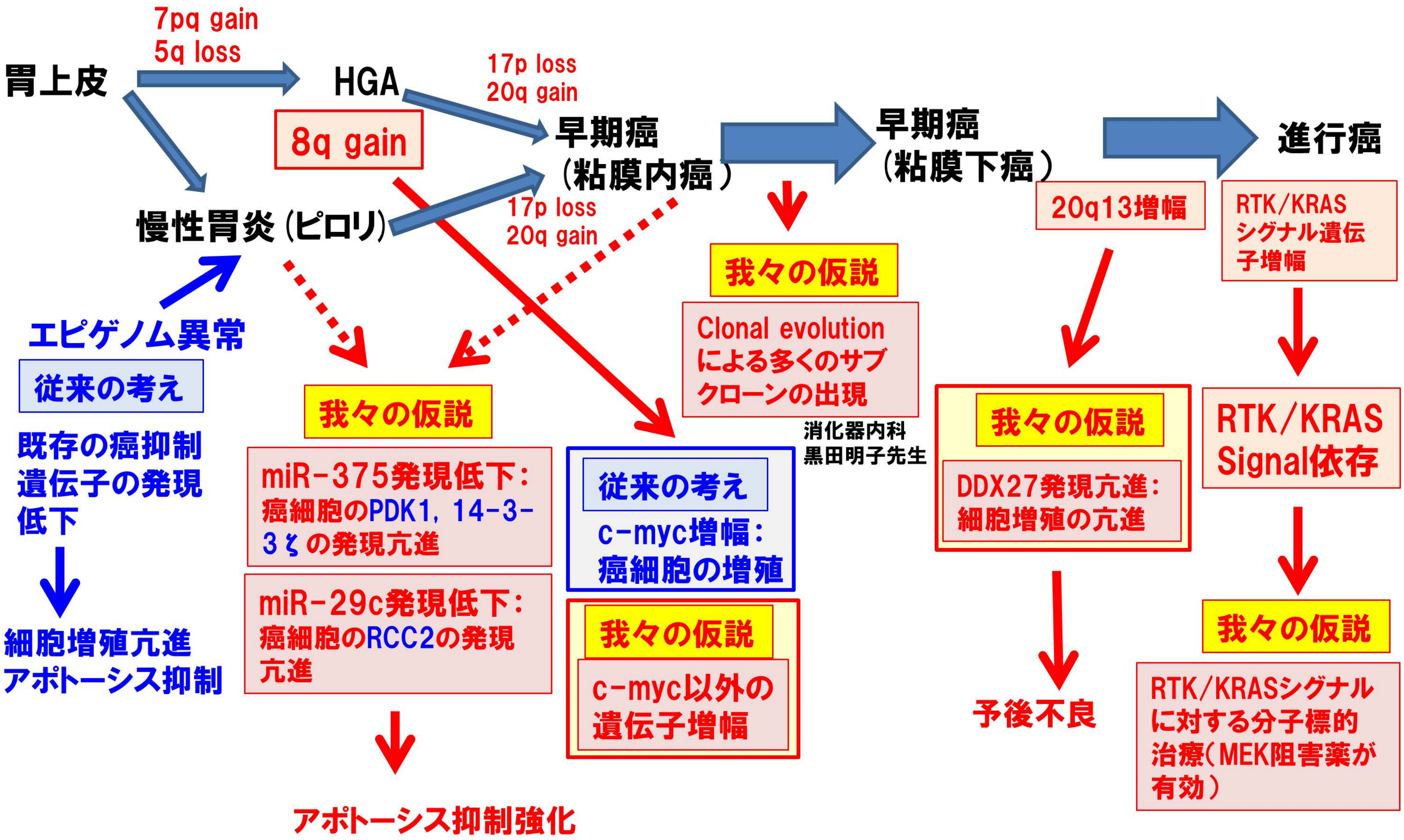
5. Seo T H, Lee S Y, Uchida T, Fujioka T, Jin C J, Hwang T S, and Han H S. The
   gastric biopsy specimens: A prospective study.
   ***Dig Liver Dis* 43, 23-7,2011.**

6. Uchida T, Miftahussurur M, Pittayanon R, Vilaichone R K, Wisedopas N, Ratana
   Mahachai V. Helicobacter pylori Infection in Thailand: A Nationwide Study
   ***PLoS One* 10, e0136775,2015.**

② ピロリ菌感染と胃癌発症の関連性

7. **Nguyen L T, Uchida T**, Murakami K, Fujioka T, and Moriyama M. Helicobacter pylori virulence and the diversity of gastric cancer in Asia.
   ***J Med Microbiol,* 57: 1445-53, 2008.**
8. **Nguyen L T, Uchida T,** Kuroda A, Tsukamoto Y, Trinh T D, Ta L, Mai H B, Ho D Q, Hoang H H, Vilaichone R K, Mahachai V, Matsuhisa T, Kudo Y, Okimoto T, Kodama M, Murakami K, Fujioka T, Yamaoka Y, and Moriyama M.Evaluation of the anti-East Asian CagA-specific antibody for CagA phenotyping.
   ***Clin Vaccine Immunol*., 16: 1687-92, 2009.**
9. **Nguyen L T, Uchida T,** Tsukamoto Y, Kuroda A, Okimoto T, Kodama M, Murakami K, Fujioka T, and Moriyama M. Helicobacter pylori dupA gene is not associated with clinical outcomes in the Japanese population.
   ***Clin Microbiol Infect* 16: 1264-9, 2010.**
10. **Nguyen L T, Uchida T,** Tsukamoto Y, Trinh T D, Ta L, Ho D Q, Matsuhisa T, Uchida M, Takayama A, Hijiya N, Okimoto T, Kodama M, Murakami K, Fujioka T, and Moriyama M. Evaluation of rapid urine test for the detection of Helicobacter pylori infection in the Vietnamese population.
    ***Dig Dis Sci* 55, 89-93,2010.**
11. **Nguyen L T, Uchida T,** Tsukamoto Y, Trinh T D, Ta L, Mai H B, Le H S, Ho D Q, Hoang H H, Matsuhisa T, Okimoto T, Kodama M, Murakami K, Fujioka T, Yamaoka Y, and Moriyama M. Clinical relevance of cagPAI intactness in Helicobacter pylori isolates from Vietnam. ***Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 29, 651-60,2010.**
12. **Nguyen T L, Uchida T,** Tsukamoto Y, Trinh D T, Ta L, Mai B H, Le S H, Thai K D, Ho D D, Hoang H H, Matsuhisa T, Okimoto T, Kodama M, Murakami K, Fujioka T, Yamaoka Y, and Moriyama M. Helicobacter pylori infection and gastroduodenal diseases in Vietnam: a cross-sectional, hospital-based study.
    ***BMC Gastroenterol* 10, 114,2010.**

胃癌プロジェクト(まとめ)： 胃癌の発症と進行のメカニズム



胃上皮

7pq gain
5q loss

HGA

8q gain

17p loss
20q gain

慢性胃炎(ピロリ)

17p loss
20q gain

早期癌
(粘膜内癌)

早期癌
(粘膜下癌)

進行癌

エピゲノム異常

従来の考え

既存の癌抑制遺伝子の発現低下

細胞増殖亢進
アポトーシス抑制

我々の仮説

miR-375発現低下：
癌細胞のPDK1, 14-3-3ζの発現亢進

miR-29c発現低下：
癌細胞のRCC2の発現亢進

アポトーシス抑制強化

従来の考え

c-myc増幅：
癌細胞の増殖

我々の仮説

c-myc以外の遺伝子増幅

我々の仮説

Clonal evolutionによる多くのサブクローンの出現

消化器内科
黒田明子先生

20q13増幅

我々の仮説

DDX27発現亢進：
細胞増殖の亢進

予後不良

RTK/KRASシグナル遺伝子増幅

RTK/KRAS Signal依存

我々の仮説

RTK/KRASシグナルに対する分子標的治療(MEK阻害薬が有効)

HGA: high grade adenoma (Vienna classification)

18年間の業績の評価と総括

1. 腎癌

① 悪性化に関わる遺伝子異常　松浦、中田、三股、吉本、井上、成松、高橋、甲斐、（守山）
② 異常発現するmicroRNA　中田、塚本

2. 胃癌

① 胃癌のゲノムプロファイルの作成とその病理学的意義　塚本、野口(剛)、村上、内田(政)、黒田、平下
② 胃癌に対する分子標的治療　塚本、平下
③ 胃癌で異常発現するmicroRNA　塚本、中田
④ ピロリ菌感染と胃癌発症の関連性　内田、山岡、藤岡、村上、Tung、金田、

3. 膵癌

① 上皮内癌が浸潤癌に進行するメカニズムの解明　泥谷、黒木、一万田、Ratsada、木下
② 膵癌の進行メカニズムに基づく治療戦略の提案　泥谷、天田

4. ポスト癌ゲノム時代の新しい個別化癌化学療法の開発

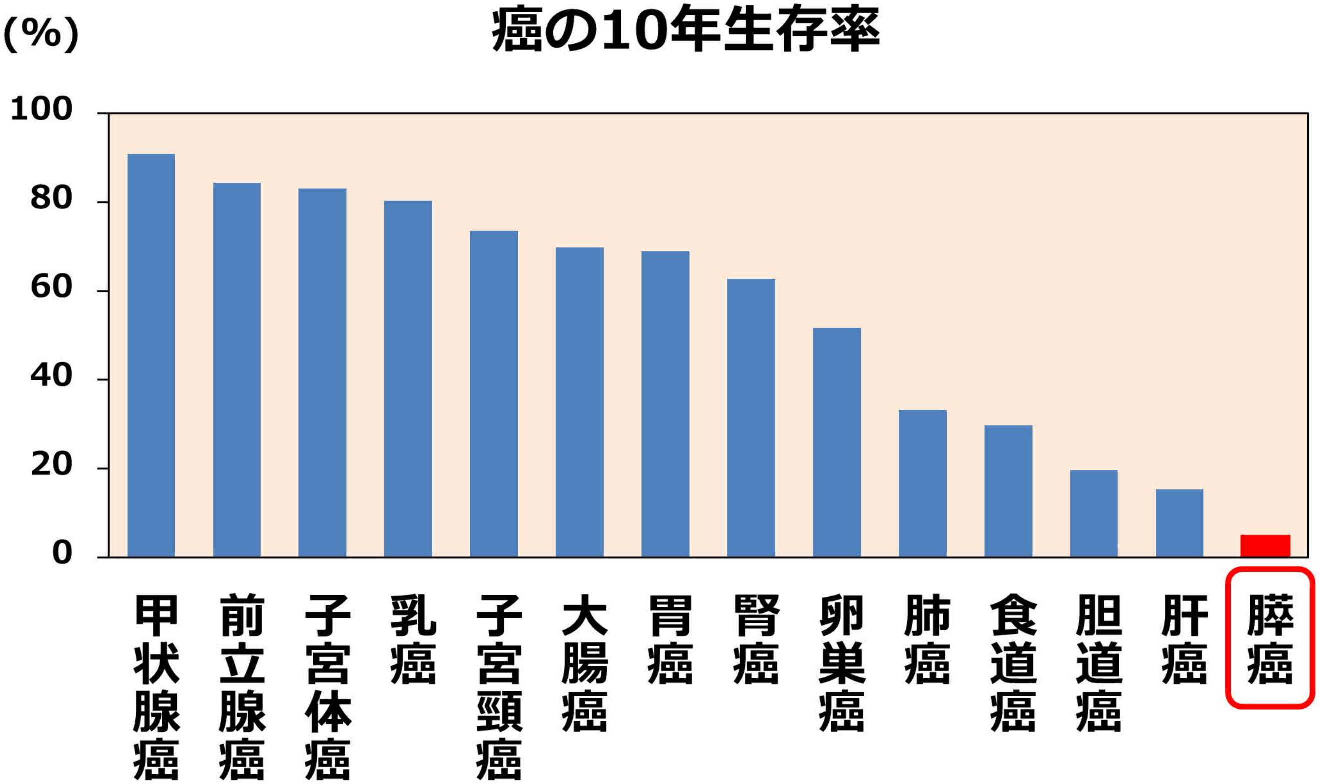
① 患者癌組織（癌オルガノイド）を用いた個別化癌化学療法

塚本、泥谷、麓、柴田、平下、黒木、木下、渕野

膵癌は予後不良な悪性腫瘍である

5年生存率　9.1%

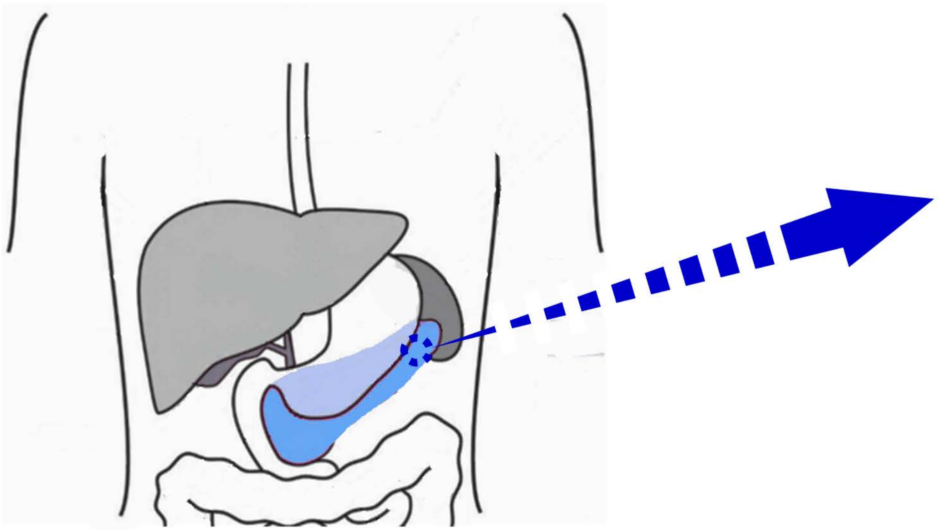
10年生存率　4.9%

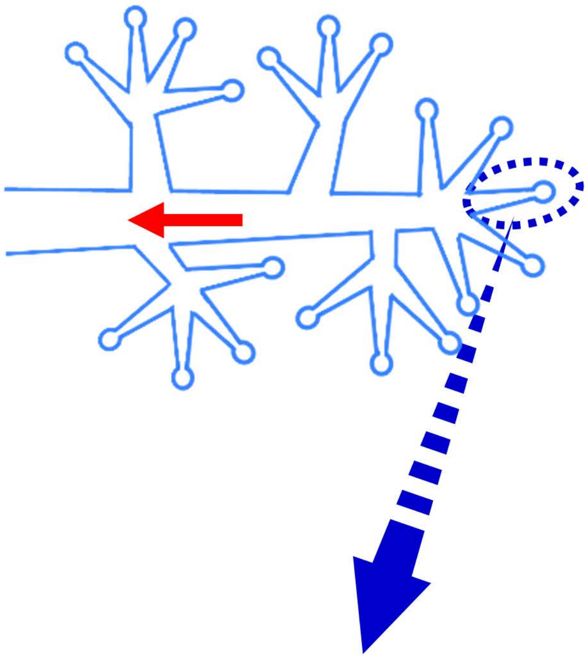


2016年1月20日 国立がん研究センター 公開データを改変

膵がんは膵臓の膵管から生じる

膵管は合流して太くなり、
十二指腸へつながる

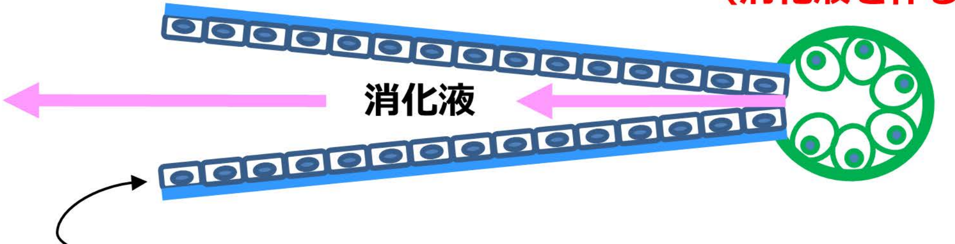




膵管
（消化液の通路）

腺房
（消化液を作る）

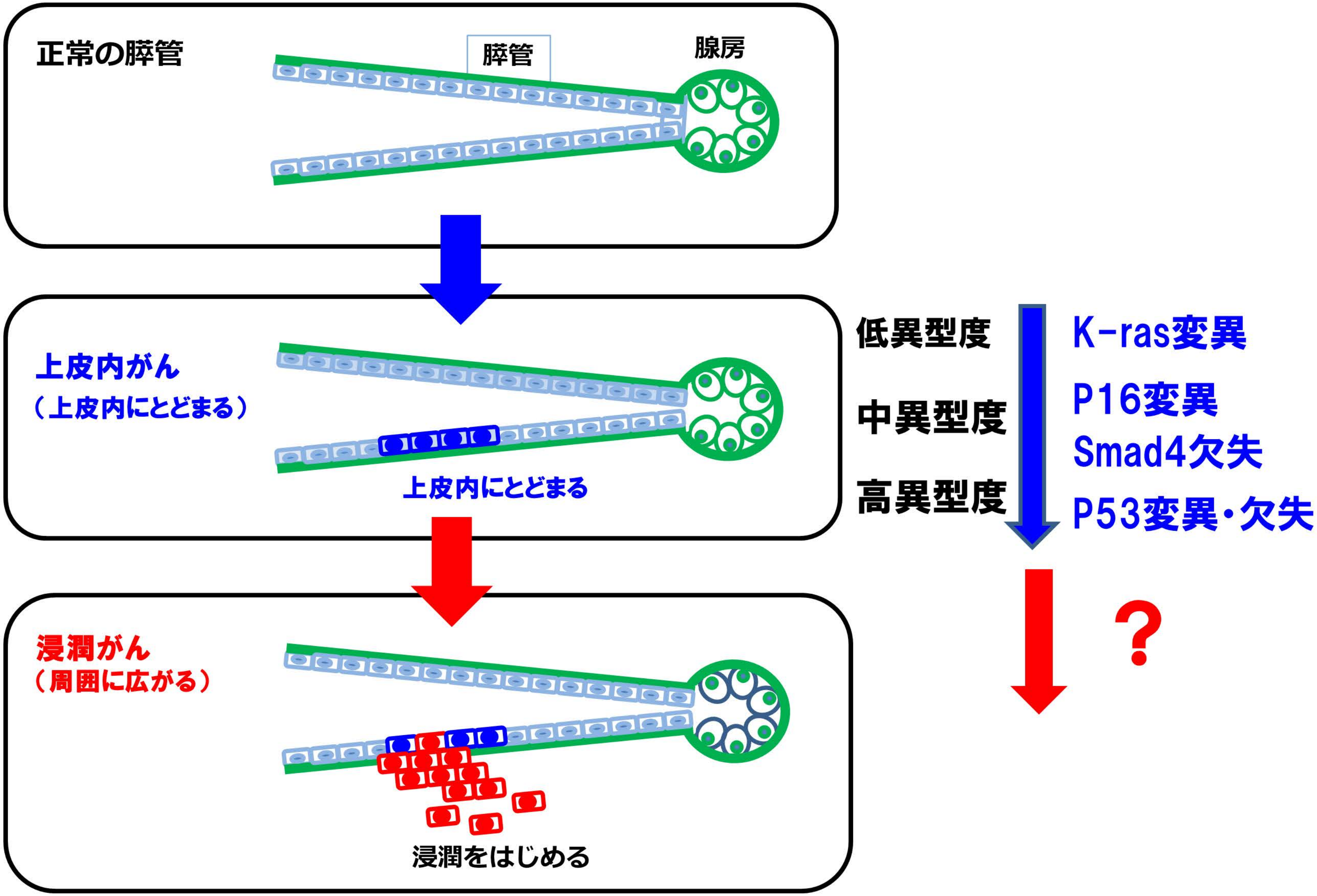
消化液（膵液）は、
十二指腸へ送られる



消化液

膵管の内面を覆う上皮（上皮細胞）

膵がんは上皮内癌から始まる



正常の膵管

上皮内がん
（上皮内にとどまる）

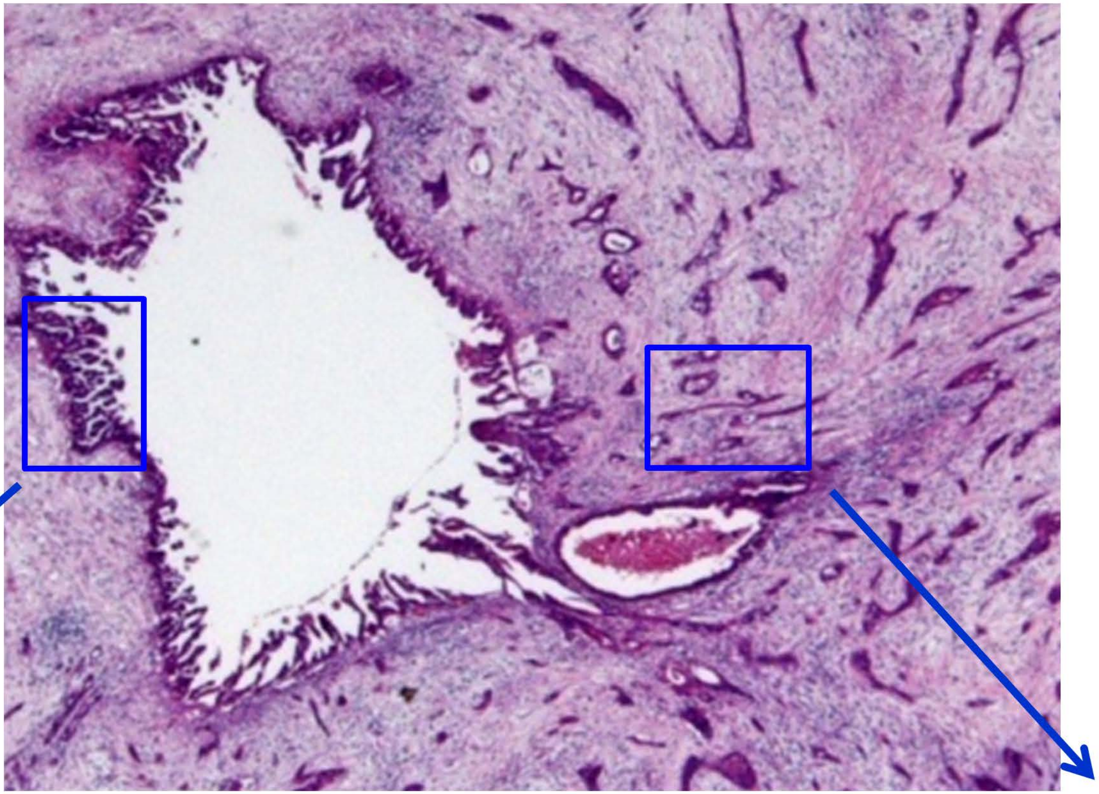
浸潤がん
（周囲に広がる）

低異型度
中異型度
高異型度

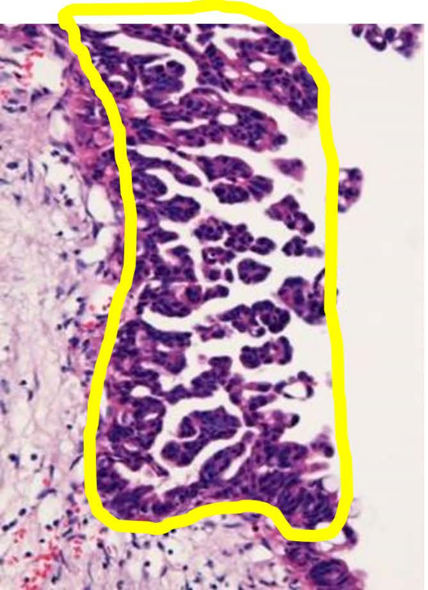
K-ras変異
P16変異
Smad4欠失
P53変異・欠失

？

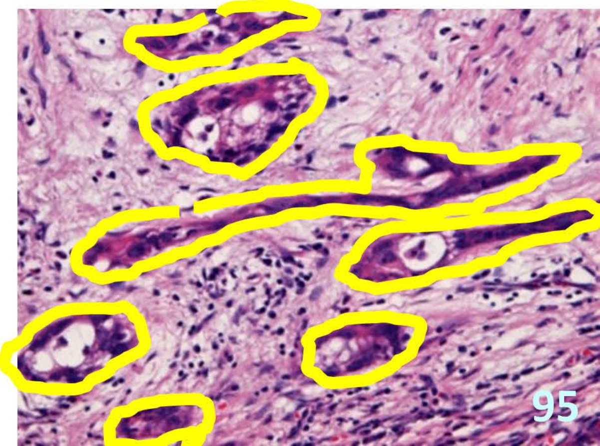
上皮内癌と浸潤癌のゲノム異常を比較する



上皮内癌



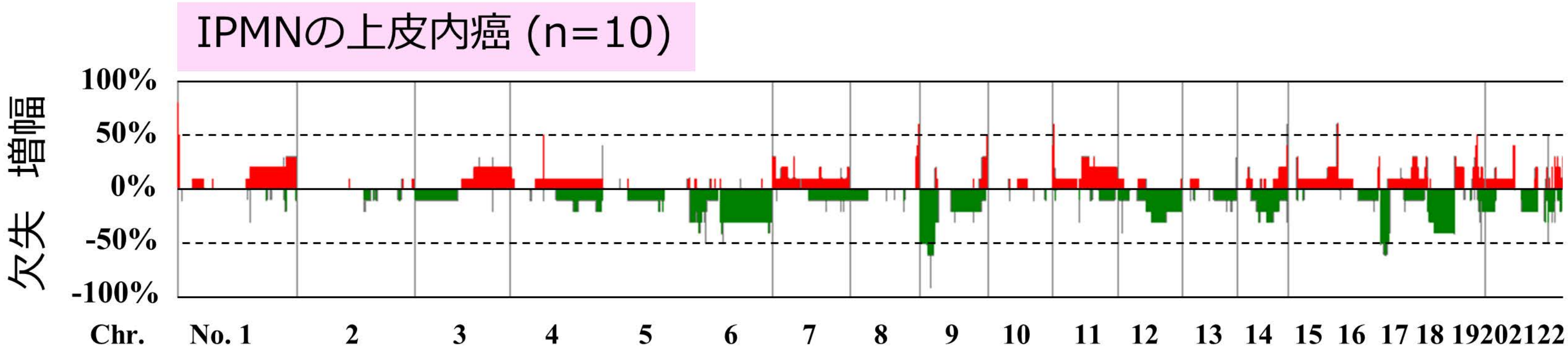
浸潤癌

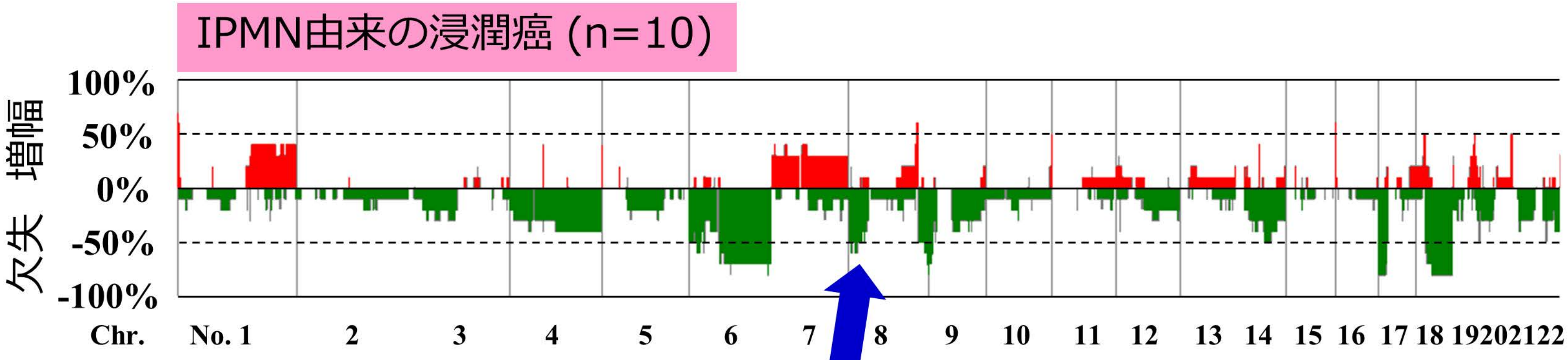


- LCMで癌細胞を採取
- アレイCGHを施行

ゲノム異常を比較

浸潤癌への進展過程で8p欠失が付加される

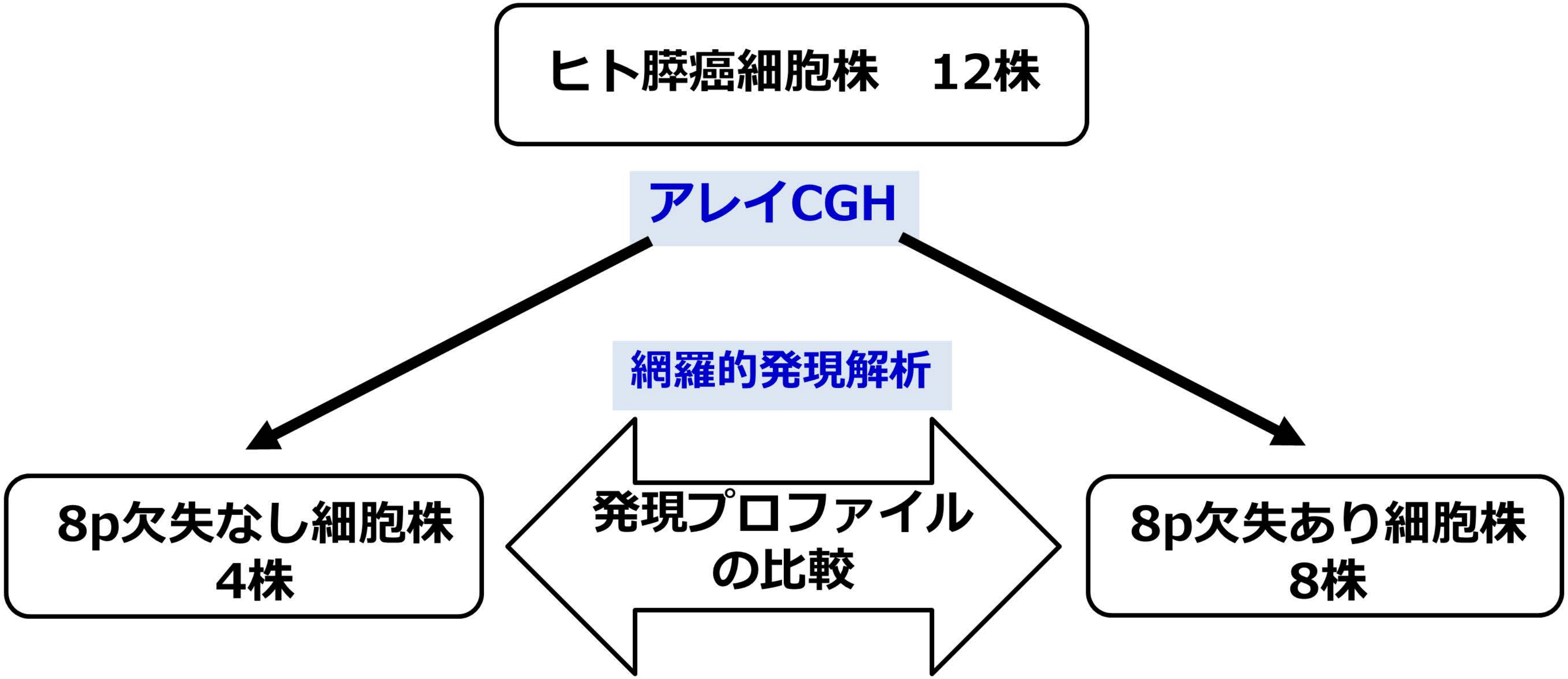

IPMNの上皮内癌 (n=10)


IPMN由来の浸潤癌 (n=10)

8番染色体短腕（8p）の欠失

Hijiya et al, Cancer Res, 2016

8p上の浸潤に関わるがん抑制遺伝子を同定する



ヒト膵癌細胞株　12株

アレイCGH

網羅的発現解析

8p欠失なし細胞株
4株

発現プロファイル
の比較

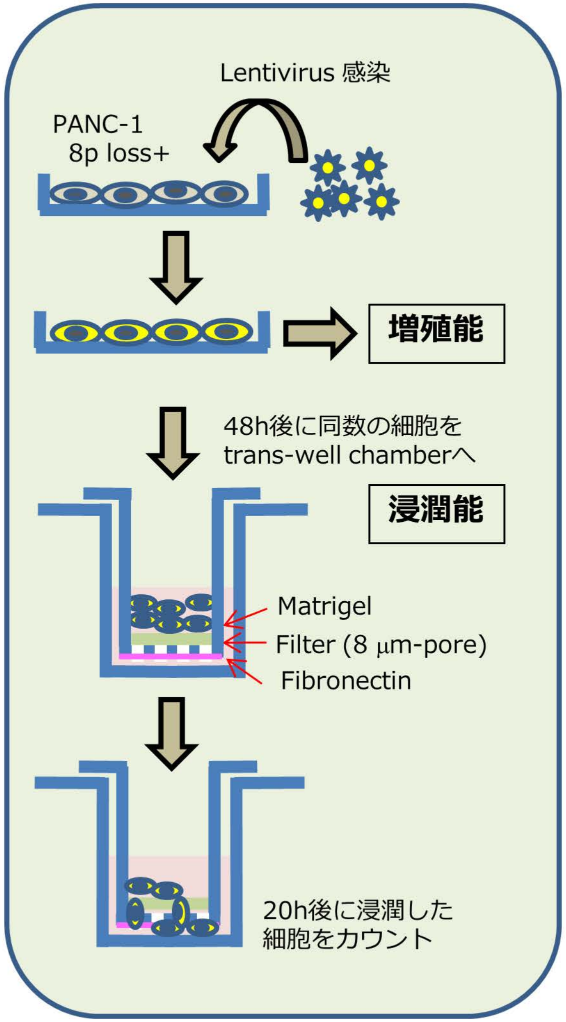
8p欠失あり細胞株
8株

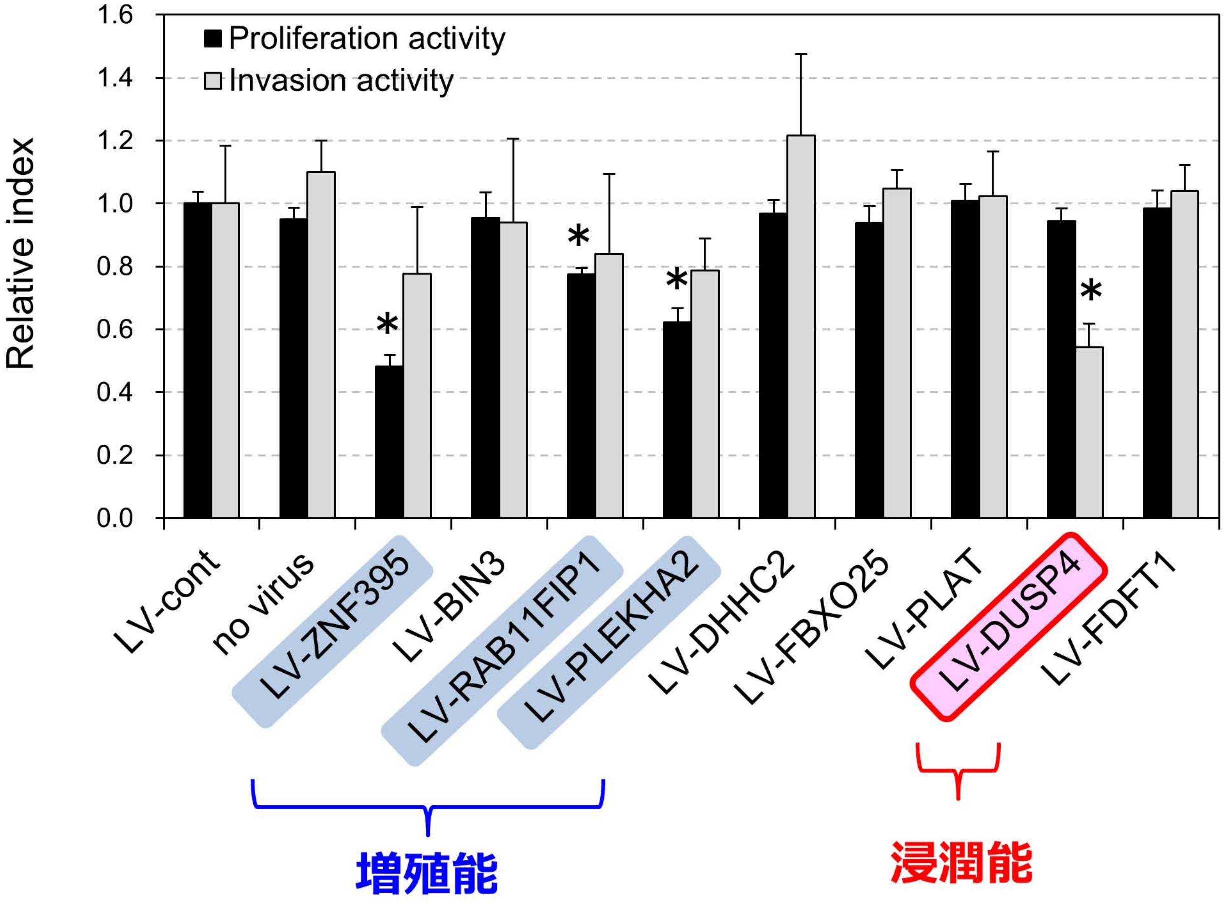
8p欠失に伴い発現が低下
する8p上の遺伝子を抽出

Hijiya et al, Cancer Res, 2016

DUSP4遺伝子導入により浸潤能は低下する

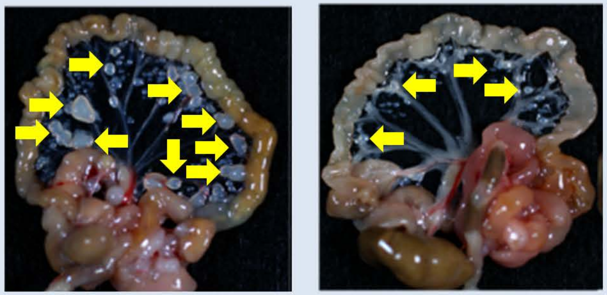
PANC-1(8p lossあり)細胞から, 8p lossにより発現低下する9遺伝子を同定し、それぞれの遺伝子をPANC-1細胞に導入し、増殖能の低下する遺伝子3つ(青)と浸潤能が低下する遺伝子DUSP4(赤)を同定した。



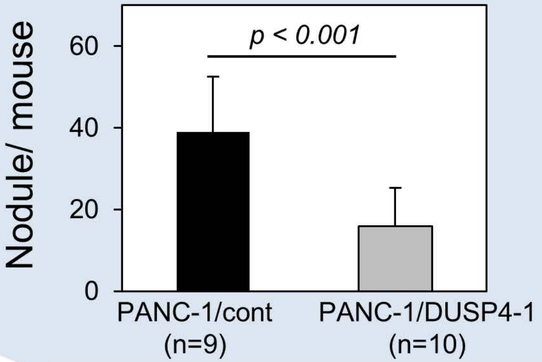


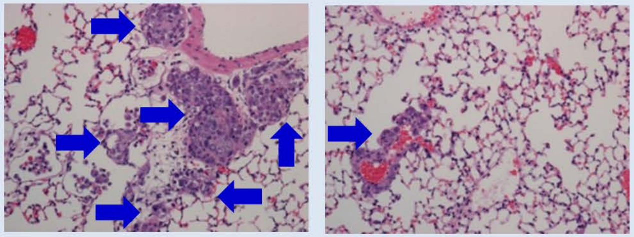
Hijiya et al, Cancer Res, 2016

DUSP4導入細胞は*in vivo*で浸潤能が低下する

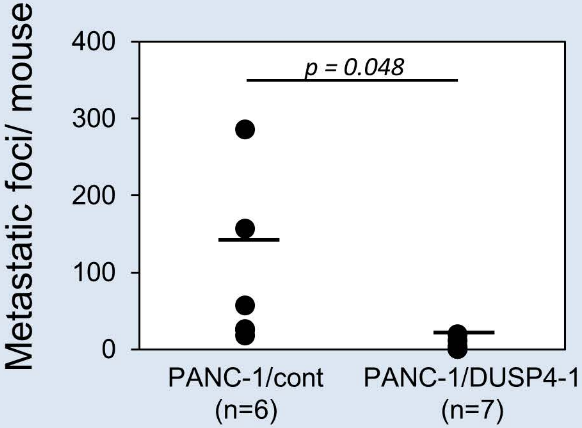


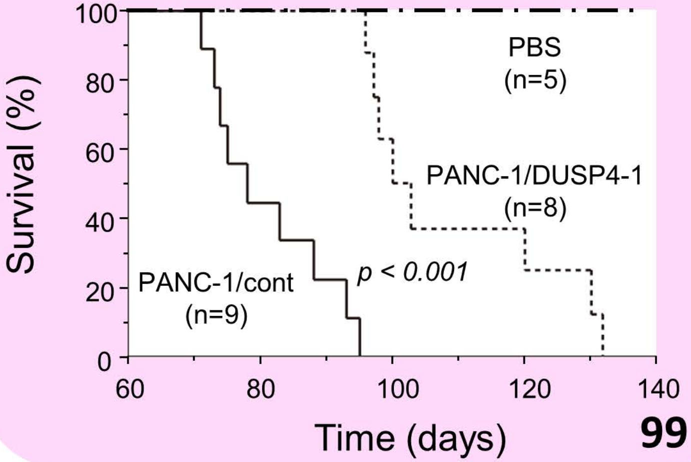
PANC-1/cont　　PANC-1/DUSP4-1





PANC-1/cont　　PANC-1/DUSP4-1

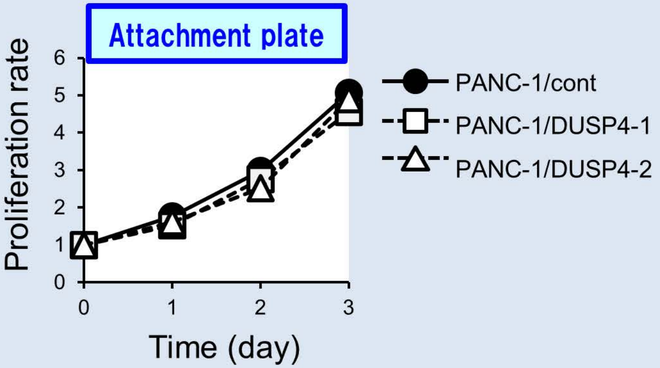


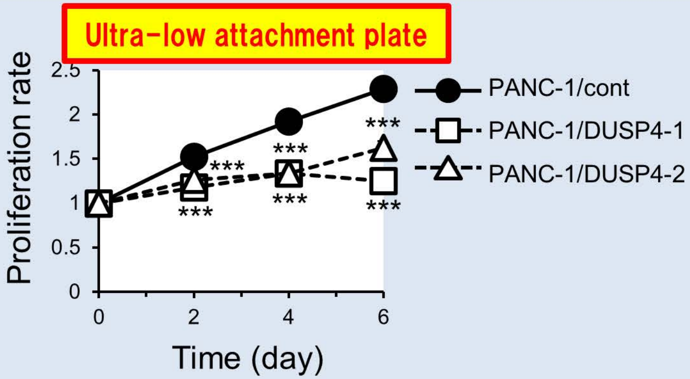


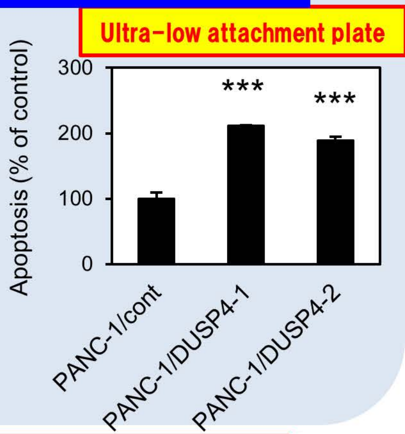
Hijiya et al, Cancer Res, 2016

DUSP4発現低下によりアノイキス抵抗性を獲得

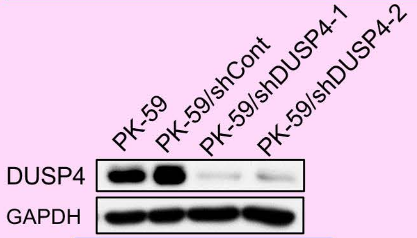
DUSP4導入で足場依存性が高まる　（DUSP4欠失で浸潤増殖可能に）

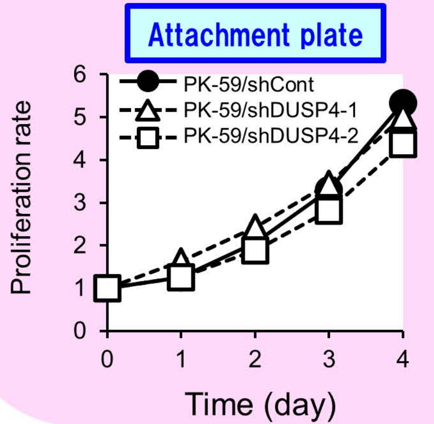

Attachment plate

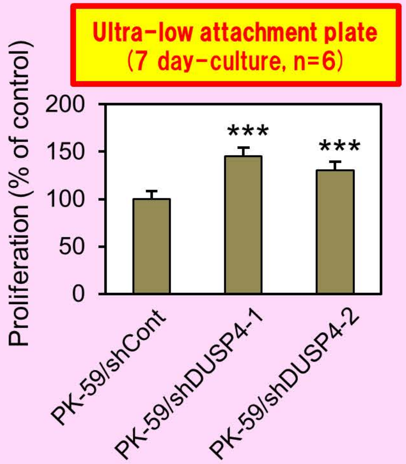

Ultra-low attachment plate

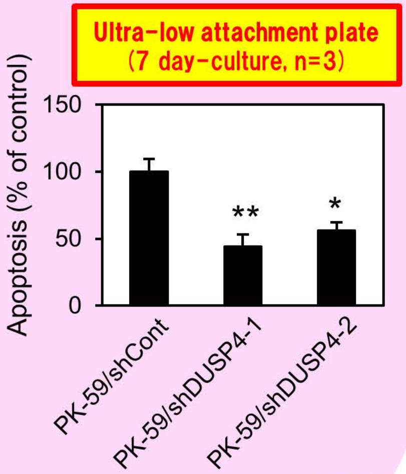

Ultra-low attachment plate

DUSP4を抑制すると足場が要らなくなる　（DUP4欠失で浸潤増殖可能に）




Attachment plate

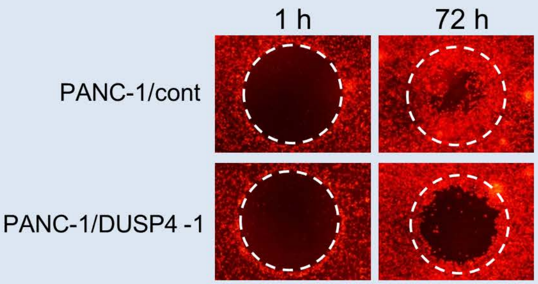

Ultra-low attachment plate
(7 day-culture, n=6)

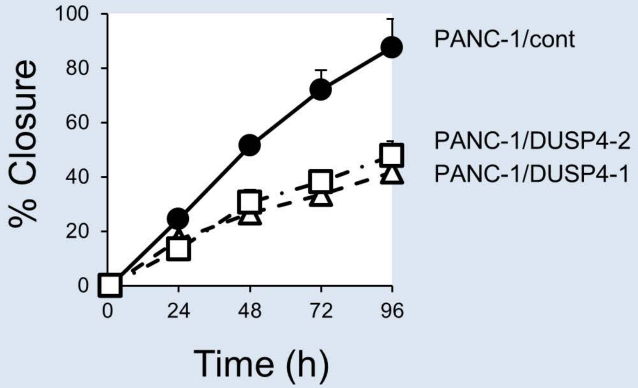

Ultra-low attachment plate
(7 day-culture, n=3)

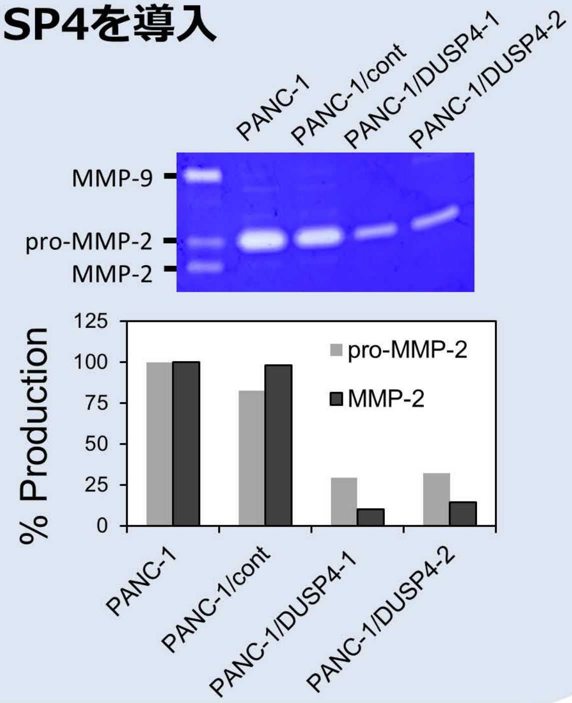
Hijiya et al, Cancer Res, 2016

DUSP4発現低下により遊走能・MMP産生能も亢進

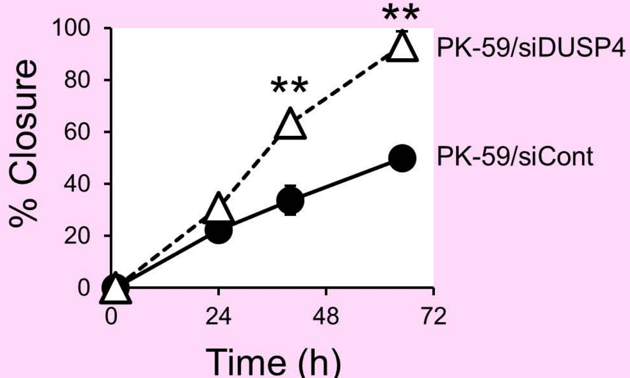
DUSP4発現が低下している膵癌細胞株にDUSP4を導入
→　遊走能・MMP産生能抑制







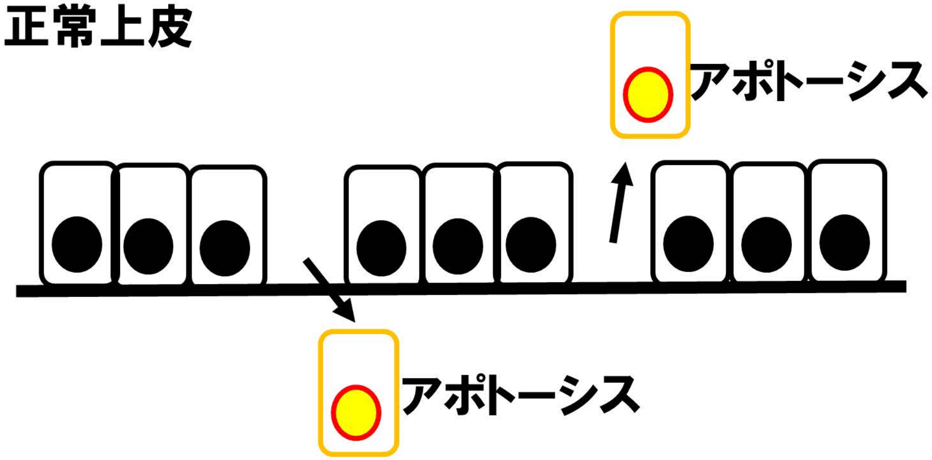
DUSP4を発現している膵癌細胞株でDUSP4発現を抑制
→　遊走能亢進



Hijiya et al, Cancer Res, 2016

DUSP4欠失は上皮細胞に足場非依存性をもたらす

正常上皮

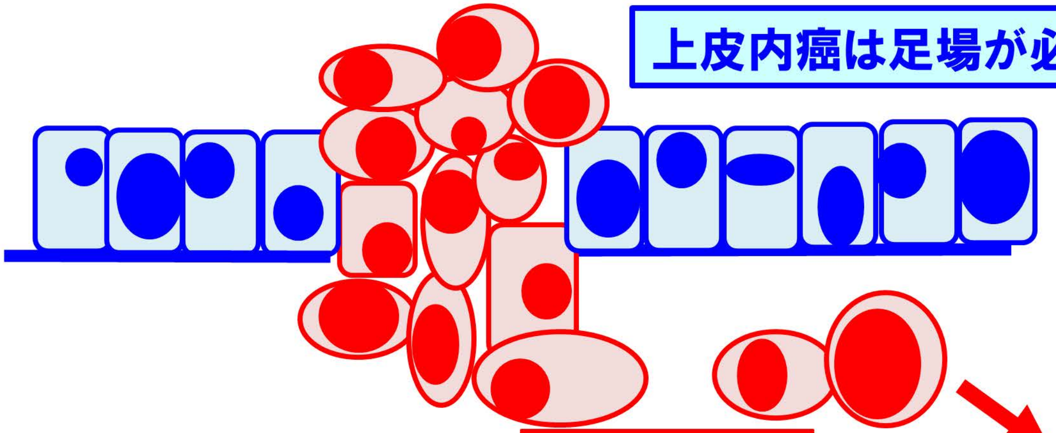


正常上皮細胞は基底膜や周囲細胞との接着することで生存を維持できる。
接着を失うとアポトーシスが誘導され、細胞死に至る

上皮内癌においても基底膜との接着性は維持されている

足場非依存性を獲得して、癌細胞は、浸潤性増殖が可能になる。

上皮内癌と浸潤癌



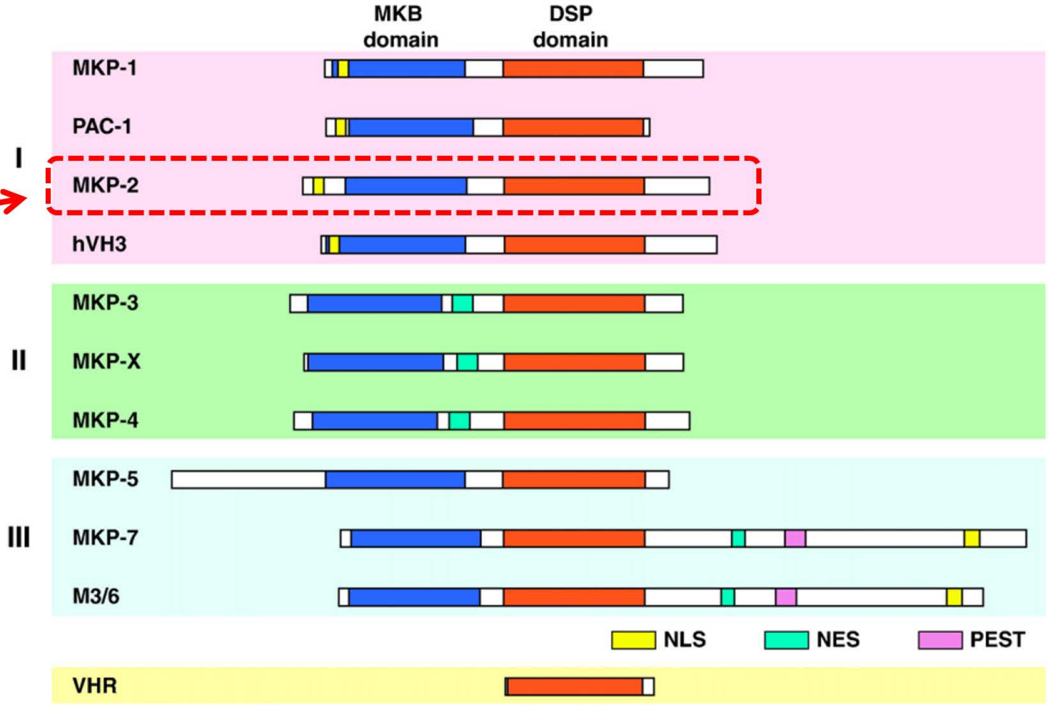
浸潤癌は足場を失っても生存・増殖可能

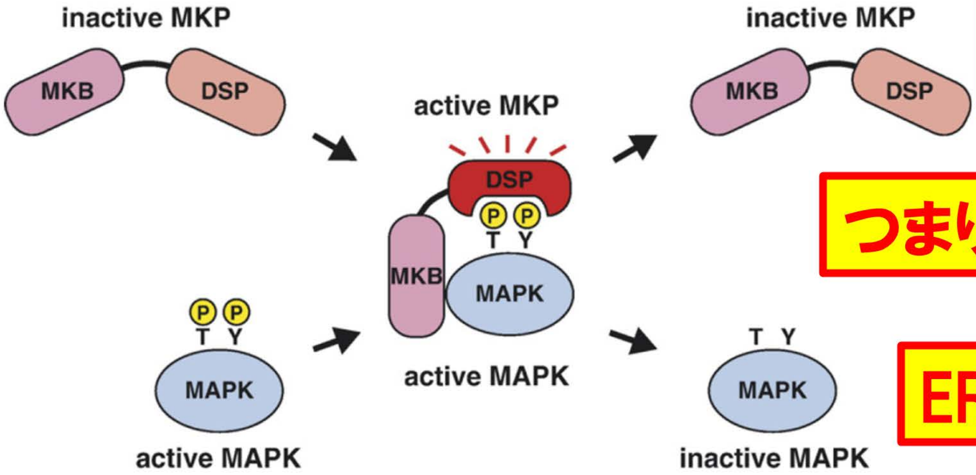
DUSP4はMAPキナーゼを不活化する酵素である

DUSP(Dual specificity phosphatase) family

DUSP4

別名 MKP (MAPK phosphatase)2





- **DUSP4はリン酸化ERKを脱リン酸化**
- **DUSP4の発現低下はERKを活性化**

つまり、癌の浸潤にはERKが重要！？

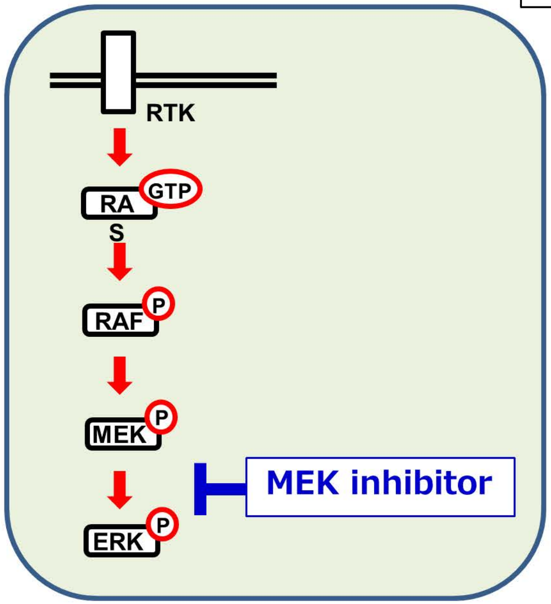
ERKシグナルは治療標的となる！？

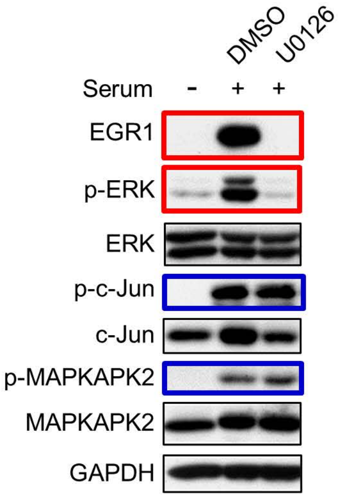
*Biochim Biophys Acta. 2007;1773:1227-37.*を改変

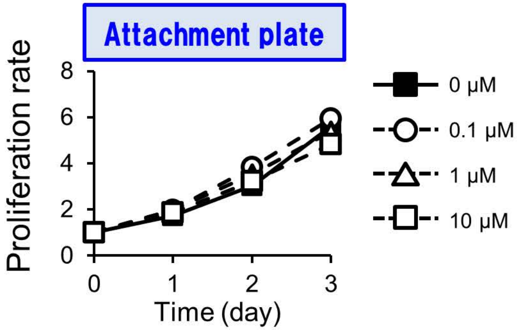
ERKシグナルの阻害は浸潤能を抑制する

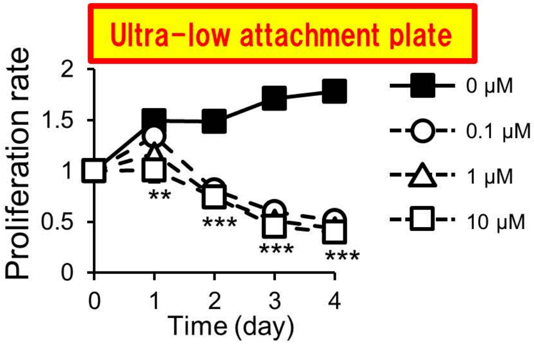
Hijiya et al, Cancer Res, 2016

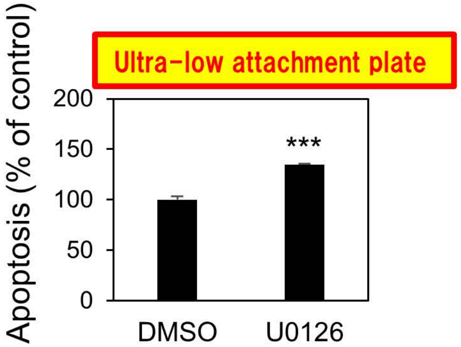
MEK阻害薬（U0126）を用いた *in vitro* 実験



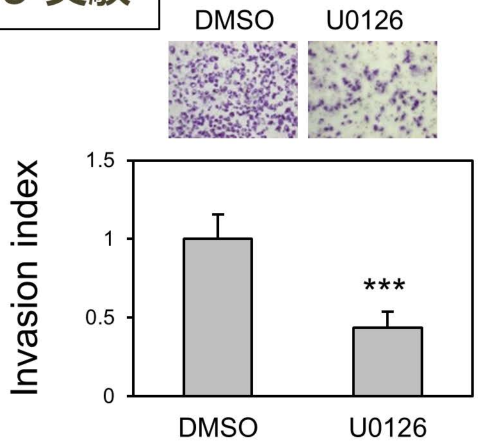


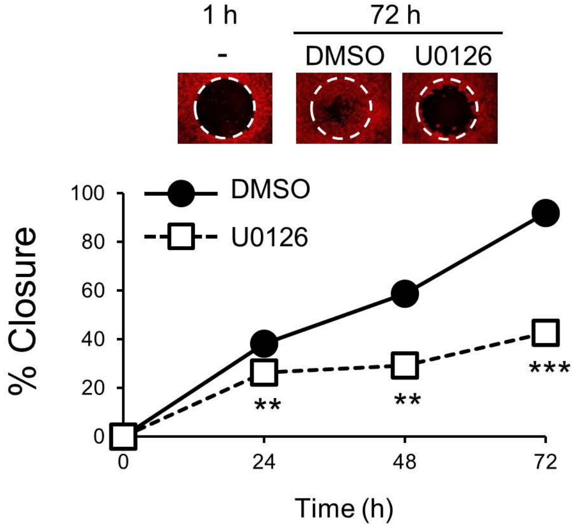

Attachment plate


Ultra-low attachment plate


Ultra-low attachment plate

MEK阻害薬は細胞増殖を抑制

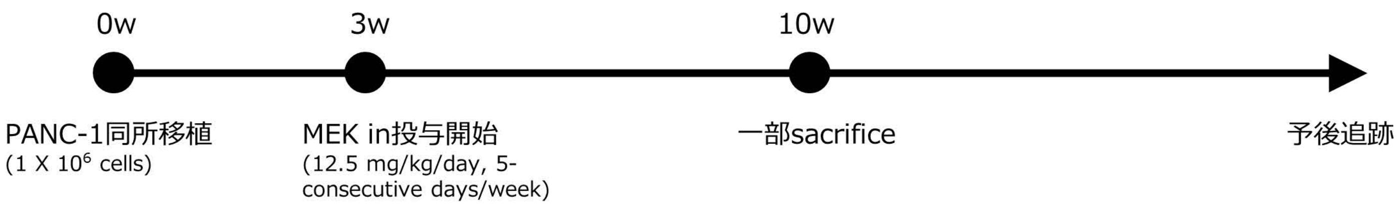




MEK阻害薬は浸潤・遊走能を阻害

MEK阻害剤治療は有効である

MEK阻害剤（PD325901）を用いた *in vivo* 実験


0w

PANC-1同所移植
(1 X 10^6 cells)

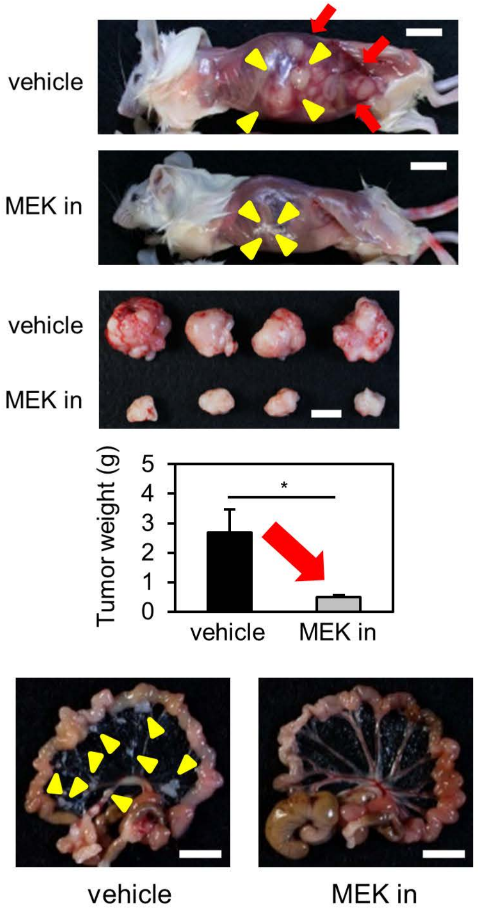
3w

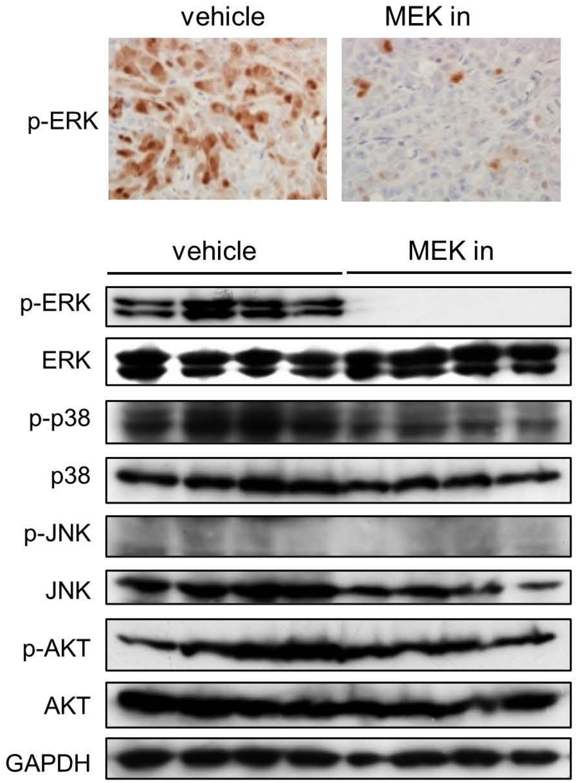
MEK in投与開始
(12.5 mg/kg/day, 5-consecutive days/week)

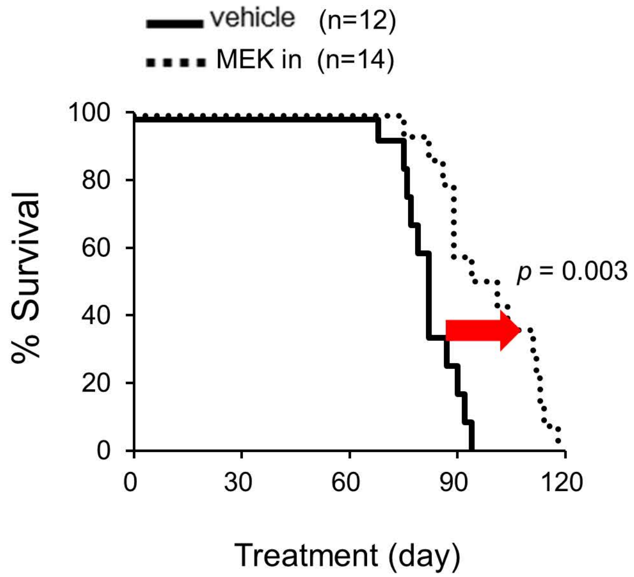
10w

一部sacrifice

予後追跡







Hijiya et al., Cancer Res, 2016

ERKシグナルは膵癌の治療標的と考えられる

K-ras変異

P16変異

Smad4欠失

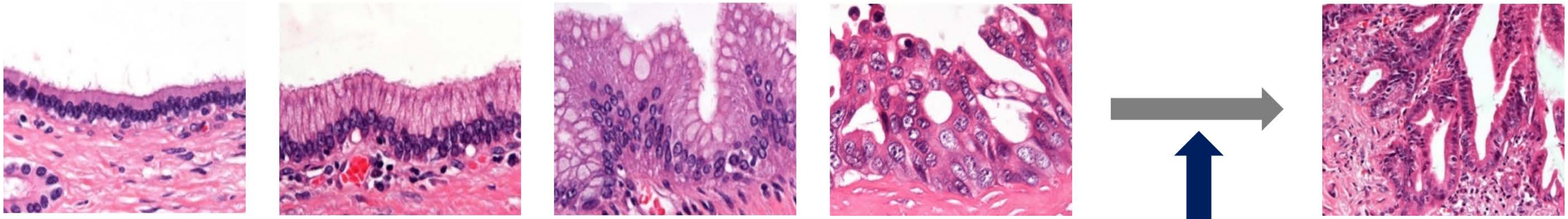
P53変異

正常膵管上皮

低異型度上皮内病変

高異型度上皮内病変
（上皮内癌）

浸潤癌



8p loss

PLEKHA2 ⇩

大学院木下先生（消化器内科）が解析中。
代謝調節に関わる新しい癌抑制遺伝子であると考えている。

ZNF395 ⇩

Kurogi et al,
Pathobiology, 2021

細胞周期の脱制御

増殖⇧

DUSP4⬇

Hijiya et al,
Cancer Res, 2016

pERK⬆

浸潤 ⬆

浸潤癌の進展

ERKシグナルは膵癌の治療標的と考えられる

K-ras変異

P16変異

Smad4欠失

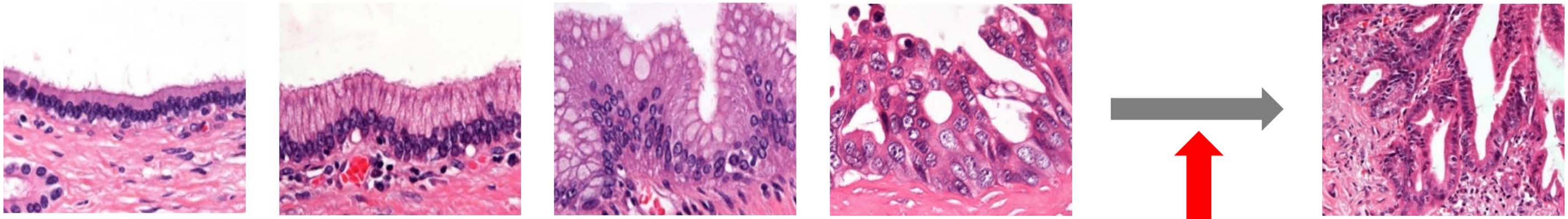
P53変異

正常膵管上皮

低異型度上皮内病変

高異型度上皮内病変（上皮内癌）

浸潤癌



8p loss

PLEKHA2

大学院木下先生（消化器内科）が解析中。
代謝調節に関わる…
癌抑制遺伝子であると考えている。

ZNF395

Kurogi et al,
Pathobiology, 2021

…周期の脱制御

増殖

DUSP4

Hijiya et al,
Cancer Res, 2016

pERK

浸潤

ERKシグナルを遮断

浸潤癌の治療

ところが、、、、、

MEK阻害薬は治験では明確な効果を示せずdrop-out !!

MAPキナーゼは膵癌の治療標的ではないのか

MEK阻害薬が臨床的に有効でないメカニズムは？

Hijiya et al., Cancer Res, 2016

18年間の業績の評価と総括

1. 腎癌

① 悪性化に関わる遺伝子異常	松浦、中田、三股、吉本、井上、成松、高橋、甲斐、（守山）
② 異常発現するmicroRNA	中田、塚本

2. 胃癌

① 胃癌のゲノムプロファイルの作成とその病理学的意義	塚本、野口(剛)、村上、内田(政)、黒田、平下
② 胃癌に対する分子標的治療	塚本、平下
③ 胃癌で異常発現するmicroRNA	塚本、中田
④ ピロリ菌感染と胃癌発症の関連性	内田、山岡、藤岡、村上、Tung、金田、

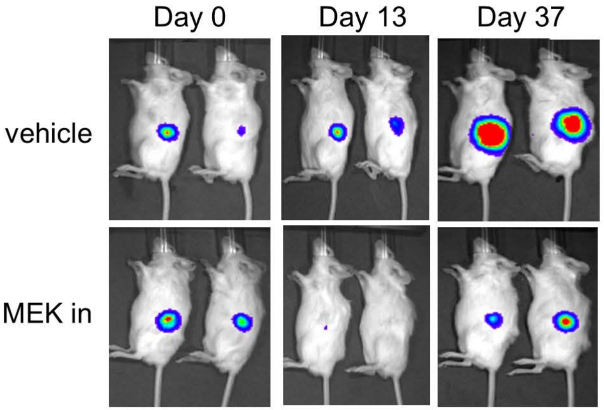
3. 膵癌

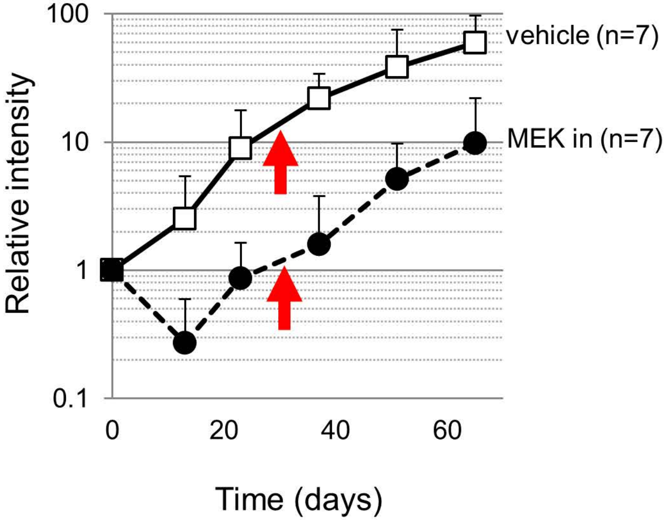
① 上皮内癌が浸潤癌に進行するメカニズムの解明	泥谷、黒木、一万田、Ratsada、木下
② 膵癌の進行メカニズムに基づく治療戦略の提案	泥谷、天田

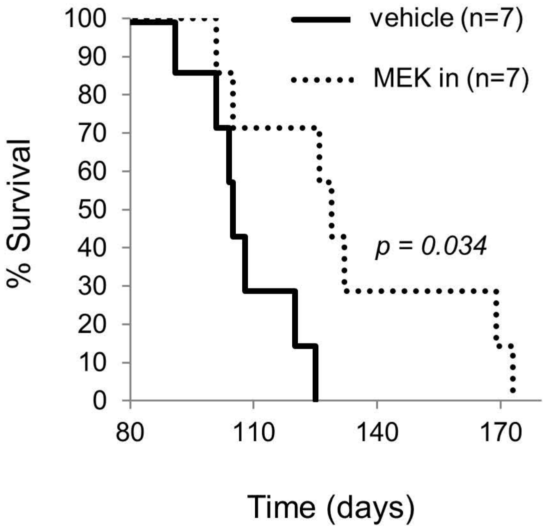
4. ポスト癌ゲノム時代の新しい個別化癌化学療法の開発

① 患者癌組織（癌オルガノイド）を用いた個別化癌化学療法	塚本、泥谷、麓、柴田、平下、黒木、木下、渕野

MEK阻害剤の効果は残念ながら一時的である







膵癌細胞は早期にMEK阻害剤耐性能を獲得する

各検体の凍結ブロックからRNAを抽出

↓

マイクロアレイを用いた網羅的発現解析

↓

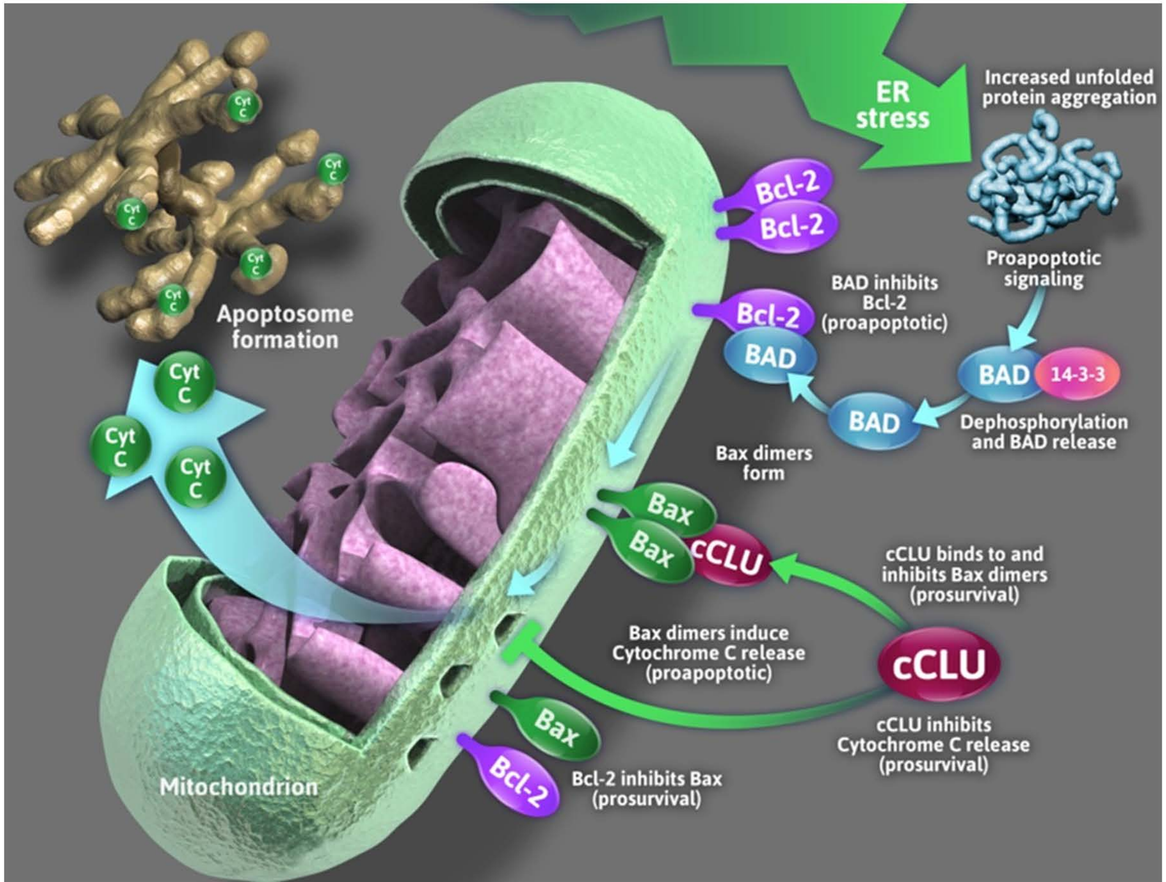
治療群で発現変動する遺伝子の同定

Amada and Hijiya, submitted

早期にClusterin (CLU) が発現誘導されていた

- 全身の組織・細胞で発現する分子量75～80 kDaの糖タンパク質
- 強力な抗アポトーシス活性を有するストレス関連分子シャペロン
- 化学療法や、ホルモン療法、放射線療法に耐性を獲得した前立腺癌や、肺癌、乳癌において発現が亢進
- 分子標的治療薬としてClusterinのアンチセンスオリゴが臨床試験進行中（前立腺癌、非小細胞性肺癌）

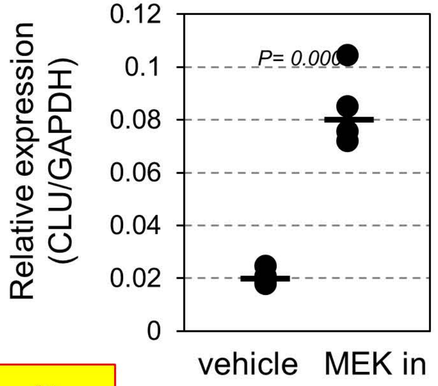
Custirsen (OGX-011), OncoGenex Pharmaceuticals Inc.



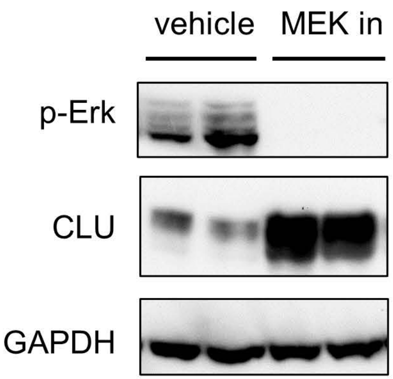
CLUはMEK阻害剤により発現誘導される

in vivo

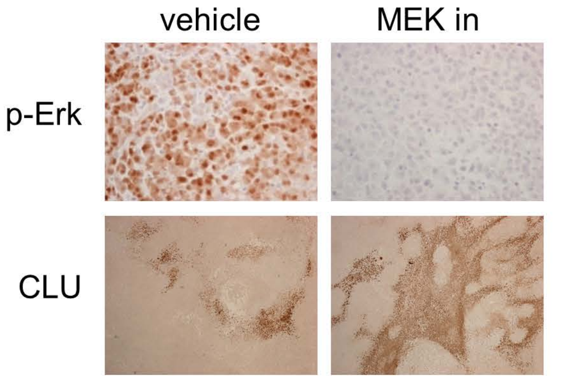
Real-time PCR



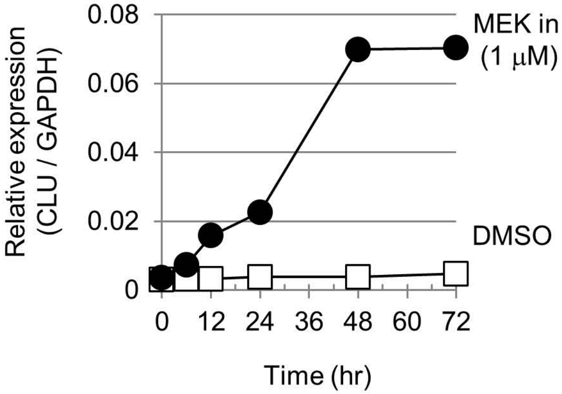
Western blot

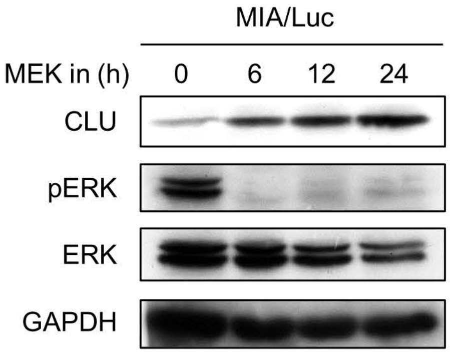


Immunohistochemistry



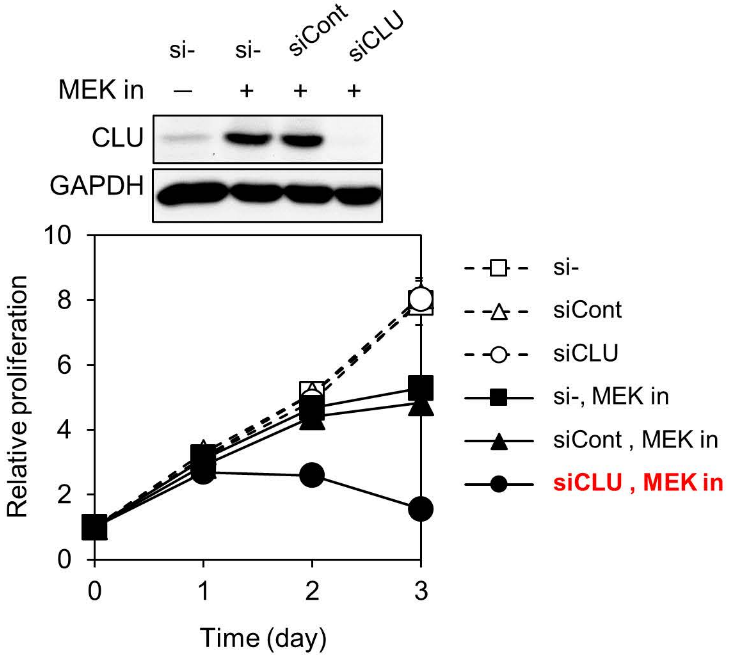
in vitro

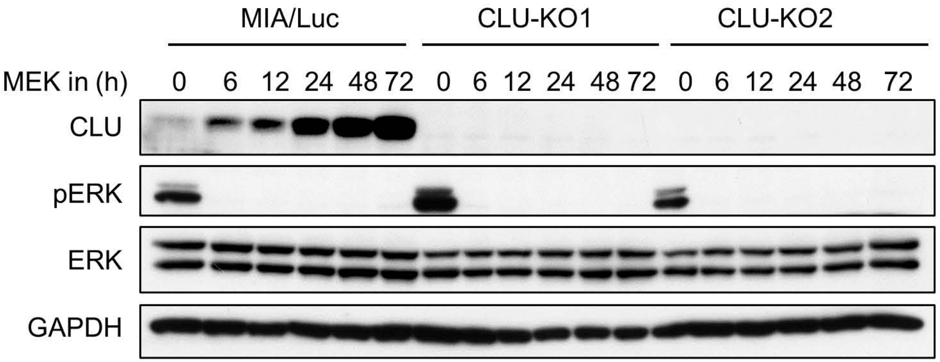




Amada and Hijiya, submitted

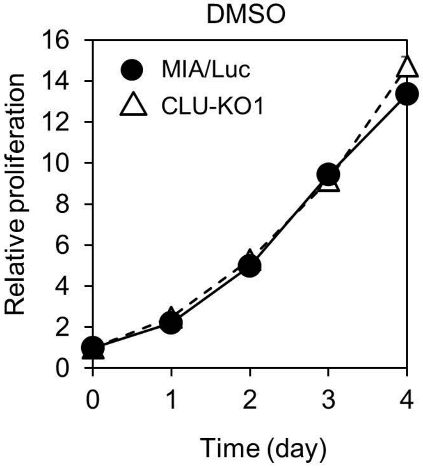
CLUはMEK阻害剤耐性化に関わる
（CLUを抑制するとMEK阻害剤耐性がキャンセルされる）



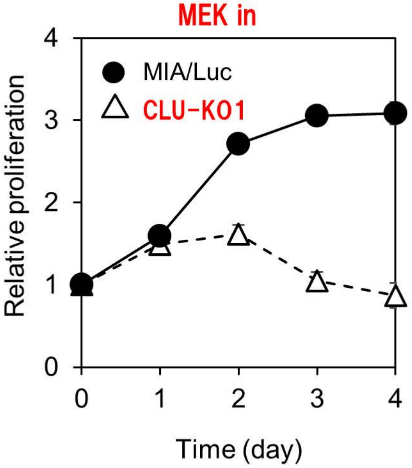


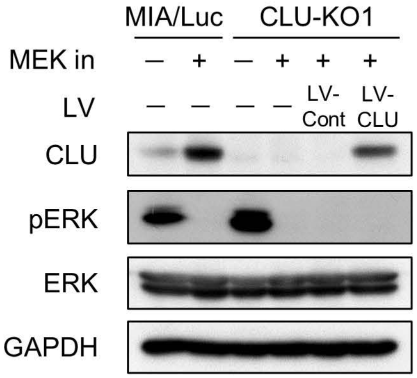
CLUのみを抑制しても増殖は変化しないが、CLUを抑制してMEK阻害薬を付加すると増殖が抑えられる

CLU-KOのみは増殖変化なし

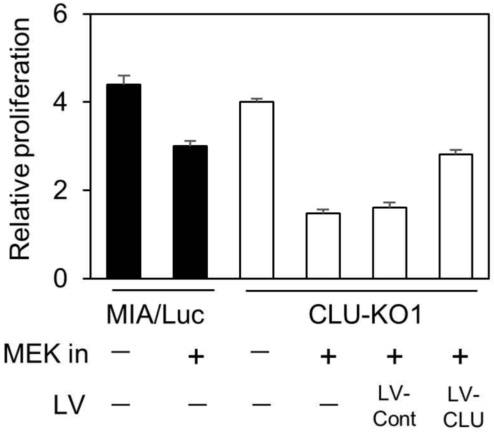


CLU-KOでMEKin耐性消失



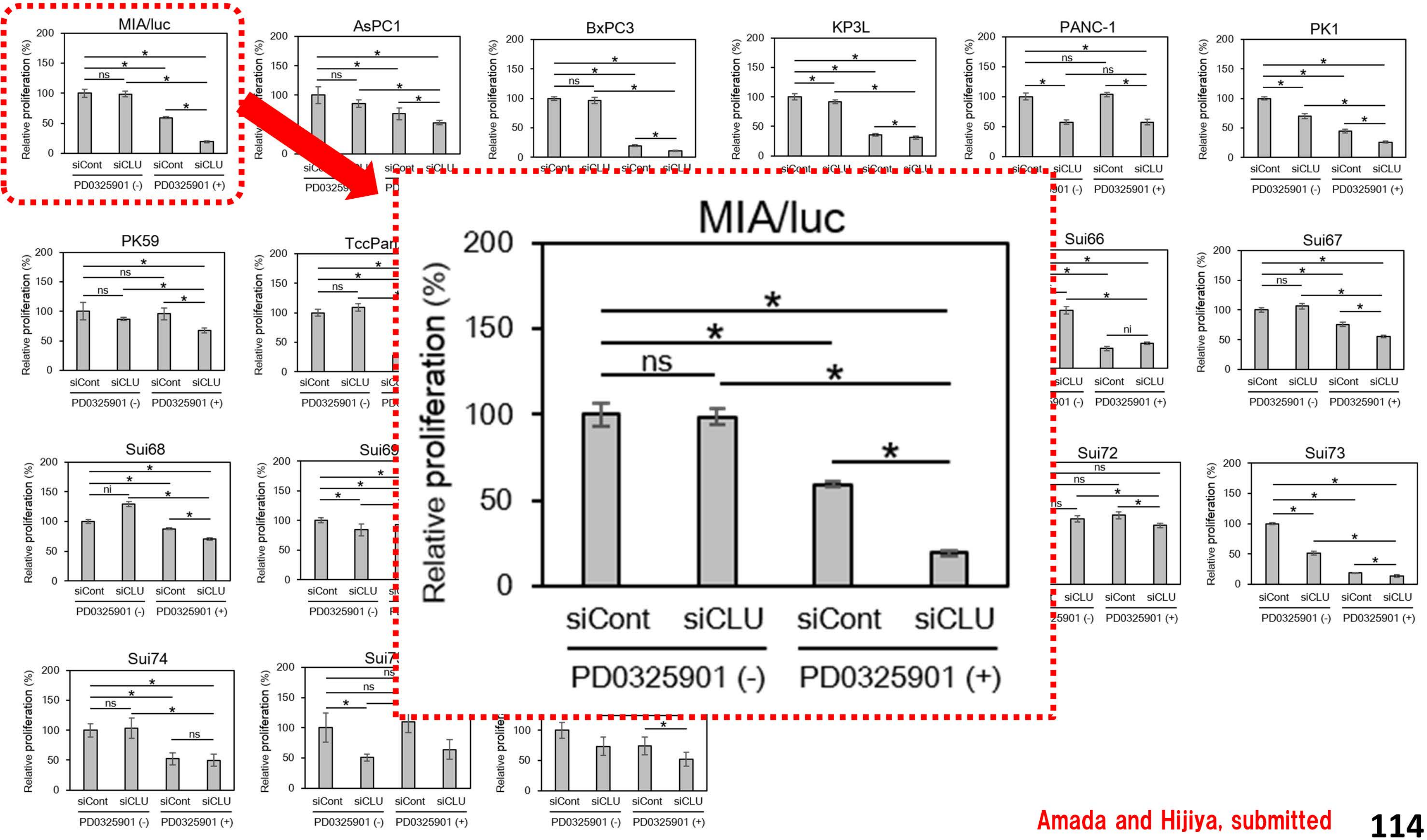


CLU再導入でrescue



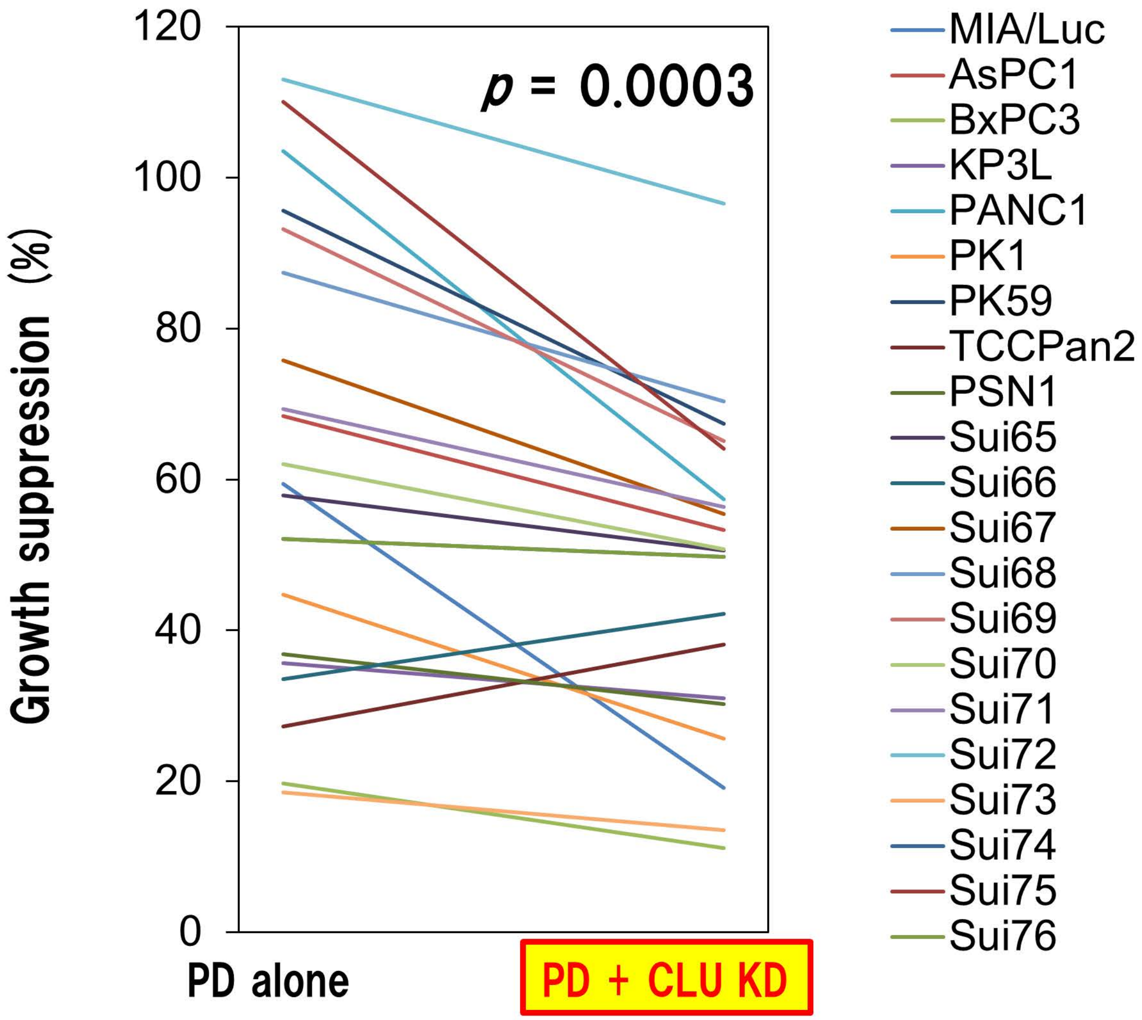
Amada and Hijiya, submitted

ヒト膵癌細胞株21株におけるMAPキナーゼ阻害薬とCLU標的治療の増殖抑制効果



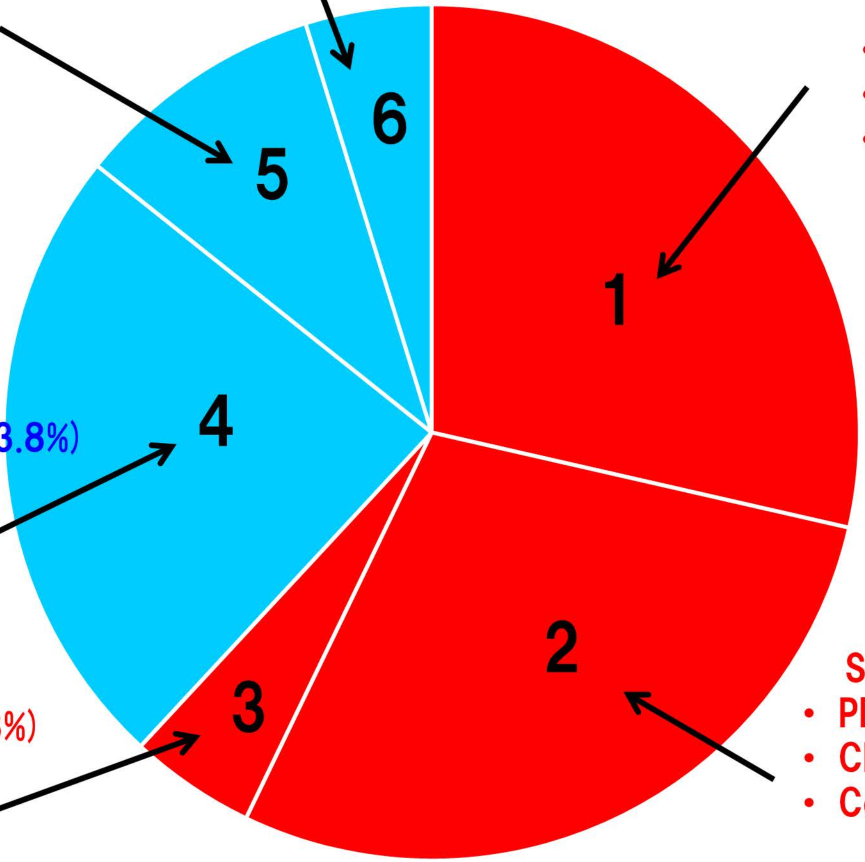
Amada and Hijiya, submitted

MEK阻害剤とCLUノックダウン併用で膵癌細胞増殖が抑制される



Amada and Hijiya, submitted

膵癌細胞の61.9%はMEK阻害剤とCLU-KD併用により増殖抑制される



8 (38.1%)
Ineffective to combination of PD and CLU-KD

13 (61.9%)
Effective to combination of PD and CLU-KD

Sub-group 6 (1 line, 4.8%)
- PD alone: NO
- CLU-KD alone: NO
- Combination: NO

Sub-group 5 (2 lines, 9.5%)
- PD alone: NO
- CLU-KD alone: YES
- Combination: NO

Sub-group 1 (6 lines, 28.6%)
- PD alone: YES
- CLU-KD alone: YES
- Combination: YES

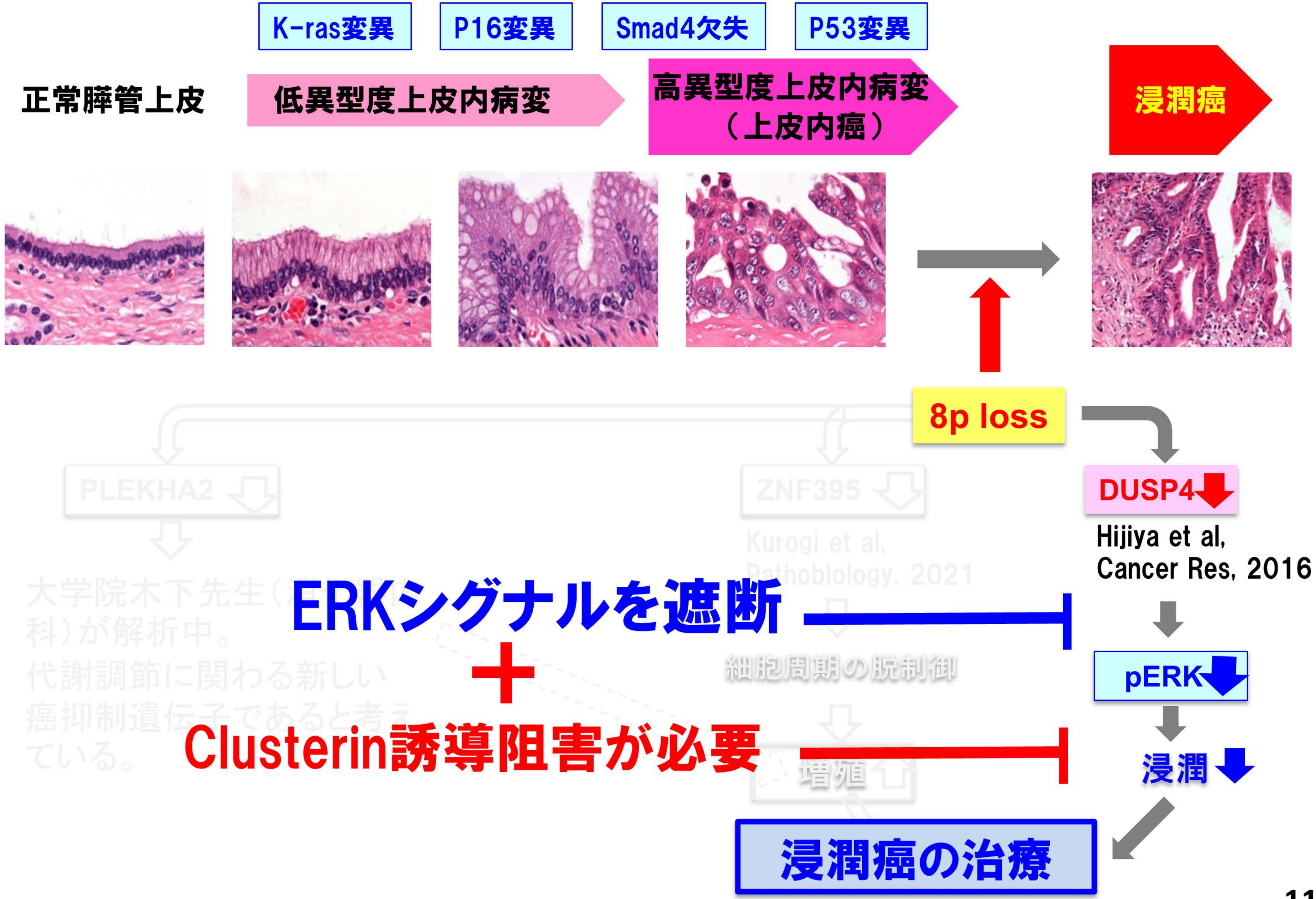
Sub-group 4 (5 lines, 23.8%)
- PD alone: YES
- CLU-KD alone: NO
- Combination: NO

Sub-group 2 (6 lines, 28.6%)
- PD alone: YES
- CLU-KD alone: NO
- Combination: YES

Sub-group 3 (1 line, 4.8%)
- PD alone: NO
- CLU-KD alone: NO
- Combination: YES

Amada and Hijiya, submitted

膵癌の治療標的はERKとCLUである



K-ras変異

P16変異

Smad4欠失

P53変異

正常膵管上皮

低異型度上皮内病変

高異型度上皮内病変
（上皮内癌）

浸潤癌

8p loss

PLEKHA2

大学院木下先生（[illegible]科）が解析中。
代謝調節に関わる新しい癌抑制遺伝子であると考えている。

ZNF395

Kurogi et al, Pathobiology, 2021

細胞周期の脱制御

増殖

DUSP4

Hijiya et al, Cancer Res, 2016

pERK

浸潤

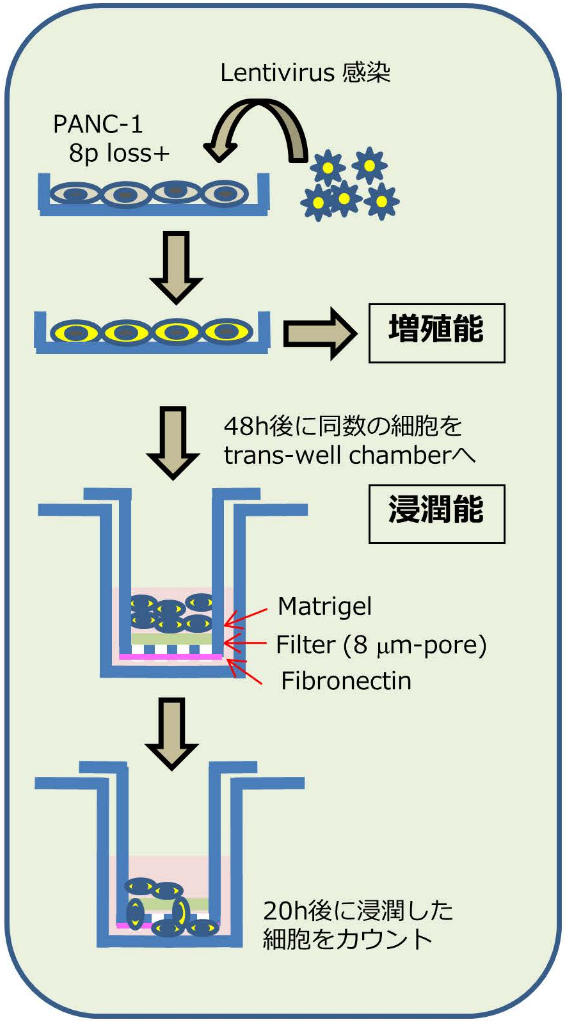
ERKシグナルを遮断

＋

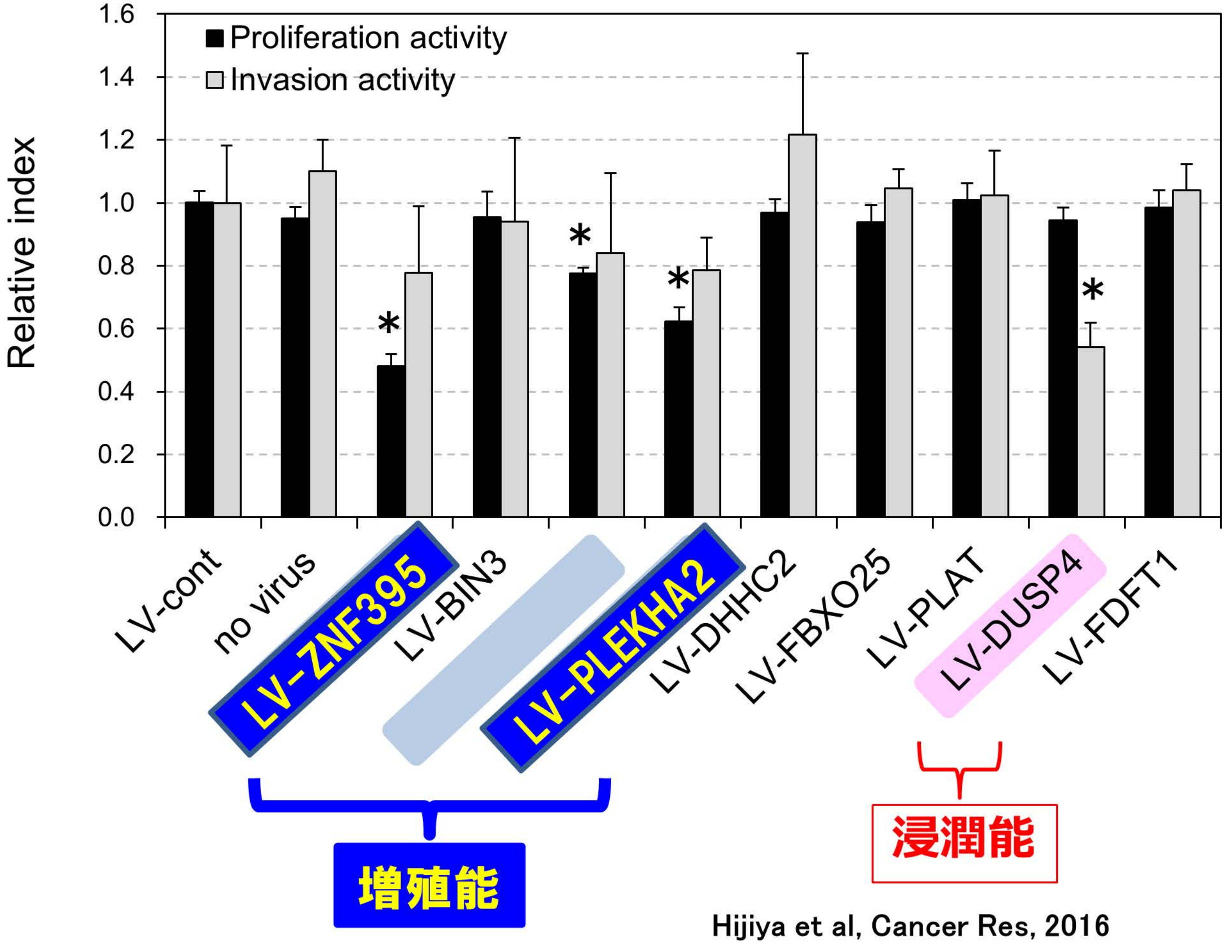
Clusterin誘導阻害が必要

浸潤癌の治療

細胞増殖を抑える癌抑制遺伝子 (ZNF395, PLEKHA2)



細胞増殖を抑制する3つのうち、ZNF395とPLEKHA2が癌抑制遺伝子であることが判明した



Hijiya et al, Cancer Res, 2016

Kurogi et al., Pathobiology, 2021

8p lossによる複数の癌抑制遺伝子の失活が浸潤性獲得に関わる

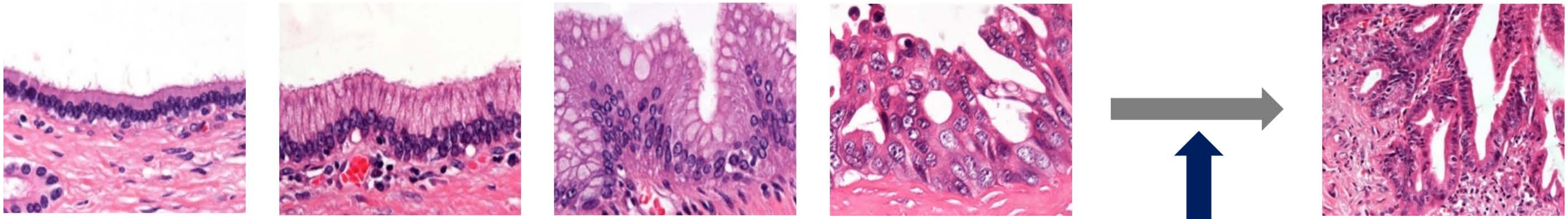
K-ras変異

P16変異

Smad4欠失

P53変異

正常膵管上皮 → **低異型度上皮内病変** → **高異型度上皮内病変（上皮内癌）** → **浸潤癌**



8p loss

- **PLEKHA2** ↓
  - 大学院木下先生（消化器内科）が解析中。代謝調節に関わる新しい癌抑制遺伝子であると考えている。
- **ZNF395** ↓
  - Kurogi et al, Pathobiology, 2021
  - 黒木秀作　先生
  - 細胞周期の脱制御
  - 増殖 ↑
- **DUSP4** ↓
  - Hijiya et al, Cancer Res, 2016
  - pERK ↑
  - 浸潤 ↑

浸潤癌の進展

治療標的は今後追加されるかもしれない

4-① 膵癌において、上皮内癌が浸潤癌に進行するメカニズムの解明

4報　　平均IF：6.833

1. **Hijiya N**, Tsukamoto Y, Nakada C, Tung Nguyen L, Kai T, Matsuura K, Shibata K, Inomata M, Uchida T, Tokunaga A, Amada K, Shirao K, Yamada Y, Mori H, Takeuchi I, Seto M, Aoki M, Takekawa M, and Moriyama M. Genomic Loss of DUSP4 Contributes to the Progression of Intraepithelial Neoplasm of Pancreas to Invasive Carcinoma.

Cancer Res, 76: 2612-25, 2016.　　IF: 12.701

上皮内癌と浸潤癌を含む膵癌10例を用いたアレイCGH解析により、浸潤癌では8番染色体短腕の欠失(8p loss)が付加されることが分かった。さらに膵癌細胞株12株の網羅的発現解析の結果、浸潤能を制御するがん抑制遺伝子としてDUSP4を、増殖能を制御するがん抑制遺伝子としてZNF395, PLEKHA2, RAB11FIP1を抽出した。膵癌はDUSP4の発現低下に伴うMAPキナーゼの恒常的活性化により浸潤能を獲得すること、活性化MAPキナーゼは有望な治療標的であることを示した。

2. Ichimanda M, **Hijiya N,** Tsukamoto Y, Uchida T, Nakada C, Akagi T, Etoh T, Iha H, Inomata M, Takekawa M, and Moriyama M. Downregulation of dual-specificity phosphatase 4 enhances cell proliferation and invasiveness in colorectal carcinomas.

Cancer Sci, 109: 250-8, 2018.　　IF: 6.716

大腸癌は膵癌と同様にMAPキナーゼパスウェイに依存する癌腫である。多くの浸潤性大腸癌では深部浸潤した癌細胞でDUSP4の発現が低下していることを見出した。DUSP4の発現低下はMAPキナーゼの活性化をもたらし、増殖および浸潤能の亢進に寄与することを明らかにした。これらの知見から、現行の抗EGFレセプター抗体薬に加えて、MEKやERKを標的とした新規分子標的治療が多くの大腸癌に有効であることが示唆された。

3. Ratsada P, **Hijiya N,** Hidano S, Tsukamoto Y, Nakada C, Uchida T, Kobayashi T, and Moriyama M. DUSP4 is involved in the enhanced proliferation and survival of DUSP4-overexpressing cancer cells.

Biochem Biophys Res Commun , 528: 586-93, 2020.　　IF: 3.575

一部の大腸癌細胞株では高レベルのDUSP4を発現していることを見出した。これらの細胞株ではDUSP4をノックダウンするとアポトーシスが誘導され増殖が顕著に抑制された。その機序として、高レベルのDUSP4発現は、p53による細胞周期の制御をキャンセルすることで増殖能亢進に寄与することを明らかにした。DUSP4は特定の癌腫・症例においては「がん遺伝子」として機能していることを示した。

4. Kurogi S, **Hijiya N,** Hidano S, Sato S, Uchida T, Tsukamoto Y, Nakada C, Yada K, Hirashita T, Inomata M, Murakami K, Takahashi N, Kobayashi T, and Moriyama M. Downregulation of ZNF395 Drives Progression of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma through Enhancement of Growth Potential.

Pathobiology , 88: 374-82, 2021.　　IF: 4.342

8p lossに伴いZNF395の発現が低下している膵癌細胞株を用いて、誘導性にZNF395を発現する細胞株を樹立した。ZNF395の発現を誘導すると、ストレス応答MAPキナーゼであるJNKやp38のシグナルパスウェイが活性化することを明らかにした。その結果、細胞周期のG1期停止が生じ、増殖が抑制された。膵癌切除組織を用いた免疫組織化学にて、ZNF395は正常膵管や上皮内癌では発現されていること、一方、浸潤癌（特に低分化型膵癌）では顕著に低下していることを確認した。5

5. Amada and Hijiya, submitted.

Clusterin発現誘導がMEK inhibitorに対する耐性獲得に重要で、CLUは膵癌の新しい治療標的である

膵癌研究は泥谷先生の力で達成

1　第42041号　（昭和17年4月3日第3種郵便物認可）　大分合同新聞（朝刊）　2016年（平成28年）3月31日　木曜日　朝E版（日刊）

大分合同新聞

3/31 木曜日 朝刊

創刊1886年（明治19年）
大分合同新聞社
〒870-8605 大分市府内町3-9-15
© 大分合同新聞社 2016
大分 097 536 2121　別府 0977-22-2121
FAX 097-538-9674　FAX 0977-25-1230
朝夕刊　完全連続紙
単独販売の朝刊、夕刊、統合版はありません。

膵がんの進行メカニズム
大分大が初解明

過度の細胞分裂
抑制遺伝子機能不全で

大分大学医学部分子病理学講座（守山正胤教授）と東京大学医科学研究所などの研究チームは、膵臓（すいぞう）のがん（膵がん）が進行する際に、必要以上に細胞分裂が進むのを抑制するブレーキ役の遺伝子の機能不全が関わっていることを世界で初めて解明した。米国がん学会の機関誌「キャンサーリサーチ」の電子版に掲載された。30日、大分大が発表した。

初期と進行した膵がんの両検体について遺伝子構造を解析、比較したところ、進行した膵がんでは、細胞分裂を促す酵素「MAPキナーゼ」の働きを抑制する遺伝子が機能していなかったことが分かった。

MAPキナーゼの働きを抑える（阻害する）薬は既に皮膚がんの治療に使われている。人間の膵がん細胞を移植したマウスに阻害薬を投与したところ、生存期

間に改善がみられ
う。今回の研究結果
がんの新たな治療薬
つながる可能性があ
県庁で会見した大
学部の泥谷直樹助教
APキナーゼは3種
されていて、どれに
れば膵がんに効果が
解明したい。新薬が
れれば進行を遅らせ
を期待できる」と話
膵がんは初期に見
のが難しいとされる
1月の国立がん研究
1の調査では5年生
9・1%、10年生存
・9%と他の臓器の
比べて著しく低い。
（小田原

研究成果について会見する大分大医学部の泥谷直樹助教（右）＝30日午後、大分県庁

政府の新観光戦略
日客4千万人
20年目標　消費は8兆円

政府の観光戦略ポイント
- 訪日
目標
30年
げる
- 訪日
標は20年に8兆円、30年に15兆円
- 東日本大震災の復興に向け、東北の観光振興を図る
- 訪問先を地方に広げるため、文化財を観光資源として活用。地方空港の路線増も目指す
- 客室不足の対策として、宿泊施設の整備で容積率を緩和する

30日、東京五輪・パラリンピック
る2020年に、訪日外国人旅行
万人に増やし、消費額を8兆円
ける新たな目標を盛り込んだ観光
めた。いずれも15年の2倍超。日
財をアピール、地方空港への航空
増やし、訪問先を大都市以外に分
人口減少が進む地方の活性化に
と強調し、東日本大震災の復興に
北の観光振興も重点に掲げた。た
く深刻な宿泊施設不足対策など課
新目標の達成は容易ではない。

安倍
光ビジ
れたく
観光を
る」と
産（G
の観　現に向けた「エンジン」と
「訪　する考えを示した。
す。」　訪日客を増やし、東京や
させ　大阪など「ゴールデンルー
総生　ト」に偏る訪問先を地方に
円実　広げるため、地方空港の着

陸料を軽減し、格安航空会社（LCC）などの就航を促進する。

潜在力の大きい市場である中国、フィリピン、ベトナム、インド、ロシアを対象にビザ緩和を戦略的に実施するとした。

神社や城郭、伝統芸能を観光資源として活用し、全国200カ所程度を、文化財を核とした拠点と位置付ける。魅力的な街並みを整備するため、全国の半数の市区町村で景観計画の策定を求める。多くの言語によるガイドも充実させる。

平均の客室稼働率が大阪府や東京都で80%を超えるなど大都市を中心に深刻な宿泊施設不足対策として、民泊の推進や、宿泊施設整備を対象とした容積率緩和を盛り込んだ。

「観光ビジョン構想会議」であいさつ

では、来日が2回
「リピーター」を
万人（現状の約2
大都市圏以外の地
する外国人の延べ
万人（同3倍弱）
国内旅行市場も活
、日本人の消費額
る。30年の目標値
訪日客数6千万人、

消費額15兆円とした。
円安傾向を背景に、ビザの発給要件の緩和や免税対象品目の拡大もあり、15年の訪日客数と消費額は1974万人、3兆4771億円となった。従来目標（2千万人、4兆円）の早期達成が視野に入り、政府が引き上げを検討していた。

シャープ買収
鴻海が決定

台湾の鴻海（ホンハイ）精密工業は30日の取締役会で、経営再建中のシャープを買収することを決めた。シャー
日、出資額を約1千
き下げて3888億
らす条件変更の受け
決めた。4月2日に

高橋社長

社長が、両社が共
する堺工場（堺市）
会見を開く。（4面
記事）

シャープは2月25
海の傘下入りを決め
財務リスクをめぐり

長期化。鴻海の
ープ側が大幅に
で、異例の交渉
決着した。
郭会長はコメ

子宮頸がん
「ワクチン副作用」
集団で賠

子宮頸がんワクチンの接種を受け、全身の痛みやしびれなど副作用を訴える女性たちが、国と製薬
社に損害賠償を求め
訴訟を7月までに起

「女性活躍推進法」
もう行動計画の届出は済みましたか？
明日4月1日より、行動計画の策定・届出・周知・公
TEL097-532-4025

大分合同新聞 プレミアムオンライン Gate ゲート
①大分が初出場で準V
②県病に「精神科病院」
③舞鶴高生が優秀賞に
アクセスランク 詳細は25面

中部　⑩庄内の和菓子考える

社会　㉕旧経営陣全員が和解

他　毎日新聞、読売新聞、西日本新聞がfollow

1.　人格的に優れた研究チームリーダー

2.　実験者としての技量が非常に優れている

3.　分子の研究でなく、病気を研究するという病理学の立場を重視。

18年間の業績の評価と総括

1. 腎癌

① 悪性化に関わる遺伝子異常　松浦、中田、三股、吉本、井上、成松、高橋、甲斐、(守山)

② 異常発現するmicroRNA　中田、塚本

2. 胃癌

① 胃癌のゲノムプロファイルの作成とその病理学的意義　塚本、野口(剛)、村上、内田(政)、黒田、平下

② 胃癌に対する分子標的治療　塚本、平下

③ 胃癌で異常発現するmicroRNA　塚本、中田

④ ピロリ菌感染と胃癌発症の関連性　内田、山岡、藤岡、村上、Tung、金田、

3. 膵癌

① 上皮内癌が浸潤癌に進行するメカニズムの解明　泥谷、黒木、一万田、Ratsada、木下

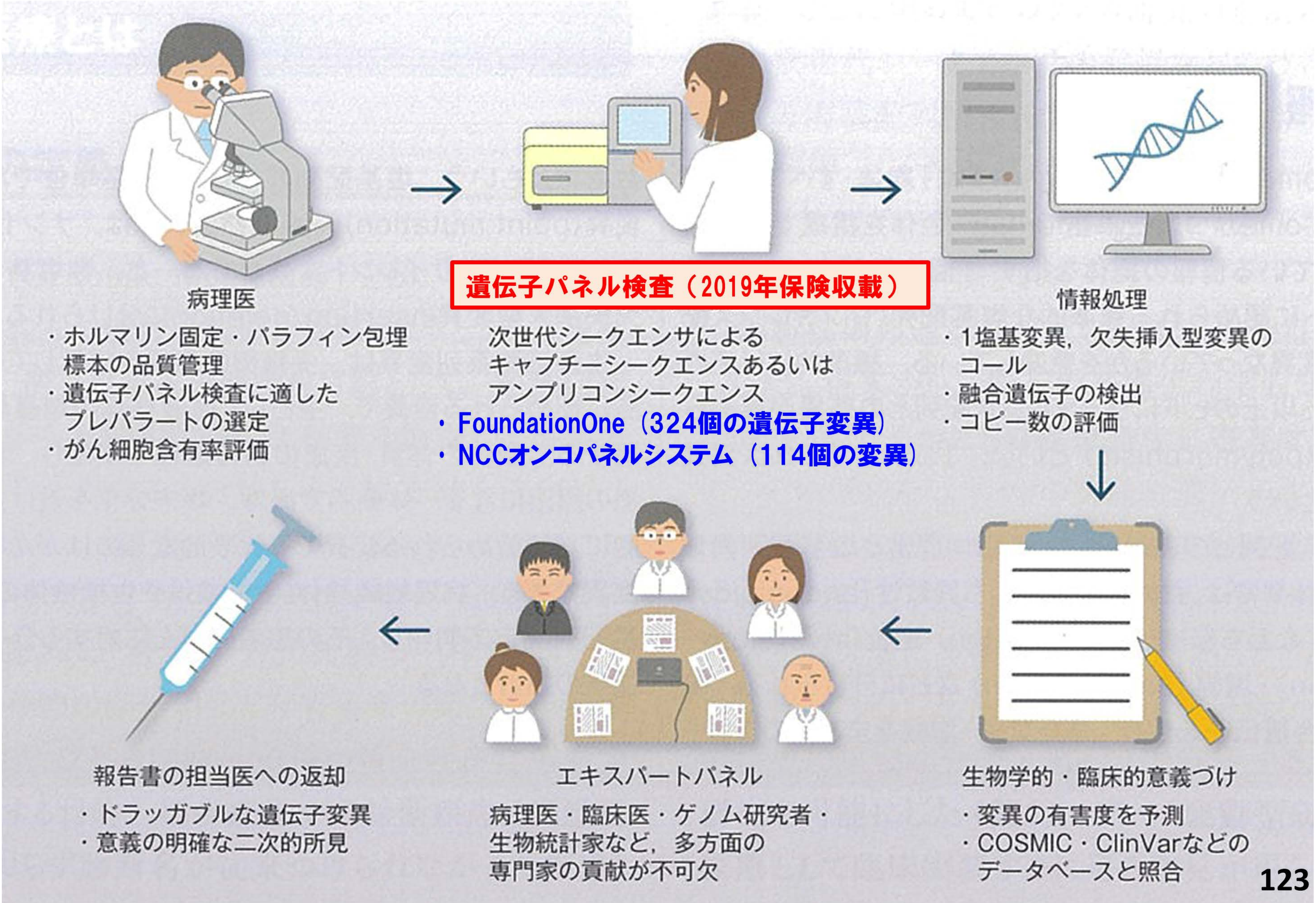
② 膵癌の進行メカニズムに基づく治療戦略の提案　泥谷、天田

4. ポスト癌ゲノム時代の新しい個別化癌化学療法の開発

① 患者癌組織(癌オルガノイド)を用いた個別化癌化学療法

塚本、泥谷、麓、柴田、平下、黒木、木下、渕野

がんゲノム医療の行程



病理医

・ホルマリン固定・パラフィン包埋標本の品質管理
・遺伝子パネル検査に適したプレパラートの選定
・がん細胞含有率評価

遺伝子パネル検査（2019年保険収載）

次世代シークエンサによるキャプチーシークエンスあるいはアンプリコンシークエンス

- **FoundationOne（324個の遺伝子変異）**
- **NCCオンコパネルシステム（114個の変異）**

情報処理

・1塩基変異，欠失挿入型変異のコール
・融合遺伝子の検出
・コピー数の評価

生物学的・臨床的意義づけ

・変異の有害度を予測
・COSMIC・ClinVarなどのデータベースと照合

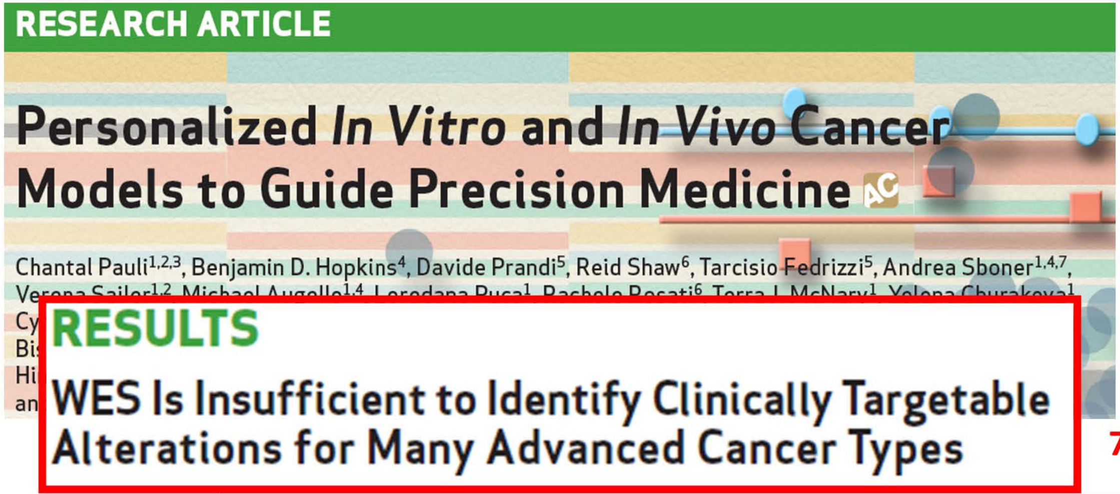
エキスパートパネル

病理医・臨床医・ゲノム研究者・生物統計家など，多方面の専門家の貢献が不可欠

報告書の担当医への返却

・ドラッガブルな遺伝子変異
・意義の明確な二次的所見

残念ながら全エクソンシークエンス（WES）により分子標的薬を探し出せる症例は10％程度にすぎない（適応できる患者がないわけではないが、、、、）



RESEARCH ARTICLE

Personalized *In Vitro* and *In Vivo* Cancer Models to Guide Precision Medicine

Chantal Pauli[1,2,3], Benjamin D. Hopkins[4], Davide Prandi[5], Reid Shaw[6], Tarcisio Fedrizzi[5], Andrea Sboner[1,4,7], Verona Sailer[1,2], Michael Augello[1,4], Loredana Puca[1], Rachele Rosati[6], Terra J. McNary[1], Yelena Churakova[1]

RESULTS

WES Is Insufficient to Identify Clinically Targetable Alterations for Many Advanced Cancer Types

(Cancer Discovery, Pauli et al., 462-477, MAY 2017)

74 /737 症例しか分子標的薬の適用にならない!!

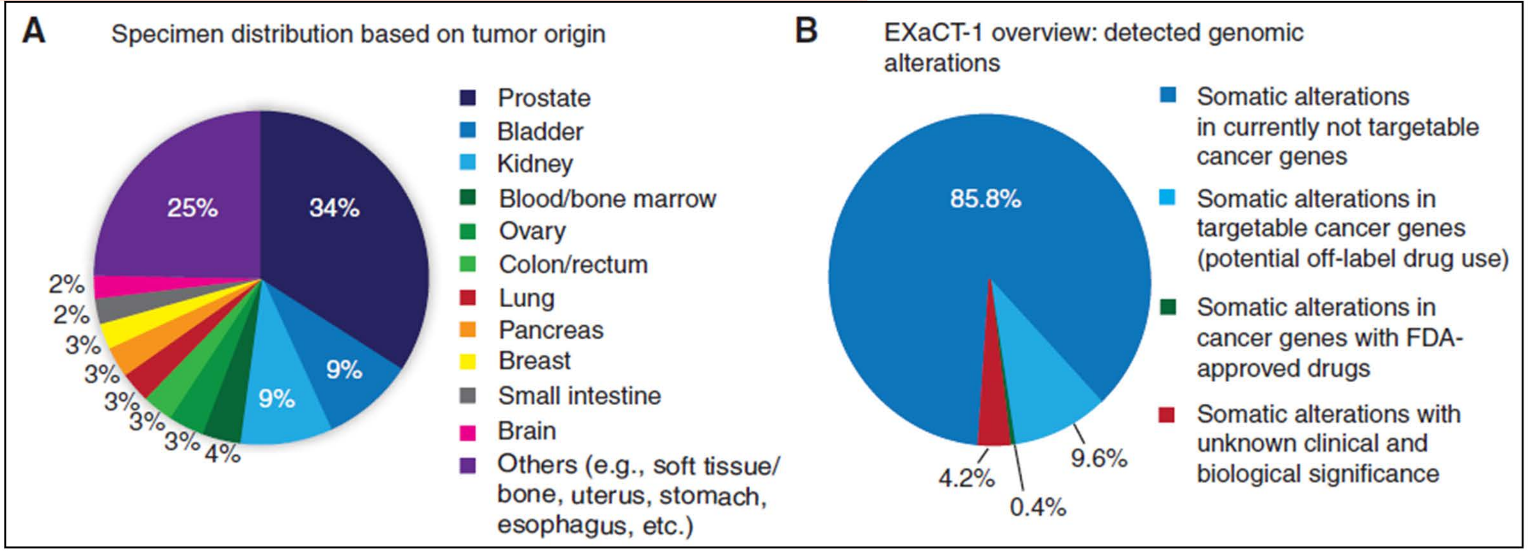
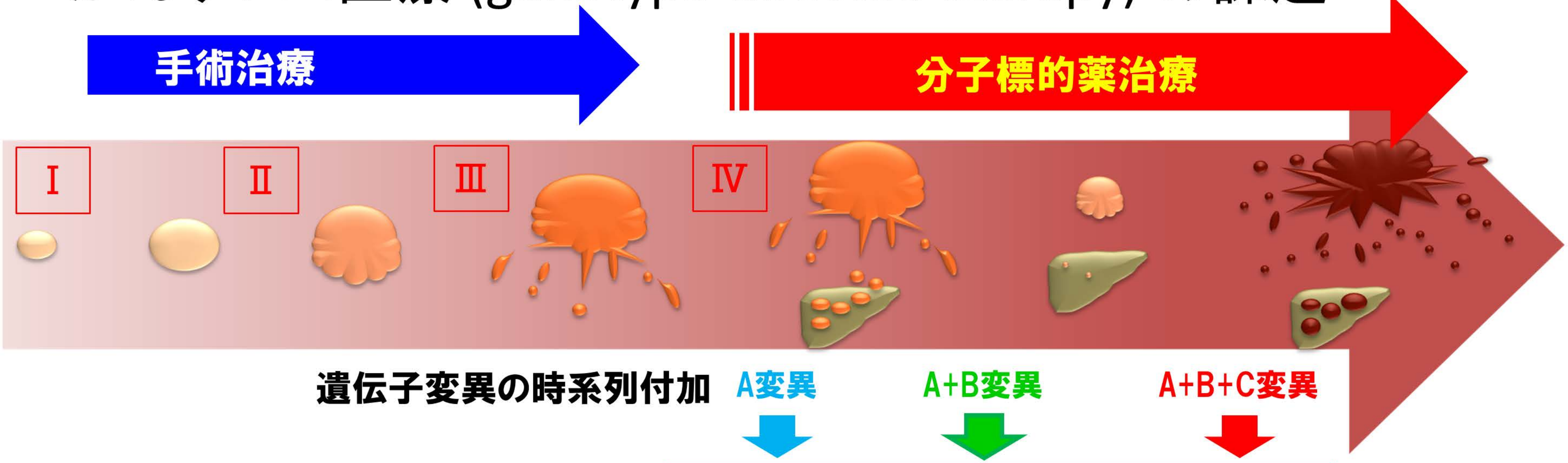


Figure 1. WES detects a limited number of clinically targetable alterations in patients with advanced cancer. **A,** Overview of the sites of origin of specimen collected from patients and run through the EXaCT-1 test. The majority of these samples were taken from metastatic sites of patients with advanced disease. **B,** WES has been performed on a total of 769 specimens. Data presented here also include large-scale deletions (>50 genes), and each gene is individually included in the analysis. In 85.8% (660/769) of the cases sequenced, somatic alterations in currently not targetable cancer genes were detected. In total, three cases (0.4%), two gastrointestinal stromal tumors (GIST) with an activating *KIT* mutation and a clear cell renal cell carcinoma with a *BRAF* mutation, have FDA-approved drugs available. In 9.6% (71/737) of these, there are somatic alterations in cancer genes that could be clinically actionable by off-label use of approved drugs; however, clinical efficacy has not been proven. In 4.2% (32/737) of the cases, we did not detect any somatic altera-

がんゲノム医療 (genotype-directed therapy) の課題



遺伝子変異の時系列付加　**A変異**　**A+B変異**　**A+B+C変異**

時系列で異なる分子標的薬の必要性

現状と課題

1） エクソンシーケンスで標的が見つかり、分子標的薬が決まるのは、**約10～20%**（*Cancer Discov,*2017）

2） 分子標的薬に対する感受性は**時系列で変化**すると可能性が高い**（治療を重ねるにつれて）**

3） 治療抵抗性の獲得は**エピゲノムレベルの**メカニズムも指摘されている（*Cancer Cell* 2020）

4） 標的遺伝子が同定されてもそれをターゲットする**薬剤開発ができていない**。

5） そもそも**VUSが多く**、候補を絞り込めない（全ての遺伝子の機能がわかっているわけでない）。

＊VUS: variant of unknown significance

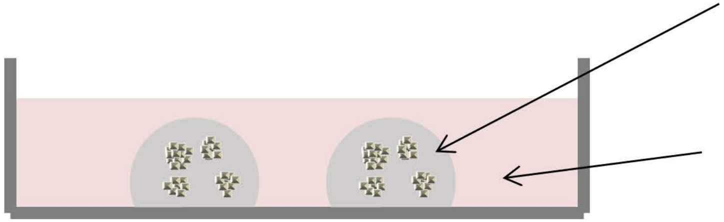
6） 強力なドライバーがなく、**力の弱い癌関連遺伝子の異常の蓄積**で癌化するケースが多い可能性。

我々の仮説

➡ **治療薬選択に患者本人由来の癌オルガノイドを用いた感受性試験を導入したい（個別化癌化学療法の可能性）**

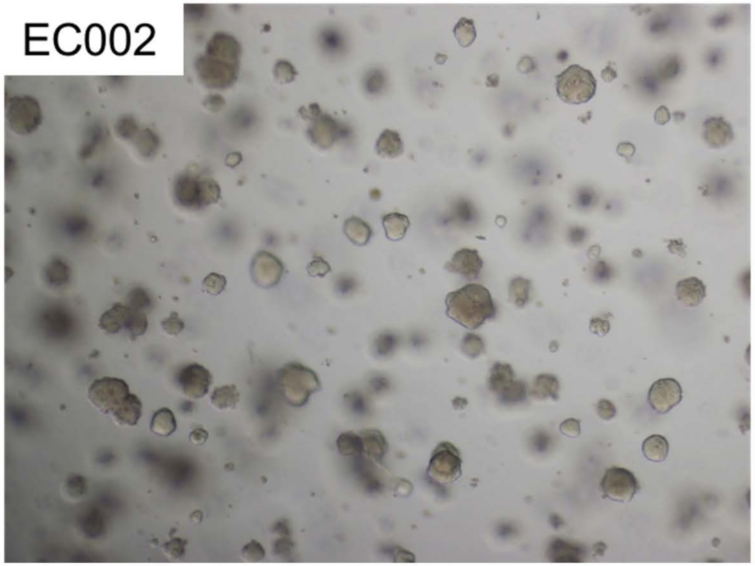
癌オルガノイドとは？

手術や内視鏡により採取されたがん細胞を生体に近い環境で立体培養する方法

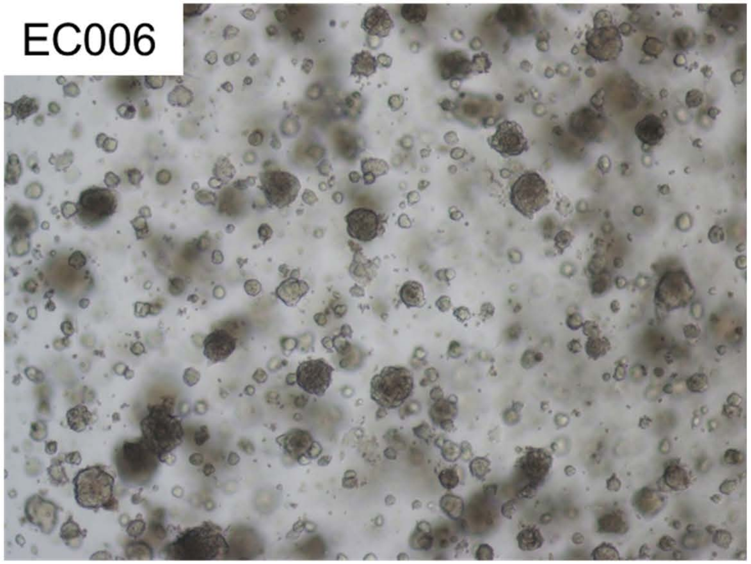


マトリゲル（細胞外基質）

特殊培地 (R-spondin, Noggin, EGF, B27, Nicotinamide,
N-acetyl- cysteine in Advanced DMEM/F12)



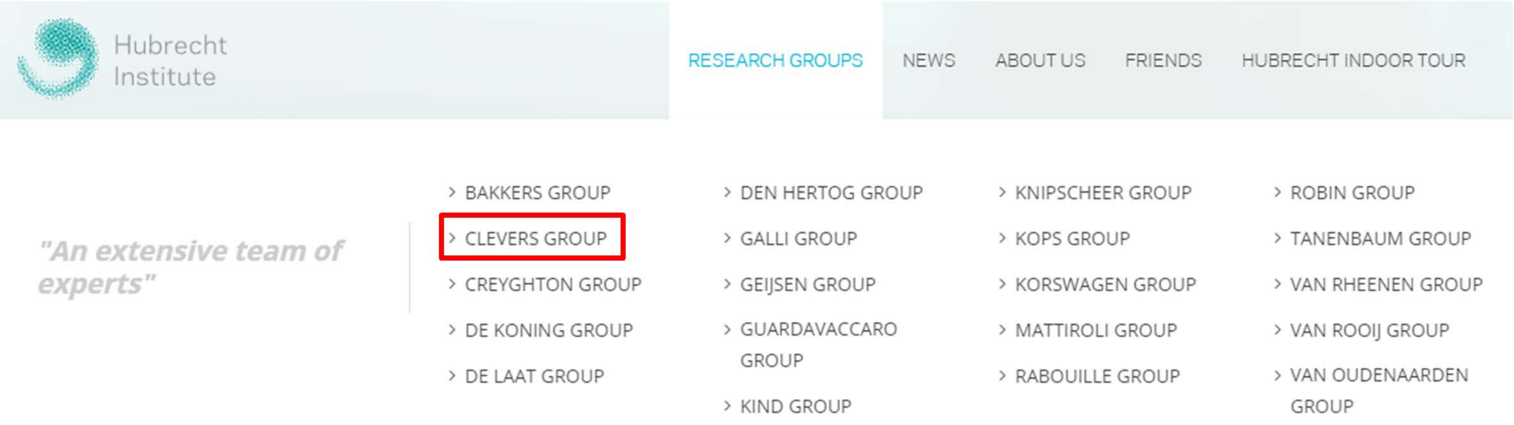
EC002



EC006

組織採取後、2-3週間で樹立. 成功率 40-70%、凍結保存・パッセージ可能.

2016-17: JSPS国際共同研究強化
オルガノイドを開発したHuburecht Institute Clevers group



Hubrecht Institute

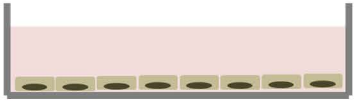
RESEARCH GROUPS
NEWS
ABOUT US
FRIENDS
HUBRECHT INDOOR TOUR

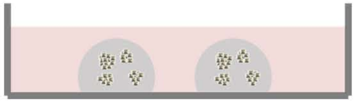
"An extensive team of experts"

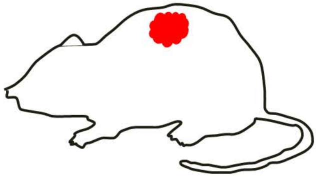
- BAKKERS GROUP
- CLEVERS GROUP
- CREYGHTON GROUP
- DE KONING GROUP
- DE LAAT GROUP
- DEN HERTOG GROUP
- GALLI GROUP
- GEIJSEN GROUP
- GUARDAVACCARO GROUP
- KIND GROUP
- KNIPSCHEER GROUP
- KOPS GROUP
- KORSWAGEN GROUP
- MATTIROLI GROUP
- RABOUILLE GROUP
- ROBIN GROUP
- TANENBAUM GROUP
- VAN RHEENEN GROUP
- VAN ROOIJ GROUP
- VAN OUDENAARDEN GROUP

Technician; 13
Post doc; 17
PhD student; 11
Master student; 6
etc..

抗がん剤効果の生物学的評価系の比較







	Cell line	Patient Derived Organoid	Patient Derived Xenograft
長所	ドラッグスクリーニングが容易である 維持しやすい	**樹立まで期間が短い（3週間くらい）** **樹立の成功率が高い（50%以上）** ドラッグスクリーニング可能	最も患者の腫瘍を反映したモデル 腫瘍異種性や癌-間質作用も反映する
短所	**樹立まで期間が長い（数か月）** **樹立の成功率が低い（1-10%）** **遺伝子変異が蓄積する**	癌-間質作用は反映されない	**時間と費用が莫大にかかる**

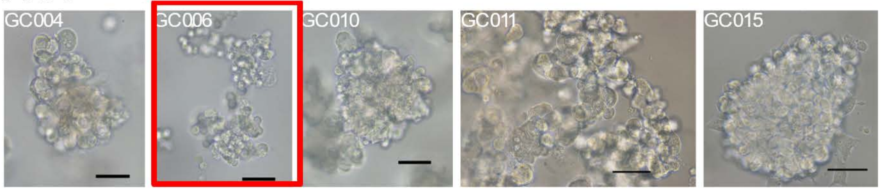
フィードバック ×

患者へのフィードバックが可能

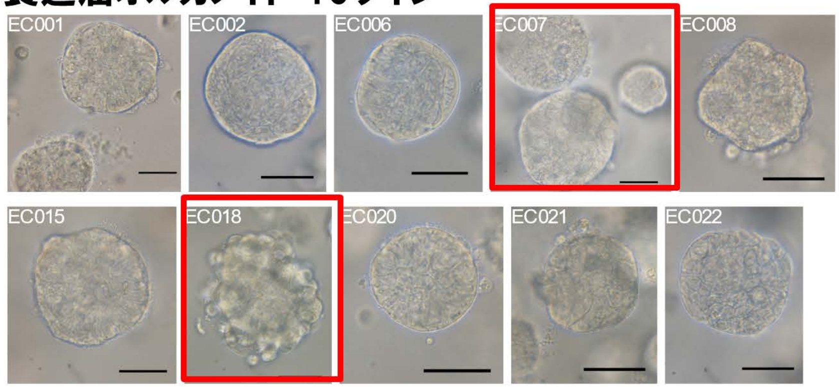
フィードバック ×

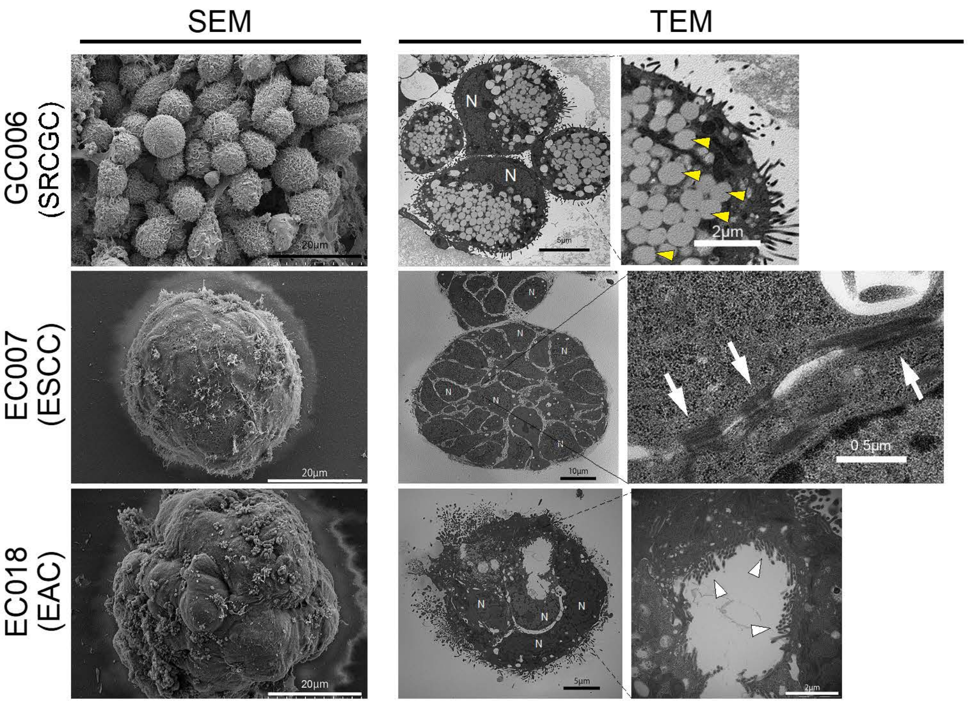
胃・食道癌オルガノイドの樹立

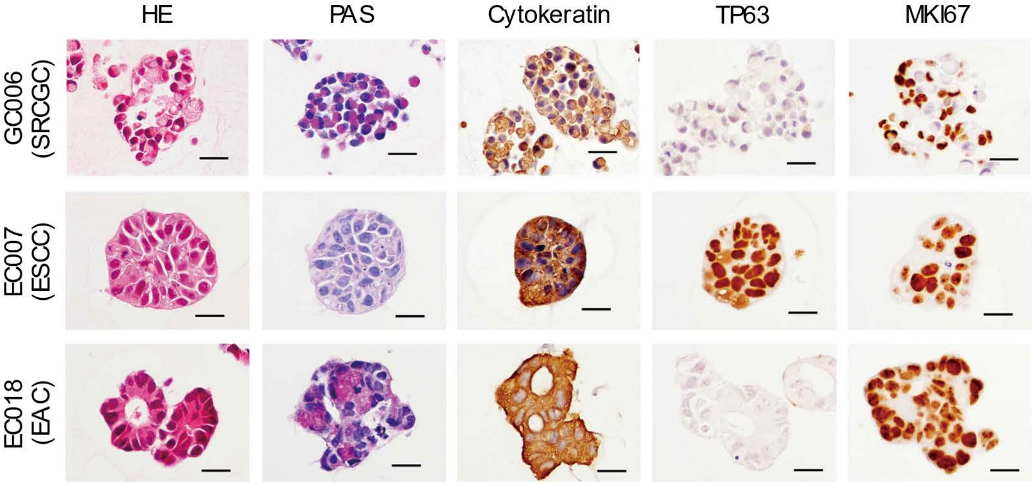
胃癌オルガノイド 5ライン



食道癌オルガノイド 10ライン





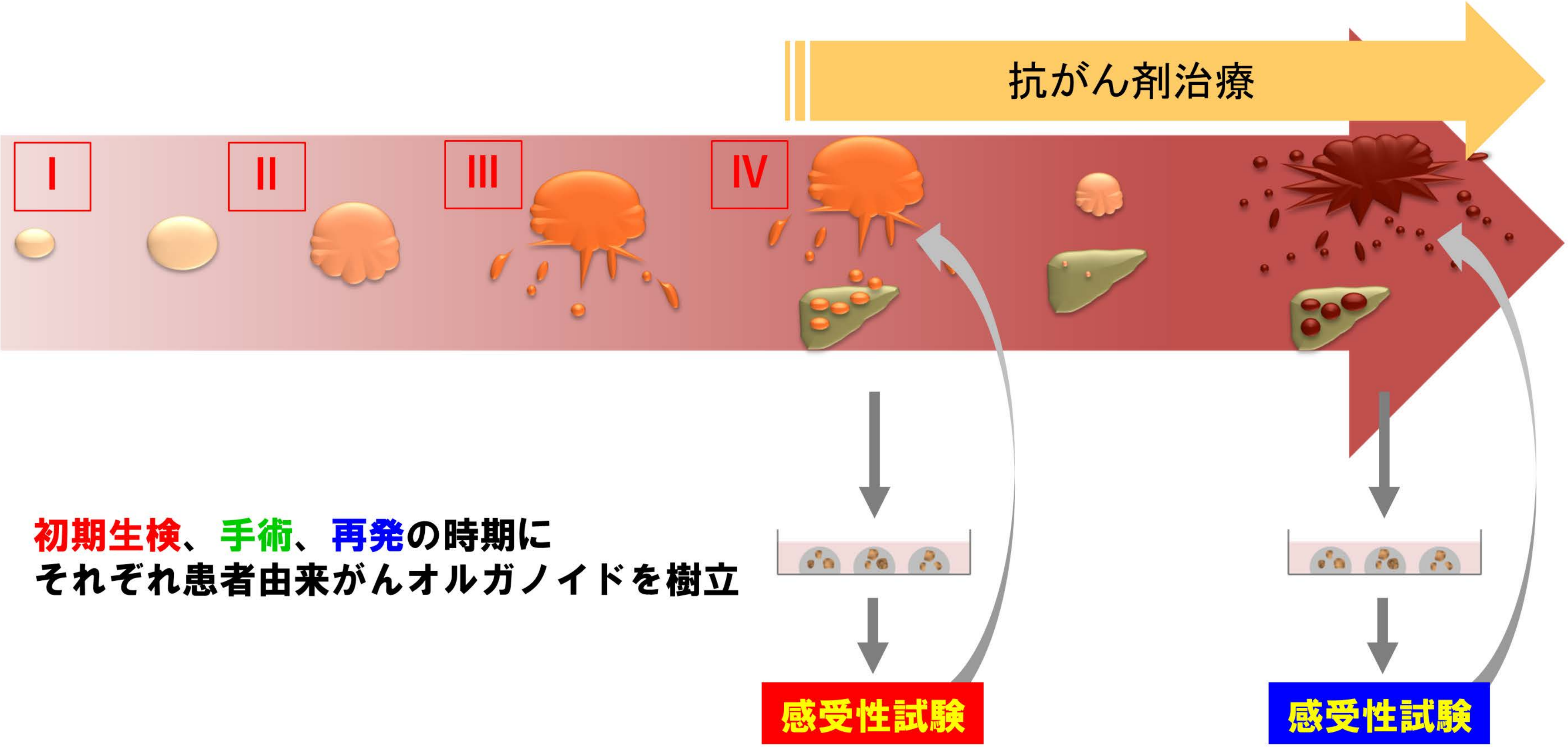


Kijima and Nakagawa et al, *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2018
Driehuis et al, *Cancer Discov* 2019
の方法に従い樹立

樹立された癌オルガノイドは由来する組織の特徴を持つ

Tsukamoto, Lab Invest, in press

がんオルガノイドの個別化医療への応用

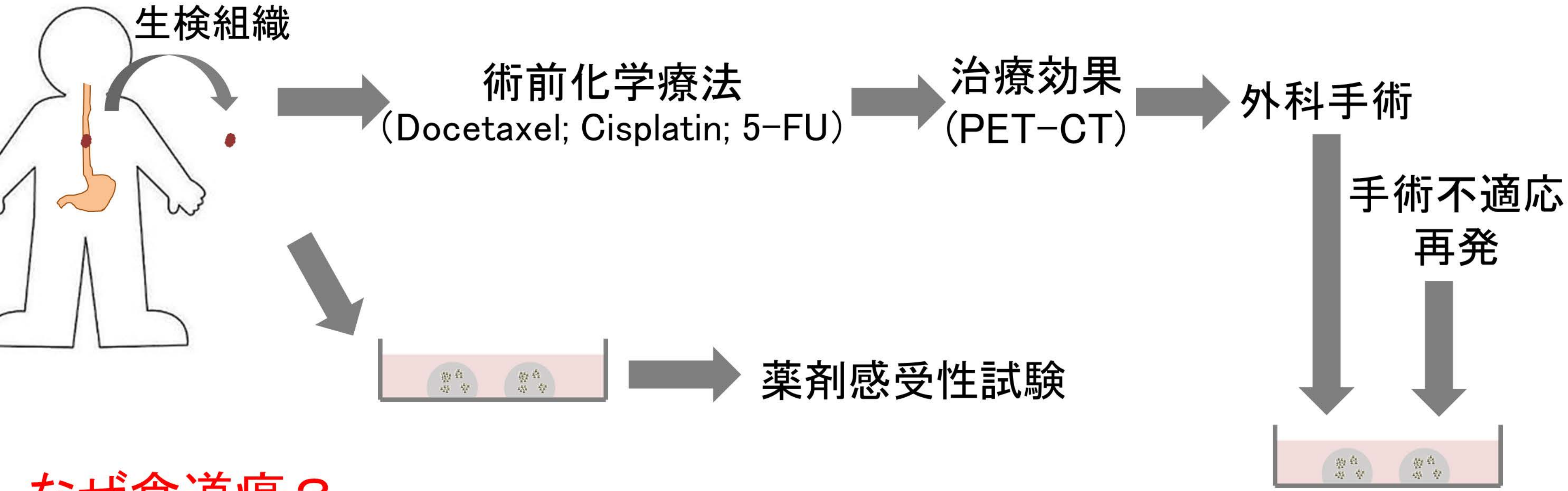


初期生検、**手術**、**再発**の時期に
それぞれ患者由来がんオルガノイドを樹立

がんの進展や治療介入により性質が変化した際に、
それぞれの時期の患者のがん細胞を取り出し、
生物学的に治療薬への感受性を評価する

我々のこれからのチャレンジ（１）

ーオルガノイド培養を用いた食道癌の個別化医療の試み(細胞障害性抗がん剤への応用)ー



生検組織

術前化学療法
（Docetaxel; Cisplatin; 5-FU）

治療効果
（PET-CT）

外科手術

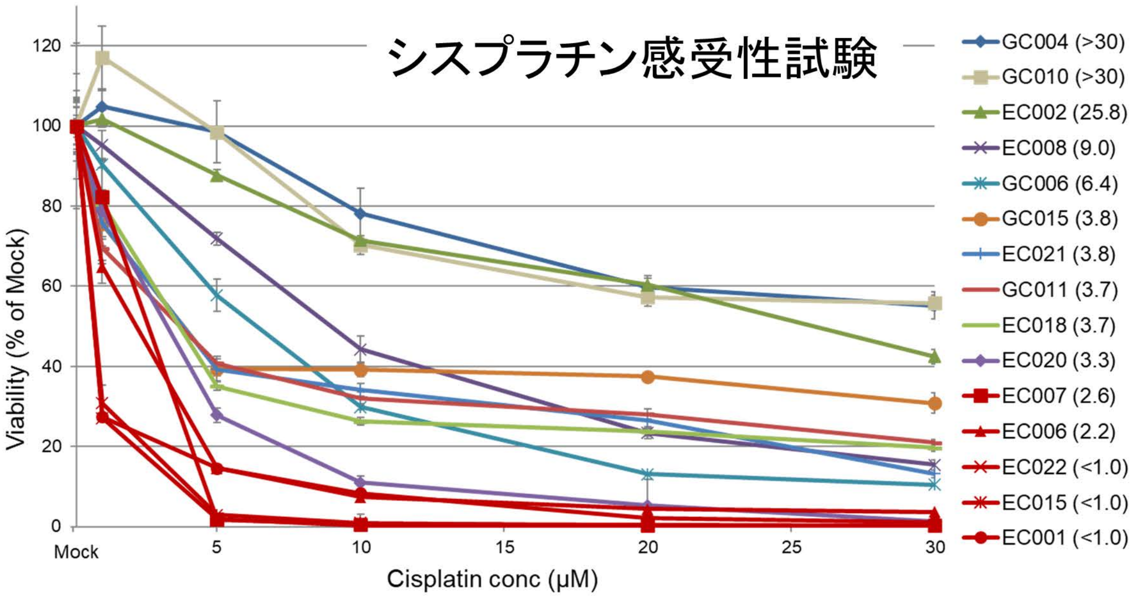
手術不適応
再発

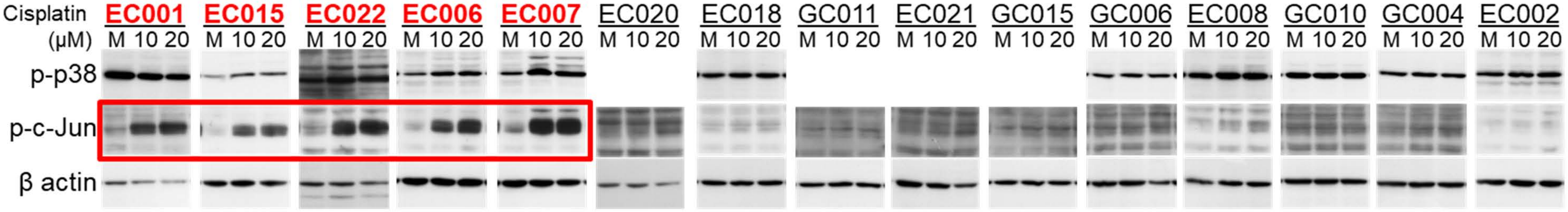
薬剤感受性試験

なぜ食道癌？

✓ **オルガノイド培養が技術的に安定している**
✓ **治療標的遺伝子が未知で古典的細胞障害性抗がん剤が主力**
✓ **術前化学療法がスタンダードである**
✓ **同一患者から治療前後に組織採取可能**

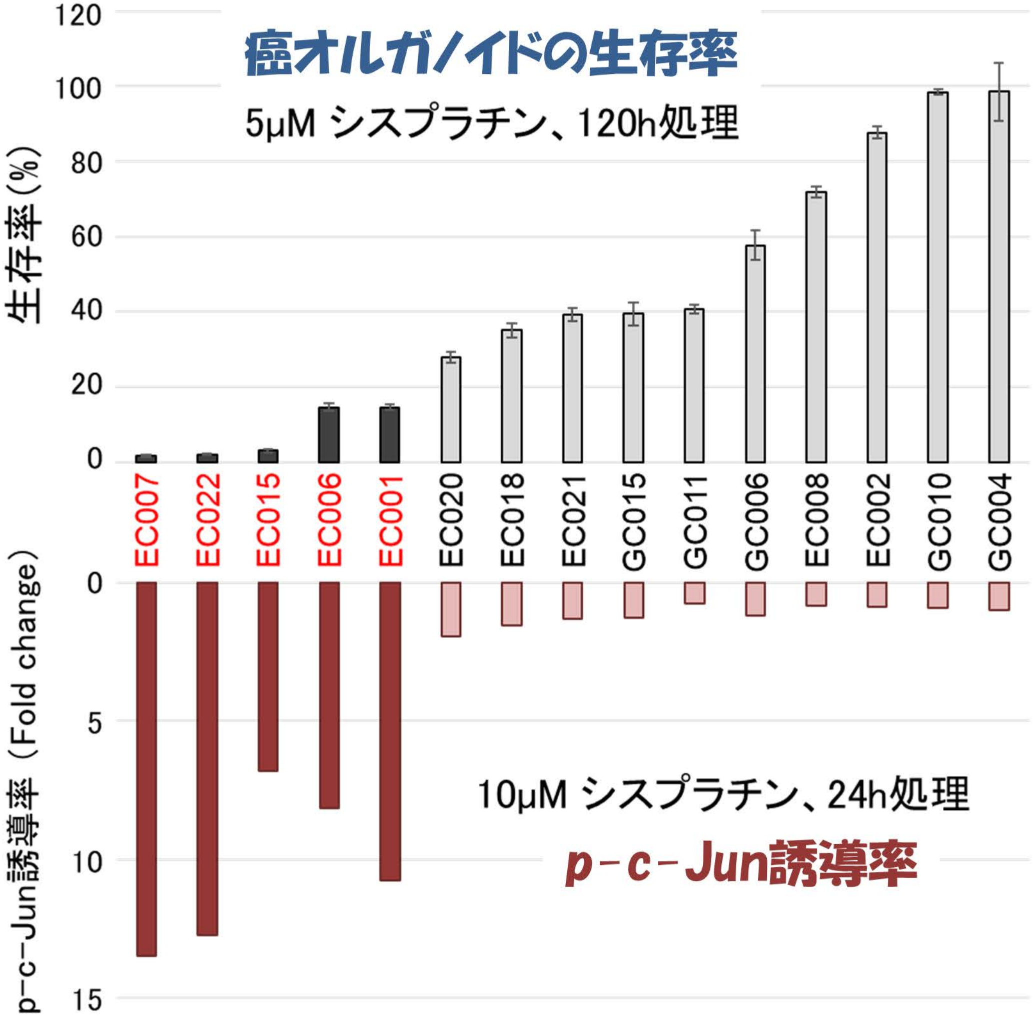
シスプラチン投与後のJunリン酸化誘導例は シスプラチン感受性が高い





Tsukamoto, Lab Invest, in press

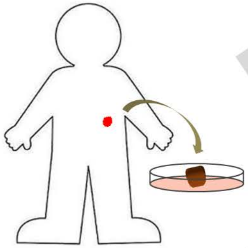
シスプラチンへのオルガノイドの感受性はJunリン酸化と相関



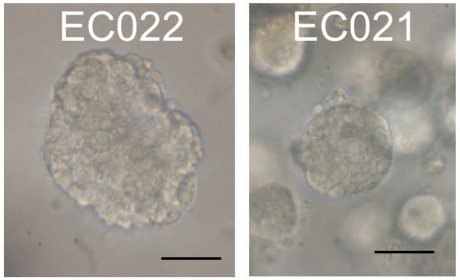
Pearson's r = -0.751
p = 0.0012

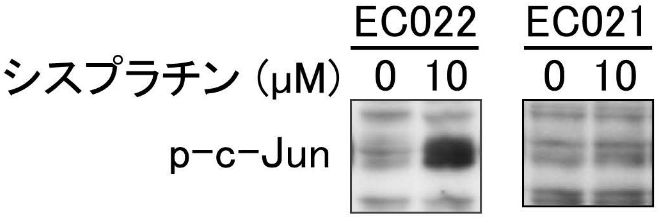
Tsukamoto, Lab Invest, in press

シスプラチン処理後のc-Junリン酸化と臨床的治療効果を比較した



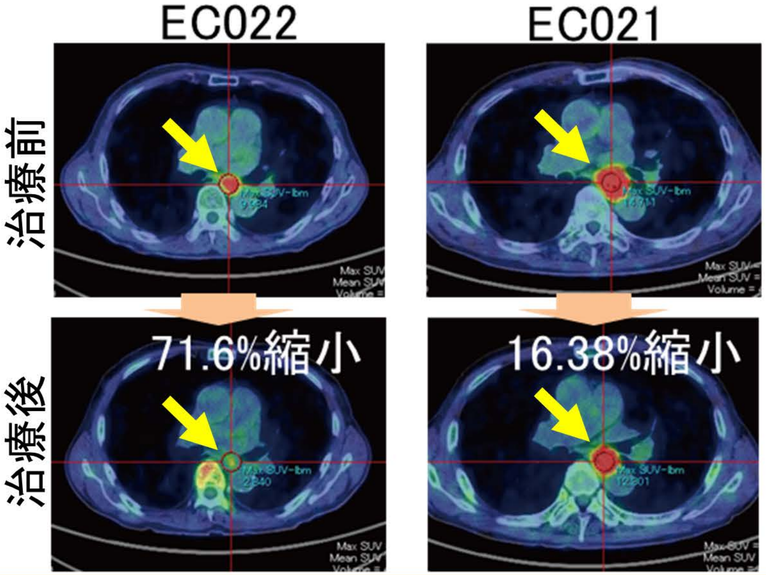
癌オルガノイド





シスプラチン処理後、EC022のみで
p-c-Junが強く誘導された

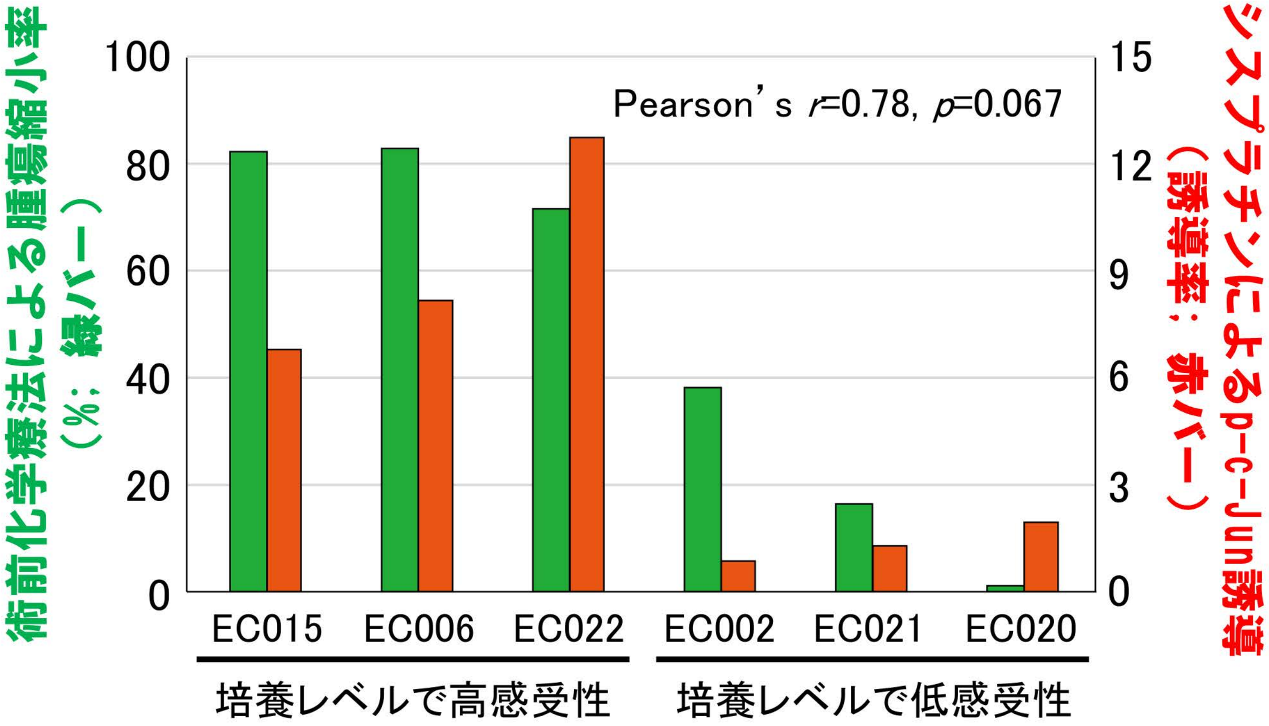
食道癌術前化学療法
（ドセタキセル、シスプラチン、5FU）



EC022で腫瘍縮小率が大きく、治療効果が高い

Tsukamoto, Lab Invest, in press

シスプラチン処理後のc-Jun活性化は腫瘍縮小率と相関する



癌オルガノイドのシスプラチン処理後のc-Junリン酸化レベルが術前化学療法による腫瘍縮小率と相関する傾向が認められた（p=0.067）

Tsukamoto, Lab Invest, in press

食道癌個別化治療法開発 共同研究チーム

大分大学医学部 分子病理学講座

代表：塚本善之、黒木秀作、中田知里、泥谷直樹　&守山正胤

大分大学医学部 消化器・小児外科学講座

柴田智隆、鈴木浩輔、**麓祥一**、猪股雅史

大分大学医学部 消化器内科学講座

平下有香、村上和成

大分大学医学部 腫瘍・血液内科学講座

廣中秀一

国立研究開発法人 国立がん研究センター
先端医療開発センター　バイオマーカー探索TR分野

柳原五吉

熊本大学大学院生命科学研究部 総合分子医学分野

喜多加納子

Hubrecht Institute, Clevers group (オルガノイド技術、コンディション培地)

Hans Clevers

研究外部資金

① **科研費 「国際共同研究強化」**

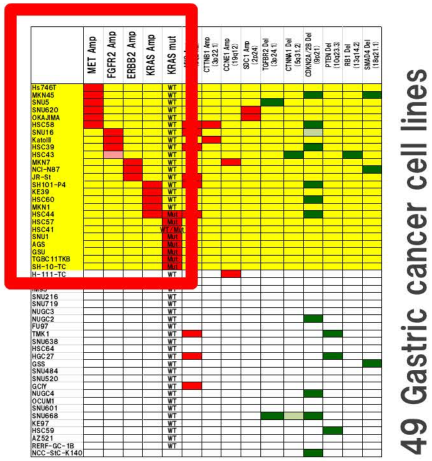
② **科研費 「基盤研究B」**

③ **AMED 「シーズA」**

④ **武田科学振興財団**
「医学系研究助成」

我々のこれからのチャレンジ（2）

ーオルガノイド培養とバイオマーカーを用いた胃癌と大腸癌の個別化分子標的治療の試みー



	MET Amp	FGFR2 Amp	ERBB2 Amp	KRAS Amp	KRAS mut	[illegible]	CTTNB1 Amp (3p22.1)	CCNE1 Amp (19q12)	SDC1 Amp (2p24)	TGFBR2 Del (3p24.1)	CTNNA1 Del (5q31.2)	CDKN2A/2B Del (9p21)	PTEN Del (10q23.3)	RB1 Del (13q14.2)	SMAD4 Del (18q21.1)
Hs746T	🟥				WT										
MKN45	🟥				WT							🟩			🟩
SNU5	🟥				WT					🟩					
SNU620	🟥				WT				🟥						
OKAJIMA	🟥				WT				🟥						
HSC58	🟥				WT	🟥	🟥					🟩			
SNU16		🟥			WT	🟥						▨			
KatoIII		🟥			WT		🟥								
HSC39		🟥			WT	🟥						🟩			
HSC43		▨			WT						🟩			🟩	
MKN7			🟥		WT			🟥							
NCI-N87			🟥		WT										🟩
JR-St			🟥		WT	🟥									
SH101-P4				🟥	WT	🟥						🟩			
KE39				🟥	WT										
HSC60				🟥	WT							🟩			
MKN1				🟥	WT										
HSC44				🟥	Mut	🟥						🟩			
HSC57					Mut										
HSC41					WT / Mut										
SNU1					Mut										
AGS					Mut										
GSU					Mut										
TGBC11TKB					Mut										
SH-10-TC					Mut										
H-111-TC					WT			🟥							
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]									
[illegible]					WT										
SNU216					WT										
SNU719					WT										
NUGC3					WT										
NUGC2					WT							🟩			
FU97					WT										
TMK1					WT	🟥							🟩		
SNU638					WT										
HSC64					WT										
HGC27					WT	🟥							🟩		
GSS					WT										🟩
SNU484					WT										
SNU520					WT										
GCIY					WT	🟥									
NUGC4					WT							🟩			
OCUM1					WT										
SNU601					WT										
SNU668					WT					🟩	▨	🟩			
KE97					WT										
HSC59					WT								🟩		
AZ521					WT										
RERF-GC-1B					WT										
NCC-StC-K140												🟩			

RTK/KRAS異常をmutually exclusiveに認めたことを治療に応用したい（仮説）！

有効な薬剤を治療前に予測するバイオマーカーの同定も実現したい（仮説）！

- MEK阻害薬が有効な胃癌細胞ではS6のリン酸化は低レベルである

Hirashita et al., Cancer Science, 2016

- 大腸癌オルガノイドにおけるMEK阻害剤への感受性はKRASやBRAF変異の有無ではなく、S6リン酸化の低下を測定することで予測可能である。

Hirashita et al., Laboratory Investigation, 2021

Cancer Science, 107:1919-28, 2016　　IF: 6.716

MEK阻害薬が有効な胃癌細胞では S6のリン酸化は低レベルである

Reduced phosphorylation of ribosomal protein S6 is associated with sensitivity to MEK inhibition in gastric cancer cells

Yuka Hirashita,[1,2] Yoshiyuki Tsukamoto,[1] Kazuyoshi Yanagihara,[3] Shoichi Fumoto,[4] Naoki Hijiya,[1] Chisato Nakada,[1] Tomohisa Uchida,[1] Keiko Matsuura,[5] Masaaki Kodama,[2] Tadayoshi Okimoto,[2] Tsutomu Daa,[6] Masataka Seike,[2] Hidekatsu Iha,[7] Kuniaki Shirao,[8] Kazunari Murakami[2] and Masatsugu Moriyama[1]

[1]Department of Molecular Pathology, Faculty of Medicine, Oita University, Oita; [2]Department of Gastroenterology, Faculty of Medicine, Oita University, Oita; [3]Division of Biomarker Discovery, Exploratory Oncology Research and Clinical Trial Center, National Cancer Center, Chiba; [4]Department of Gastroenterological and Pediatric Surgery, Faculty of Medicine, Oita University, Oita; [5]Department of Biology, Faculty of Medicine, Oita University, Oita; [6]Department of Diagnostic Pathology, Faculty of Medicine, Oita University, Oita; [7]Department of Microbiology, Faculty of Me
[8]Department of Medical Oncology and Hematology, Faculty of Medicine, Oita University, Oita, Japan

Key words
Gastric cancer, MEK inhibitor, mTORC1, receptor tyrosine kinase, ribosomal protein S6

Correspondence
Yoshiyuki Tsukamoto, Department of Molecular Pathology, Faculty of Medicine, Oita University, Hasama-machi, Yufu City, Oita 879-5593, Japan.
Tel: +81-97-586-5693; Fax: +81-97-586-5699;
E-mail: tuka@oita-u.ac.jp

Funding Information
Oita University

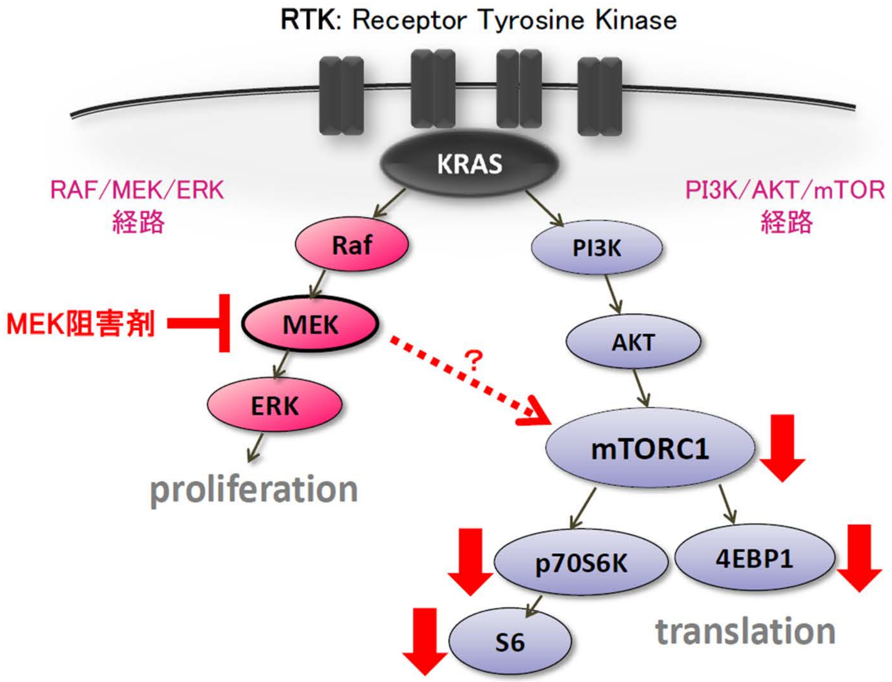
Received June 2, 2016; Revised September 23, 2016; Accepted September 27, 2016

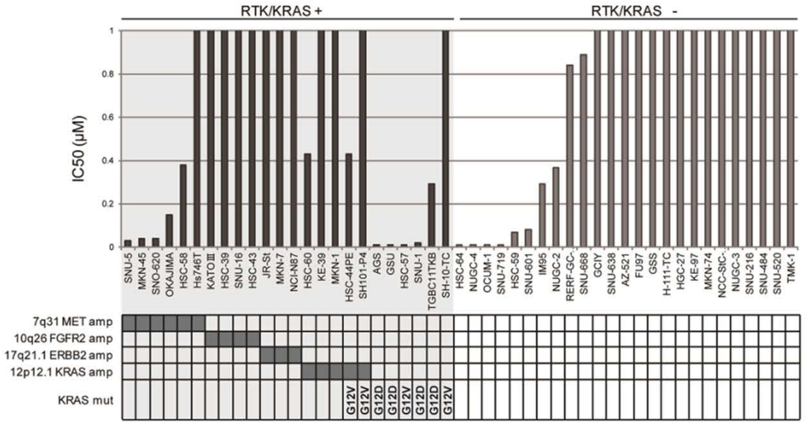
Cancer Sci (2016)

Gastric cancer (GC) is characterized by amplifications of
(RTK) and *KRAS*, therefore, targeting of the RTK/KRA
could help to broaden the applicability of molecular tar
assembled a panel of 48 GC cell lines and screened pre
to inhibition of the RAF/MEK/ERK pathway, one of th
pathways. We found that GC cells with *MET* amplificati
not amplification, tended to be sensitive to MEK inhibit
lines without RTK/KRAS alterations also showed high
tion. We then focused on the phosphorylation of RTK
cules to screen for predictors' sensitivity to MEK inhib
phosphorylation level of mammalian target of rapamy
downstream molecules, including p70S6K, 4EBP1, and S
ated with sensitivity to MEK inhibition in GC cells (
mTORC1 activity is related to the sensitivity to MEK in
change in mTORC1 activity after MEK inhibition was al

MEK阻害薬投与後のS6リン酸化の低下する胃癌細胞は感受性が高い

Hirashita et al, Cancer Science, 107:1919-28, 2016　　IF: 6.716





胃癌細胞48株について、MEK阻害薬の効果と細胞内シグナル変化をin vitroで調べ、効果予測因子（バイオマーカー）の同定を試みた。

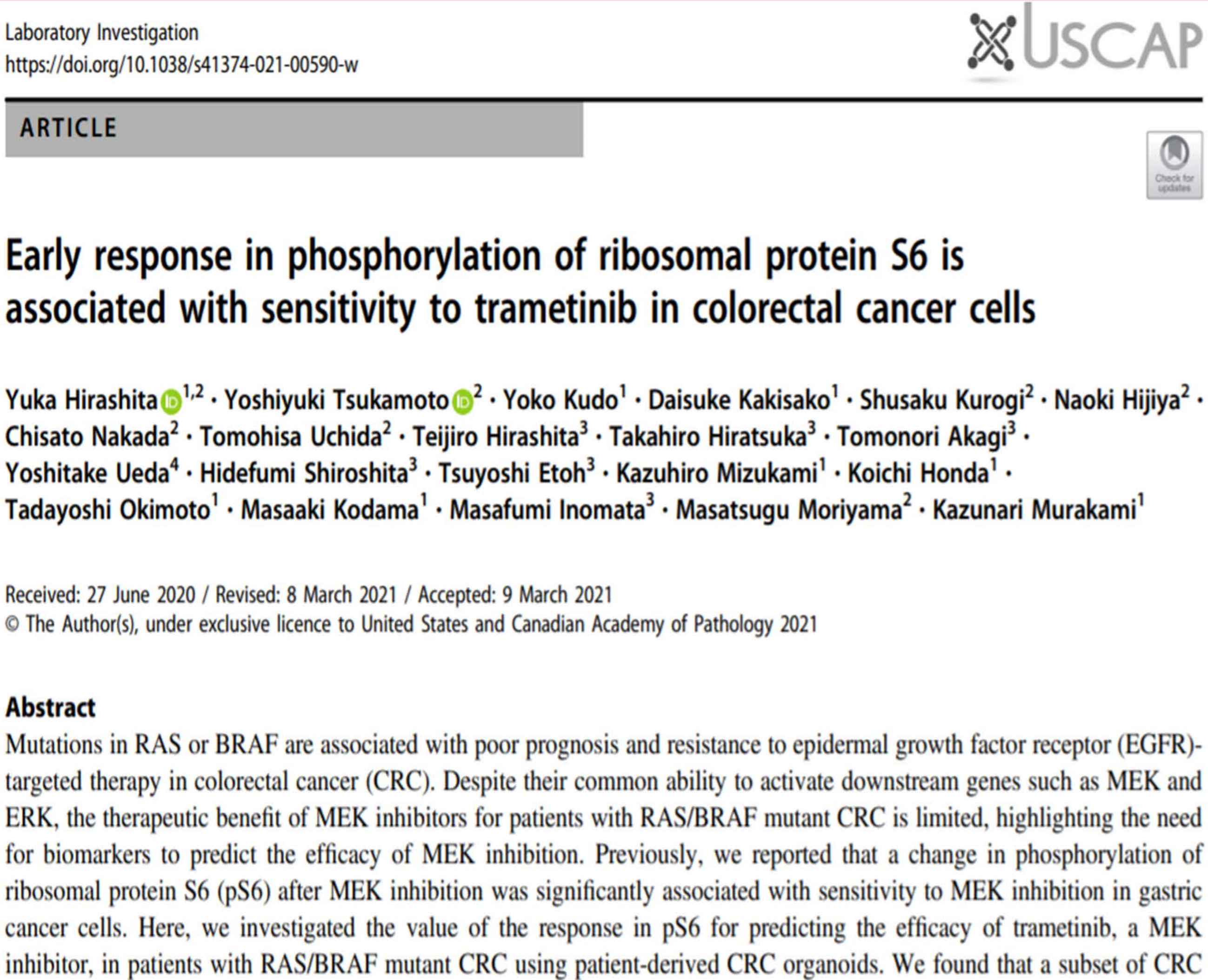
胃癌細胞48株をMEK阻害剤で処理すると、

1. 多くの細胞株に共通して、**ERKの活性が低下**した
2. 高感受性株特異的に**mTORC活性の低下**が認められた
3. mTORC下流の中でも特にRibosomal **S6リン酸化（pS6）の低下と感受性の相関が高い**

→ MEK阻害剤効果予測因子として、**「MEK阻害剤処理後のpS6変化」**を同定

Laboratory Investigation, 101:1036-47, 2021　IF: 5.662

大腸癌オルガノイドにおけるMEK阻害剤への感受性はKRASやBRAF変異の有無ではなく、S6リン酸化の低下を測定することで予測可能である。



Laboratory Investigation
https://doi.org/10.1038/s41374-021-00590-w

ARTICLE

Early response in phosphorylation of ribosomal protein S6 is associated with sensitivity to trametinib in colorectal cancer cells

Yuka Hirashita[1,2] · Yoshiyuki Tsukamoto[2] · Yoko Kudo[1] · Daisuke Kakisako[1] · Shusaku Kurogi[2] · Naoki Hijiya[2] · Chisato Nakada[2] · Tomohisa Uchida[2] · Teijiro Hirashita[3] · Takahiro Hiratsuka[3] · Tomonori Akagi[3] · Yoshitake Ueda[4] · Hidefumi Shiroshita[3] · Tsuyoshi Etoh[3] · Kazuhiro Mizukami[1] · Koichi Honda[1] · Tadayoshi Okimoto[1] · Masaaki Kodama[1] · Masafumi Inomata[3] · Masatsugu Moriyama[2] · Kazunari Murakami[1]

Received: 27 June 2020 / Revised: 8 March 2021 / Accepted: 9 March 2021

Abstract

Mutations in RAS or BRAF are associated with poor prognosis and resistance to epidermal growth factor receptor (EGFR)-targeted therapy in colorectal cancer (CRC). Despite their common ability to activate downstream genes such as MEK and ERK, the therapeutic benefit of MEK inhibitors for patients with RAS/BRAF mutant CRC is limited, highlighting the need for biomarkers to predict the efficacy of MEK inhibition. Previously, we reported that a change in phosphorylation of ribosomal protein S6 (pS6) after MEK inhibition was significantly associated with sensitivity to MEK inhibition in gastric cancer cells. Here, we investigated the value of the response in pS6 for predicting the efficacy of trametinib, a MEK inhibitor, in patients with RAS/BRAF mutant CRC using patient-derived CRC organoids. We found that a subset of CRC

Hirashita Y, Lab Invest, 2021

消化器内科からの大学院生（現在進行中）

木下慶亮　先生

- 癌オルガノイドを用いた胆道癌に対する
 抗癌剤感受性予測診断法の開発
- 膵癌の浸潤性増殖に関わる
 新しい癌抑制遺伝子の同定と解析

渕野貴文　先生

- 癌オルガノイドによる食道癌における
 抗癌剤抵抗性メカニズムの解明

ちなみに、、、これは大学院生の研究成果をさらに発展させるモデル

1.　学位取得後もデスクをおいて研究を続ける

2.　後輩大学院生を基礎教員と一緒に指導できる

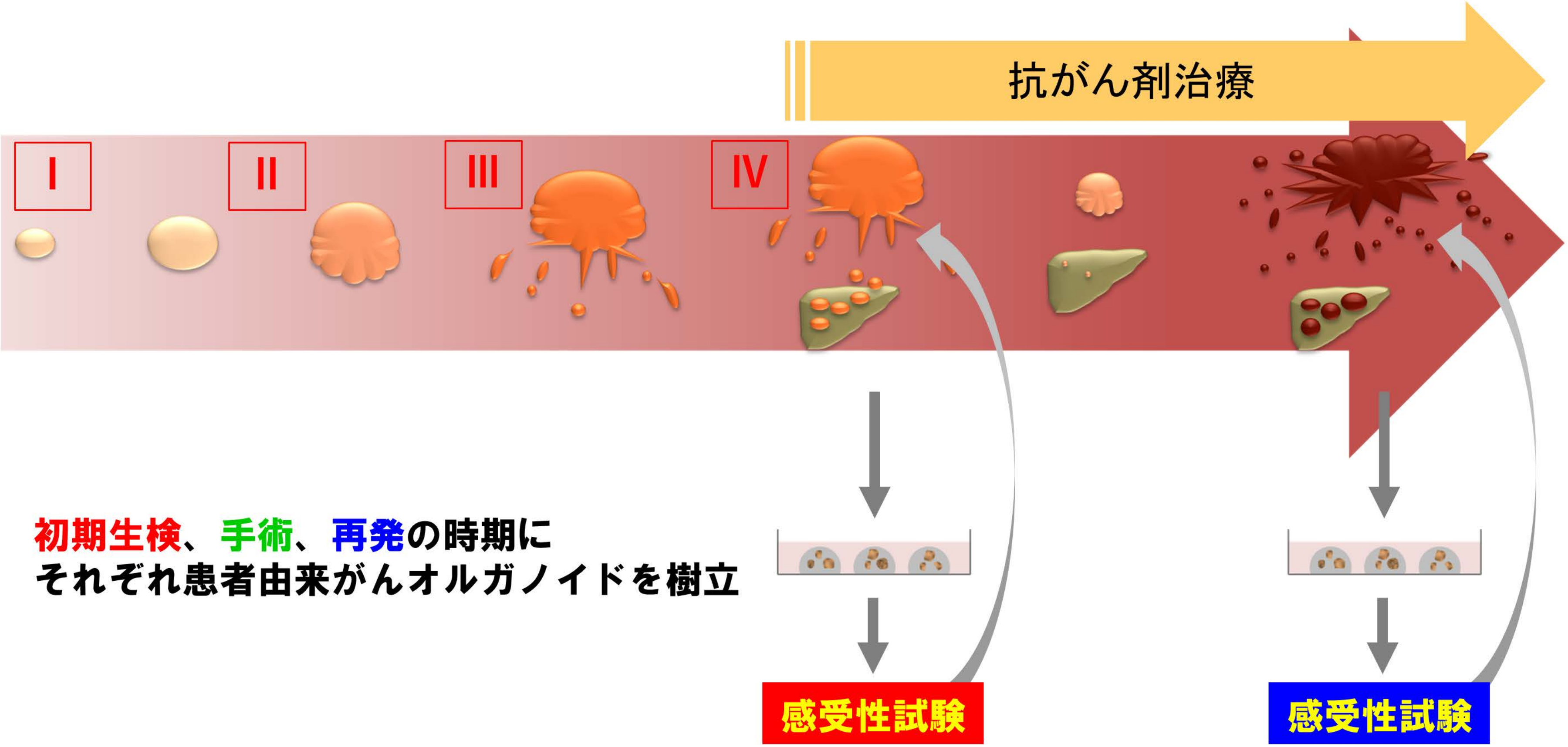
3.　基礎講座の研究基盤を活用できる(ノウハウも)

4.　臨床講座にとっては、研究の質を確保できる
（JBC、Cancer Resレベルをキープしたい）

5.　基礎講座にとっては、本命のテーマに専念できる

課題：　研究目標(テーマ)の共有が必要で共存共栄可能

がんオルガノイドの個別化医療への応用



初期生検、**手術**、**再発**の時期に
それぞれ患者由来がんオルガノイドを樹立

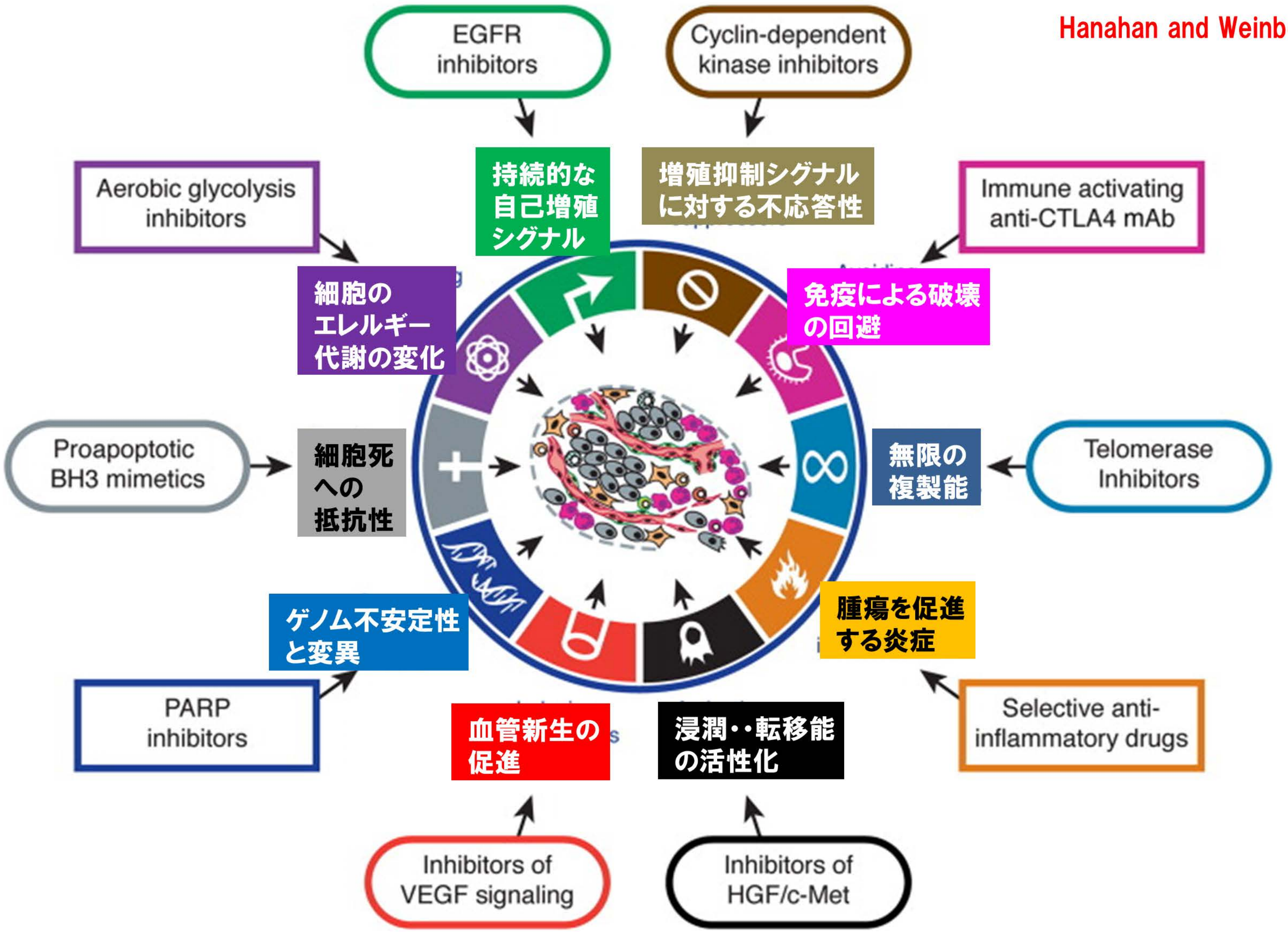
結論

1. **癌オルガノイド培養**を用いた感受性診断は、**遺伝子パネルの欠点**を補填できるかもしれない

2. **S6の低リン酸化**と**Junリン酸化**は感受性バイオマーカーとして有望

がんの特徴を標的とした治療戦略 (Therapeutic targeting of the Hallmarks of Cancer)

Hanahan and Weinberg, Cell 2011



EGFR inhibitors

持続的な自己増殖シグナル

Cyclin-dependent kinase inhibitors

増殖抑制シグナルに対する不応答性

Immune activating anti-CTLA4 mAb

免疫による破壊の回避

Telomerase Inhibitors

無限の複製能

Selective anti-inflammatory drugs

腫瘍を促進する炎症

Inhibitors of HGF/c-Met

浸潤･･転移能の活性化

Inhibitors of VEGF signaling

血管新生の促進

PARP inhibitors

ゲノム不安定性と変異

Proapoptotic BH3 mimetics

細胞死への抵抗性

Aerobic glycolysis inhibitors

細胞のエレルギー代謝の変化

上記の多彩ながんの特徴を標的とした治療を個別化医療に活用するには、遺伝子パネルのみでは不十分で、生物学的評価（がんオルガノイドを含む）が必要と考える。

5. ポスト癌ゲノム時代の新しい個別化癌化学療法の提案

2報　　　平均IF: 6.189

① 患者癌組織(癌オルガノイド)を用いた個別化癌化学療法

1. Hirashita Y, Tsukamoto Y, Yanagihara K, Fumoto S, Hijiya N, Nakada C, Uchida T, Matsuura K, Kodama M, Okimoto T, Daa T, Seike M, Iha H, Shirao K, Murakami K, and Moriyama M.Reduced phosphorylation of ribosomal protein S6 is associated with sensitivity to MEK inhibition in gastric cancer cells.

   ***Cancer Sci.,* 107: 1919-28, 2016.　　　　IF: 6.716**

   胃癌においてReceptor Tyrosine Kinase (RTK) およびKRAS (RTK/KRAS) の下流シグナルを標的とした分子標的治療の有効性を胃癌細胞株48株を用いて検証した。予想に反して、MEK阻害剤の効果はRTK/KRASの異常と相関しなかったが、MEK阻害剤処理後のmTORC活性の変化が感受性と強く相関し、バイオマーカーとして有用である可能性を見いだした。

2. Hirashita Y, Tsukamoto Y, Kudo Y, Kakisako D, Kurogi S, Hijiya N, Nakada C, Uchida T, Hirashita T, Hiratsuka T, Akagi T, Ueda Y, Shiroshita H, Etoh T, Mizukami K, Honda K, Okimoto T, Kodama M, Inomata M, Moriyama M, and Murakami K.Early response in phosphorylation of ribosomal protein S6 is associated with sensitivity to trametinib in colorectal cancer cells.

   ***Lab Invest* 101, 1036-47,2021.　　　　IF: 5.662**

   大腸癌におけるEGFR標的治療はRASやRAFなどの遺伝子変異が存在するため有効性が低いとされるが、下流のMEKに対する阻害剤は効果が期待される。そこで我々が効果予測バイオマーカーとして提唱している「MEK阻害剤処理後のmTORC活性の変化」を採用して、大腸癌の患者由来癌組織培養 (大腸癌オルガノイド) に対してMEK阻害剤(トラメチニブ)を投与することで、治療効果予測を試みた。トラメチニブ高感受性の大腸癌オルガノイドでは、トラメチニブ処理後にmTORC活性の著しい低下が観察された。一方で、低感受性ではmTORC活性は変化しなかった。したがって、患者から採取した組織を癌オルガノイドとして培養し、新しい効果予測バイオマーカーと組み合わせることで、個別化治療への応用が期待される。

3. Sachs N, **Tsukamoto** Y, Kujala P, Peters P J, and Clevers H. Intestinal epithelial organoids fuse to form self-organizing tubes in floating collagen gels.

   ***Development,* 144: 1107-12, 2017　　　　IF: 6.868**

   生体組織のIn vitro培養であるオルガノイドは、再生医療への応用が期待されている。しかし、培養可能なオルガノイドのサイズが限られているため (<1mm) 、より大きなサイズのオルガノイドが求められている。筆者らは、コラーゲンゲル中でオルガノイドを包埋し、浮遊状態で培養することで、オルガノイド同士が融合し、1cm単位のオルガノイド形成が可能であることを示した。そのように形成された小腸幹細胞由来のオルガノイドにおいても、各種分化細胞 (腸管上皮細胞、パネート細胞、杯細胞など) も観察され、将来的に再生医療への応用が期待されている。

4. Mizutani T, **Tsukamoto** Y, and Clevers H. Oncogene-inducible organoids as a miniature platform to assess cancer characteristics.

   ***J Cell Biol.,* 216: 1505-7, 2017.　　　　IF: 10.539**

   オルガノイド培養法のMini Review。 遺伝子改変マウスを複数種類交配し、複合的な遺伝子異常を引き起こすことで、ヒトの多段階発癌を模倣したがんモデルとして応用されている。しかし、多数の遺伝子異常を持つ遺伝子改変マウスを作成するためには、莫大な労力と時間が必要である。本Reviewでは、複合的な遺伝子異常を持つマウスからオルガノイドを樹立し、In vitroで遺伝子導入や遺伝子編集を行うことで、よりヒトがんの遺伝子異常を反映したがんモデルを作成することを提案している。

5. **Tsukamoto Y. et al., submitted**

   シスプラチン感受性のバイオマーカーとしてリン酸化JUNのレベルが有用であることを発見した。

まとめ

私の研究室で行われ、書かれた論文	37編	平均IF: 5.842
① 腎癌悪性化メカニズムproject	6編	平均IF: 6.384
② 膵癌の浸潤メカニズムproject	4編	平均IF: 6.833
③ microRNAの発現異常project	5編	平均IF: 12.818
④ 胃癌進行のメカニズムproject	4編	平均IF： 6.349
⑤ ポスト癌ゲノムの個別化化学療法project	2編	平均IF： 6.189
⑥ その他（プロジェクト研究でないもの）	16編	平均IF: 4.077
他の研究室が主体の共同研究論文	87編	「IFは計算してない」

結論（総括）

Understanding of diseasesという研究理念を掲げ、
患者検体を診る(lessons from patients) ことにこだわって
進めてきた18年を総括すると、、、、、、、

まとめ

私の研究室で行われ、書かれた論文　37編　平均IF:　5.842

①	腎癌悪性化メカニズムproject	6編	平均IF:　6.384
②	膵癌の浸潤メカニズムproject	4編	平均IF:　6.833
③	microRNAの発現異常project	5編	平均IF: 12.818
④	胃癌進行のメカニズムproject	4編	平均IF：　6.349
⑤	ポスト癌ゲノムの個別化化学療法project	2編	平均IF：　6.189
⑥	その他（プロジェクト研究でないもの）	16編	平均IF:　4.077

他の研究室が主体の共同研究論文　87編　「IFは計算してない」

結論（総括）

1）論文の質キープに努力したが、メジャージャーナルには出なかった。

2）大学院生の指導には努力した（18人を指導し、平均IFは5点をキープ）。

3）研究プロジェクトは道半ばであるが、研究者はPIとして育てた。

まとめ

私の研究室で行われ、書かれた論文	37編	平均IF: 5.842
① 腎癌悪性化メカニズムproject	6編	平均IF: 6.384
② 膵癌の浸潤メカニズムproject	4編	平均IF: 6.833
③ microRNAの発現異常project	5編	平均IF: 12.818
④ 胃癌進行のメカニズムproject	4編	平均IF： 6.349
⑤ ポスト癌ゲノムの個別化化学療法project	2編	平均IF： 6.189
⑥ その他（プロジェクト研究でないもの）	16編	平均IF: 4.077

他の研究室が主体の共同研究論文　87編　「IFは計算してない」

結論（総括）

1）論文の質キープに努力したが、メジャージャーナルには出なかった。

2）大学院生の指導には努力した（18人を指導し、平均IFは5点をキープ）。

3）研究プロジェクトは道半ばであるが、研究者はPIとして育てた。

18年間の業績の評価と総括 （大学院生の学位論文　18編）

吉本多一郎	先生（泌尿器科）	Journal of Pathology	7.996
成松隆弘	先生（泌尿器科	Cancer Medicine	4.452
井上　亨	先生（泌尿器科）	Cancer Science	6.716
甲斐友喜	先生（泌尿器科）	Journal of Pathology	7.996
高橋美香	先生（泌尿器科）	Cancer Science	6.716
内田政弘	先生（消化器内科）	Journal of Pathology	7.996
黒田明子	先生（消化器内科）	PLos One	3.240
Tung	先生（消化器内科）	European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases	3.267
平下有香	先生　（消化器内科）	Cancer Science	6.716,
	&	Laboratory Investigation	5.662
中村憲一郎	先生（神経内科）	Pathobiology	4.342
金田亮子	先生　（歯科口腔外科）	Pathology International	2.534
吉岡俊一	先生　（歯科口腔外科）	PLos One	3.240
清崎邦洋	先生　（眼科）	IOVS	4.799
赤木智徳	先生　（消化器外科）	International Journal of Cancer	7.396
一万田充洋	先生　（消化器外科）	Cancer Science	6.716
Ratsada	先生　（環境予防医学）	BBRC	3.575
宮脇美千代	先生　（呼吸器外科）	APMIS	3.205
黒木秀作	先生　（検査部）	Pathobiology	4.342

大学院生18名の学位論文の平均IF：　5.291

まとめ

私の研究室で行われ、書かれた論文　37編　平均IF: 5.842

①	腎癌悪性化メカニズムproject	6編	平均IF: 6.384
②	膵癌の浸潤メカニズムproject	4編	平均IF: 6.833
③	microRNAの発現異常project	5編	平均IF: 12.818
④	胃癌進行のメカニズムproject	4編	平均IF： 6.349
⑤	ポスト癌ゲノムの個別化化学療法project	2編	平均IF： 6.189
⑥	その他（プロジェクト研究でないもの）	16編	平均IF: 4.077

他の研究室が主体の共同研究論文　87編　「IFは計算してない」

結論（総括）

1）論文の質キープに努力したが、メジャージャーナルには出なかった。

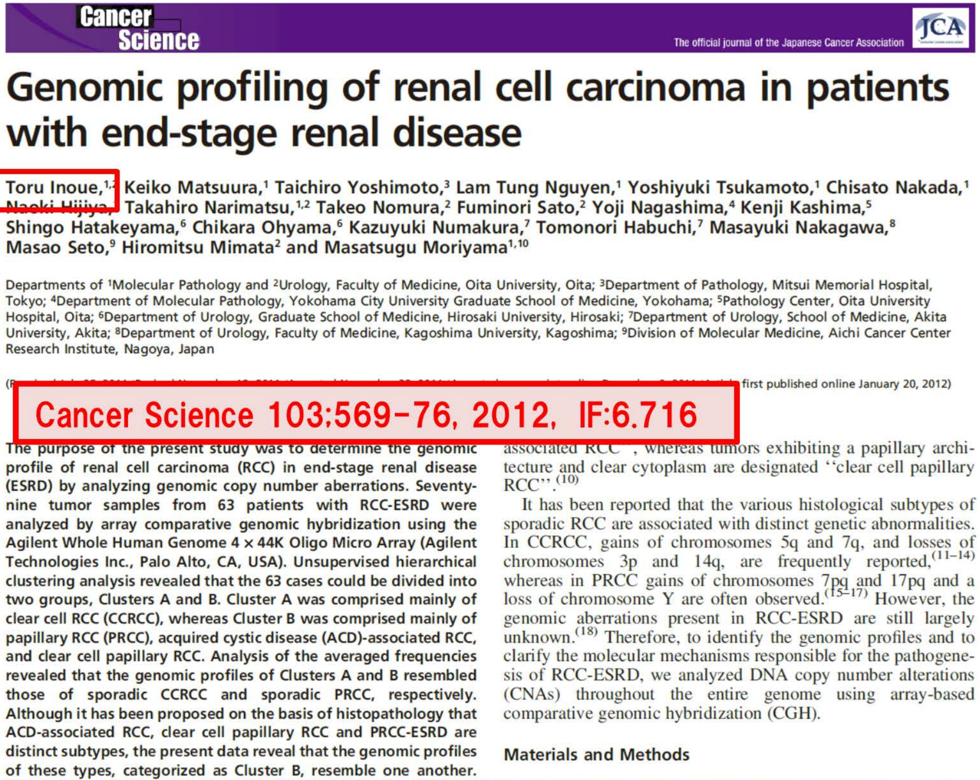
2）大学院生の指導には努力した（18人を指導し、平均IFは5点をキープ）。

3）研究プロジェクトは道半ばであるが、研究者はPIとして育てた。

できれば彼らが今後も研究を続けられるように研究室維持に支援頂けるとありがたい

基礎研究の重要性を指摘してきましたが、

最後に、大学院生による地味な基礎研究が医学の進歩に貢献している事例（一例）を紹介します。



Cancer Science
JCA
The official journal of the Japanese Cancer Association

Genomic profiling of renal cell carcinoma in patients with end-stage renal disease

Toru Inoue,[1,2] Keiko Matsuura,[1] Taichiro Yoshimoto,[3] Lam Tung Nguyen,[1] Yoshiyuki Tsukamoto,[1] Chisato Nakada,[1] Naoki Hijiya,[1] Takahiro Narimatsu,[1,2] Takeo Nomura,[2] Fuminori Sato,[2] Yoji Nagashima,[4] Kenji Kashima,[5] Shingo Hatakeyama,[6] Chikara Ohyama,[6] Kazuyuki Numakura,[7] Tomonori Habuchi,[7] Masayuki Nakagawa,[8] Masao Seto,[9] Hiromitsu Mimata[2] and Masatsugu Moriyama[1,10]

Departments of [1]Molecular Pathology and [2]Urology, Faculty of Medicine, Oita University, Oita; [3]Department of Pathology, Mitsui Memorial Hospital, Tokyo; [4]Department of Molecular Pathology, Yokohama City University Graduate School of Medicine, Yokohama; [5]Pathology Center, Oita University Hospital, Oita; [6]Department of Urology, Graduate School of Medicine, Hirosaki University, Hirosaki; [7]Department of Urology, School of Medicine, Akita University, Akita; [8]Department of Urology, Faculty of Medicine, Kagoshima University, Kagoshima; [9]Division of Molecular Medicine, Aichi Cancer Center Research Institute, Nagoya, Japan

Cancer Science 103:569-76, 2012, IF:6.716

The purpose of the present study was to determine the genomic profile of renal cell carcinoma (RCC) in end-stage renal disease (ESRD) by analyzing genomic copy number aberrations. Seventy-nine tumor samples from 63 patients with RCC-ESRD were analyzed by array comparative genomic hybridization using the Agilent Whole Human Genome 4 × 44K Oligo Micro Array (Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA, USA). Unsupervised hierarchical clustering analysis revealed that the 63 cases could be divided into two groups, Clusters A and B. Cluster A was comprised mainly of clear cell RCC (CCRCC), whereas Cluster B was comprised mainly of papillary RCC (PRCC), acquired cystic disease (ACD)-associated RCC, and clear cell papillary RCC. Analysis of the averaged frequencies revealed that the genomic profiles of Clusters A and B resembled those of sporadic CCRCC and sporadic PRCC, respectively. Although it has been proposed on the basis of histopathology that ACD-associated RCC, clear cell papillary RCC and PRCC-ESRD are distinct subtypes, the present data reveal that the genomic profiles of these types, categorized as Cluster B, resemble one another.

associated RCC'', whereas tumors exhibiting a papillary architecture and clear cytoplasm are designated ''clear cell papillary RCC''.(10)

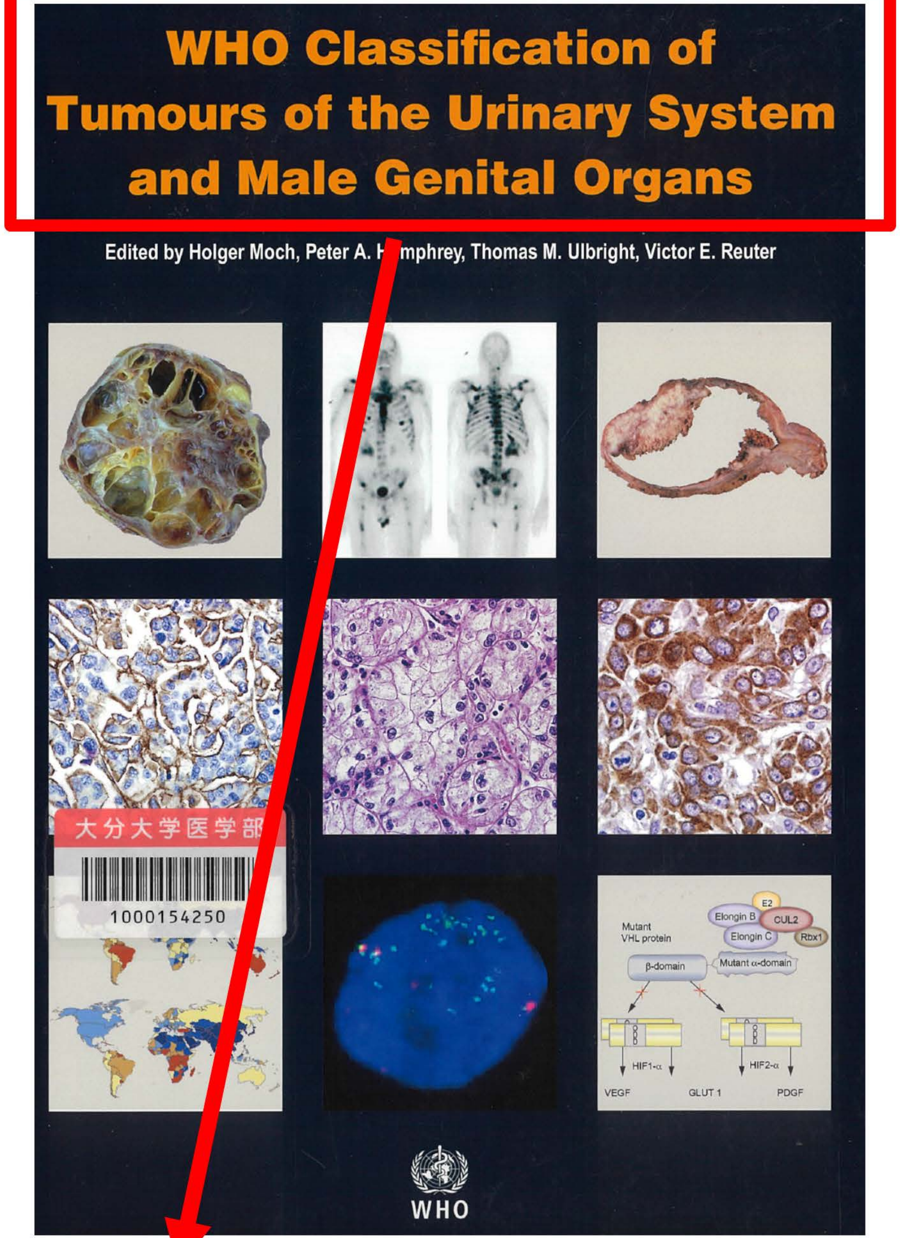
It has been reported that the various histological subtypes of sporadic RCC are associated with distinct genetic abnormalities. In CCRCC, gains of chromosomes 5q and 7q, and losses of chromosomes 3p and 14q, are frequently reported,(11–14) whereas in PRCC gains of chromosomes 7pq and 17pq and a loss of chromosome Y are often observed.(15–17) However, the genomic aberrations present in RCC-ESRD are still largely unknown.(18) Therefore, to identify the genomic profiles and to clarify the molecular mechanisms responsible for the pathogenesis of RCC-ESRD, we analyzed DNA copy number alterations (CNAs) throughout the entire genome using array-based comparative genomic hybridization (CGH).

Materials and Methods

ESRD were diag-
Y.N.) according to
ification(19) and the
arrive at conclu-
munohistochemis-
cyl-CoA racemase
eratin 7 (DAKO).
able S1, available
. The 63 patients
cases of CCRCC,
three of clear cell
spindle cell carci-
noma,(20) one of
several different

sections were pre-
d tissue samples
saka, Japan). To
ser-capture micro-
untain View, CA,
racted by the stan-
bed previously.(21)
NA was extracted
from 12 patients
inoma, neither of
l cortex. The same

doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.02176.x



WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs

Edited by Holger Moch, Peter A. Humphrey, Thomas M. Ulbright, Victor E. Reuter

WHOが臓器ごとに出版している癌の病理分類のテキストで世界のゴールデンスタンダード

Clear cell papillary renal cell carcinoma

Srigley J.R.
Cheng L.
Grignon D.J.
Tickoo S.K.

Definition
Clear cell papillary renal cell carcinoma (RCC) is an indolent renal epithelial neoplasm composed of bland clear epithelial cells arranged in tubules and papillae, with at least a predominantly linear nuclear alignment away from the basement membrane and a distinctive immunophenotype {160,1003,2717}.

ICD-O code 8323/1

Synonyms
Clear cell tubulopapillary renal cell carcinoma {160}; renal angiomyoadenomatous tumour (obsolete) {1888,1890}

Epidemiology
This tumour accounts for 1–4% of all resected renal tumours {50,2962,3084}. It affects patients aged 18–88 years, with no sex predilection. The tumour arises sporadically and with end-stage renal disease and von Hippel–Lindau syndrome {160,1003,2717}.

Clinical features
These tumours are typically detected incidentally, in asymptomatic patients. Some patients have abdominal or flank pain {3084}.

Localization
The tumours are usually located in the renal cortex.

Macroscopy
The tumours are often small, well circumscribed, and encapsulated {13,50,160}. Cystic change is common. More than 95% of the tumours are pT1 at presentation. Rare multifocal or bilateral tumours have been reported {160,2343,2962}. Surface colouration is variable and necrosis is absent.

Histopathology
Tubular, papillary, acinar, cystic, ribbon-like, and solid patterns are seen in varying proportions {160,2146,3084}. Tumour cells are cuboidal to low columnar, with round, generally uniform nuclei with inconspicuous nucleoli arranged linearly, away from the basal aspect {160,1890,3084}. Most tumours are of WHO / International Society of Urological Pathology (ISUP) grade 1 or 2. Apical snouts of clear cytoplasm are seen. Occasional groups of larger cells may be seen {2962}. Eosinophilic secretions are often present.

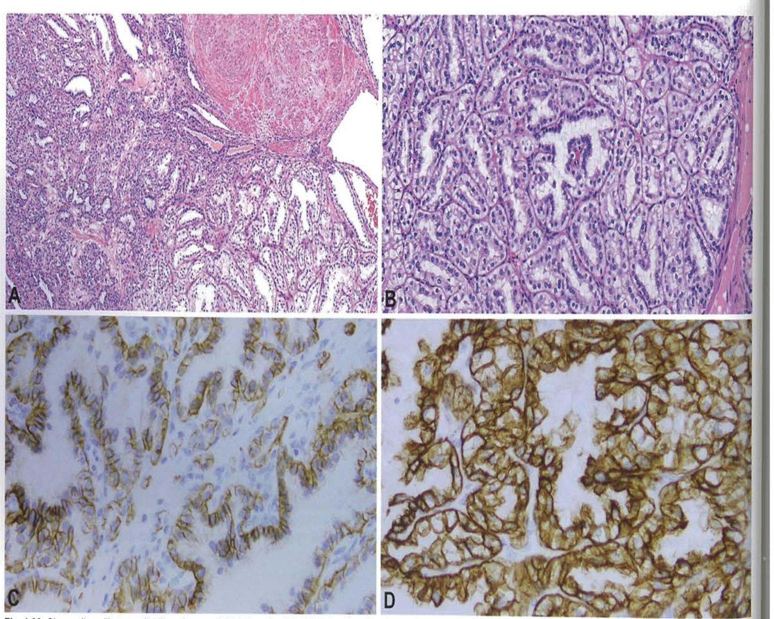


Fig. 1.39 Clear cell papillary renal cell carcinoma. **A** Tightly packed bland tubules lined by clear cells are associated with smooth muscle stroma; compressed and collapsed tubules are seen on the left. **B** Small tubules and papillae composed of clear cells with uniform nuclei show a linear arrangement away from the basal membrane. **C** Cells display carbonic anhydrase IX positivity with a cup-like distribution. **D** Strong diffuse CK7 staining is noted.

Fibrous and/or smooth muscle stroma i varying amounts is noted. Some tumour with this spectrum of histology and predominant smooth muscle componen (which were previously referred to as re nal angiomyoadenomatous tumours) ar now recognized as examples of this en tity. Tumour necrosis, perirenal invasion and lymphovascular invasion are absent The tumour cells have diffuse CK7 posi tivity, carbonic anhydrase IX positivit in cup-like distribution, and racemase negativity {160,2717,2962}. PAX2, PAX8 and 34βE12 are positive, and CD10 i typically negative or focally positive. Clear cell papillary RCC can have a collapsed acinar-like pattern, solid architecture, and prominent delicate vascularity, resembling clear cell RCC (ccRCC). Conversely, ccRCC can show focal clear cell papillary-like areas. Caution should be exercised in diagnosing cases with limited needle biopsy sampling.

Genetic profile
The tumours have molecular profiles distinct from those of ccRCC and papillary RCC {160,881,1003,1603,1979,2343}. Comparative genomic hybridization has revealed differences between clear cell papillary tumours occurring sporadically and those occurring in end-stage renal disease {13,1281}.

Prognosis and predictive factors
For the cases reported to date, no local recurrence or metastasis has been documented {1549,2590}.

Unclassified renal cell carcinoma

Cheng L.
Amin M.B.
Lopez-Beltran A.

typically negative or focally positive. Clear cell papillary RCC can have a collapsed acinar-like pattern, solid architecture, and prominent delicate vascularity, resembling clear cell RCC (ccRCC). Conversely, ccRCC can show focal clear cell papillary-like areas. Caution should be exercised in diagnosing cases with limited needle biopsy sampling.

Genetic profile
The tumours have molecular profiles dis tinct from those of ccRCC and papillar RCC {160,881,1003,1603,1979,2343

Comparative genomic hybridization has revealed differences between clear cell papillary tumours occurring sporadically and those occurring in end-stage renal disease {13,1281}.

Prognosis and predictive factors
For the cases reported to date, no local

ı in
urs
l a
ent
re-
are
en-
on,
ent.
si-
vity
ase
X8,
is

Clinical features
Clinical features and imaging presentation are similar to those of other RCC subtypes. Most patients present at an advanced clinical stage {319,589,1243, 1387,1709,3096}.

Localization
The localization of unclassified RCC is similar to that of other RCC subtypes.

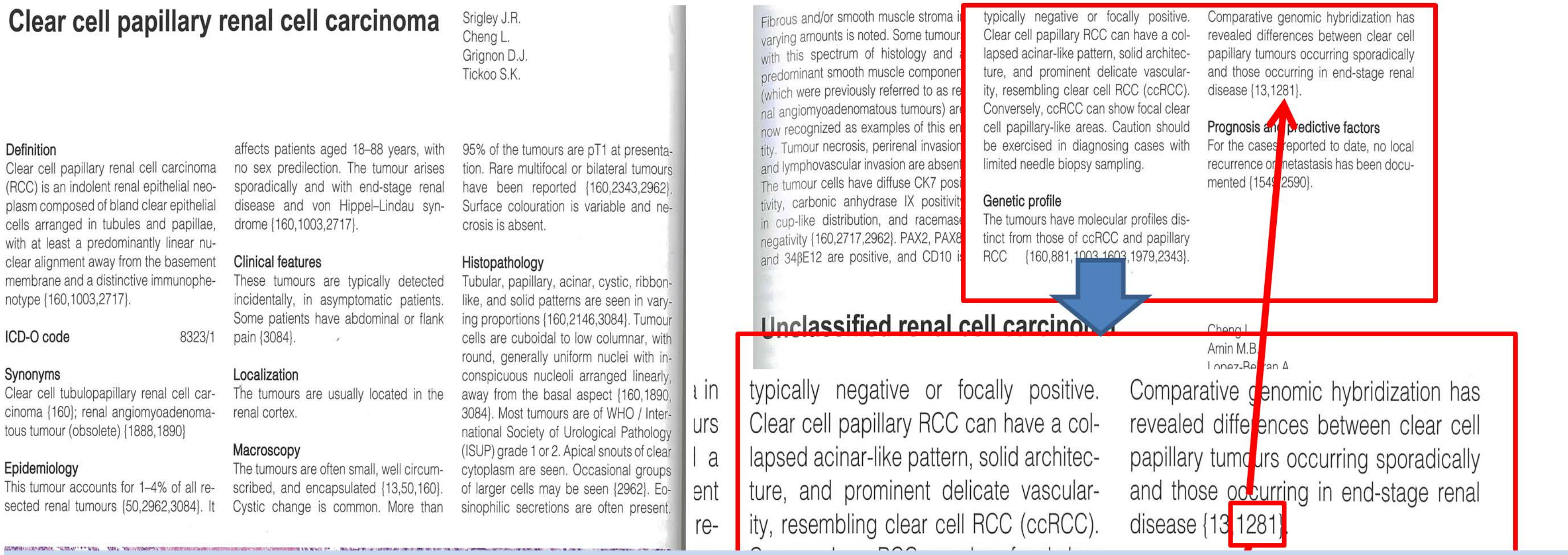
Macroscopy
Unclassified RCCs are usually large and

ed, to rule out met sites. Invasive urothe metastatic carcinoma must be ruled out be is made. Immunohisto to support renal his include PAX8, PAX2, CD10 {2675}.

Genetic profile
Molecular studies are heterogeneous nature this category, no cons

metastases of renal cell carcinoma. Histopathology. 52:674–81. PMID:18393979
1280. Inman BA, Sebo TJ, Frigola X, Dong H, Bergstralh EJ, Frank I, et al. (2007). PD-L1 (B7-H1) expression by urothelial carcinoma of the bladder and BCG-induced granulomata: associations with localized stage progression. Cancer. 109:1499–505. PMID:17340590
1281. Inoue T, Matsuura K, Yoshimoto T, Nguyen LT, Tsukamoto Y, Nakada C, et al. (2012). Genomic profiling of renal cell carcinoma in patients with end-stage renal disease. Cancer Sci. 103:569–76. PMID:22145865
1282. International Consortium for Prostate Cancer Genetics (ICPCG) http://www.icpcg.org/?q=content/about-icpcg
1283. International Germ Cell Cancer Collaborative Group (1997). International Germ Cell Consensus Classification: a prognostic factor-based staging system for metastatic germ cell cancers. J Clin Oncol. 15:594–603. PMID:9053482

expressio
PMID:15
1297. Ja
Huddart
(2006). D
prostatic
athy at p
ical revie
pelvis rad
18:109–1
1298. Ja
platin res
els and
PMID:25
1299. Ja
(AFP) a
(HCG) in
parison o
of tumour
nol Scand
1300. Ja



Clear cell papillary renal cell carcinoma

Srigley J.R.
Cheng L.
Grignon D.J.
Tickoo S.K.

Definition

Clear cell papillary renal cell carcinoma (RCC) is an indolent renal epithelial neoplasm composed of bland clear epithelial cells arranged in tubules and papillae, with at least a predominantly linear nuclear alignment away from the basement membrane and a distinctive immunophenotype {160,1003,2717}.

ICD-O code 8323/1

Synonyms

Clear cell tubulopapillary renal cell carcinoma {160}; renal angiomyoadenomatous tumour (obsolete) {1888,1890}

Epidemiology

This tumour accounts for 1–4% of all resected renal tumours {50,2962,3084}. It affects patients aged 18–88 years, with no sex predilection. The tumour arises sporadically and with end-stage renal disease and von Hippel–Lindau syndrome {160,1003,2717}.

Clinical features

These tumours are typically detected incidentally, in asymptomatic patients. Some patients have abdominal or flank pain {3084}.

Localization

The tumours are usually located in the renal cortex.

Macroscopy

The tumours are often small, well circumscribed, and encapsulated {13,50,160}. Cystic change is common. More than 95% of the tumours are pT1 at presentation. Rare multifocal or bilateral tumours have been reported {160,2343,2962}. Surface colouration is variable and necrosis is absent.

Histopathology

Tubular, papillary, acinar, cystic, ribbon-like, and solid patterns are seen in varying proportions {160,2146,3084}. Tumour cells are cuboidal to low columnar, with round, generally uniform nuclei with inconspicuous nucleoli arranged linearly, away from the basal aspect {160,1890,3084}. Most tumours are of WHO / International Society of Urological Pathology (ISUP) grade 1 or 2. Apical snouts of clear cytoplasm are seen. Occasional groups of larger cells may be seen {2962}. Eosinophilic secretions are often present.

Fibrous and/or smooth muscle stroma i
varying amounts is noted. Some tumour
with this spectrum of histology and
predominant smooth muscle componen
(which were previously referred to as re
nal angiomyoadenomatous tumours) ar
now recognized as examples of this en
tity. Tumour necrosis, perirenal invasion
and lymphovascular invasion are absen
The tumour cells have diffuse CK7 posi
tivity, carbonic anhydrase IX positivit
in cup-like distribution, and racemas
negativity {160,2717,2962}. PAX2, PAX8
and 34βE12 are positive, and CD10 i

typically negative or focally positive. Clear cell papillary RCC can have a collapsed acinar-like pattern, solid architecture, and prominent delicate vascularity, resembling clear cell RCC (ccRCC). Conversely, ccRCC can show focal clear cell papillary-like areas. Caution should be exercised in diagnosing cases with limited needle biopsy sampling.

Genetic profile

The tumours have molecular profiles distinct from those of ccRCC and papillary RCC {160,881,1003,1603,1979,2343}. Comparative genomic hybridization has revealed differences between clear cell papillary tumours occurring sporadically and those occurring in end-stage renal disease {13,1281}.

Prognosis and predictive factors

For the cases reported to date, no local recurrence or metastasis has been documented {1549,2590}.

Unclassified renal cell carcinoma

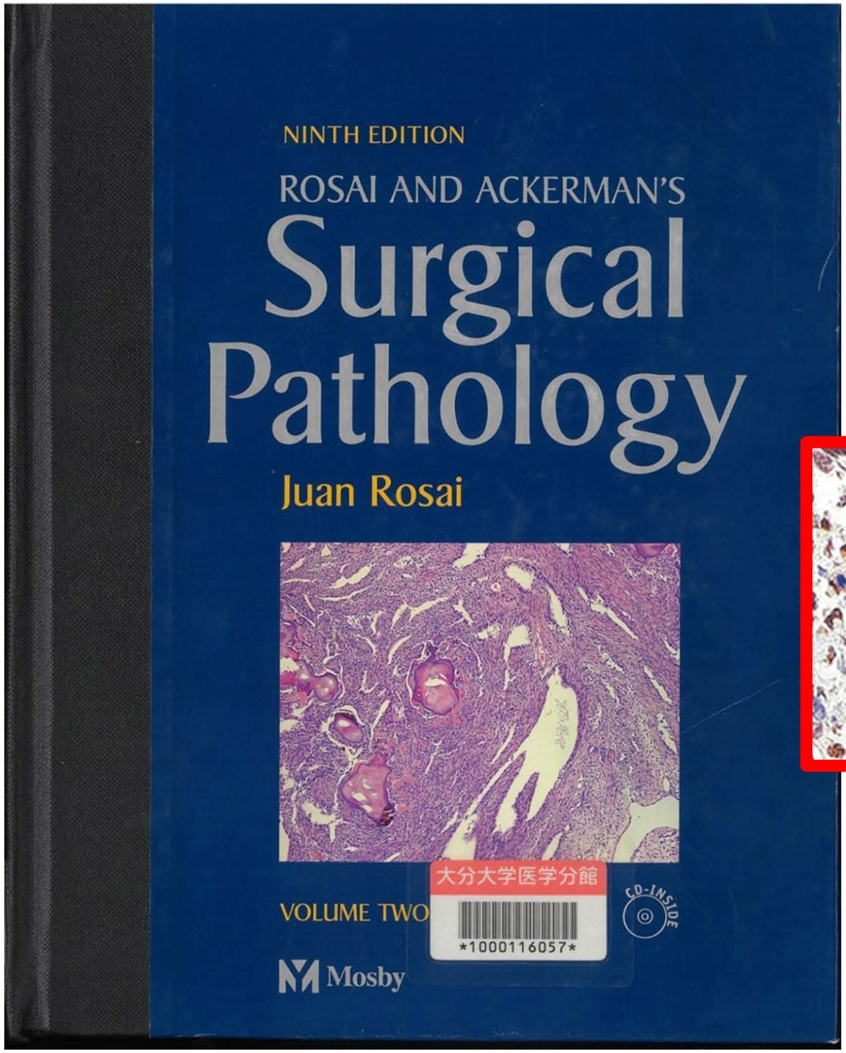
Cheng L.
Amin M.B.
Lopez-Beltran A.

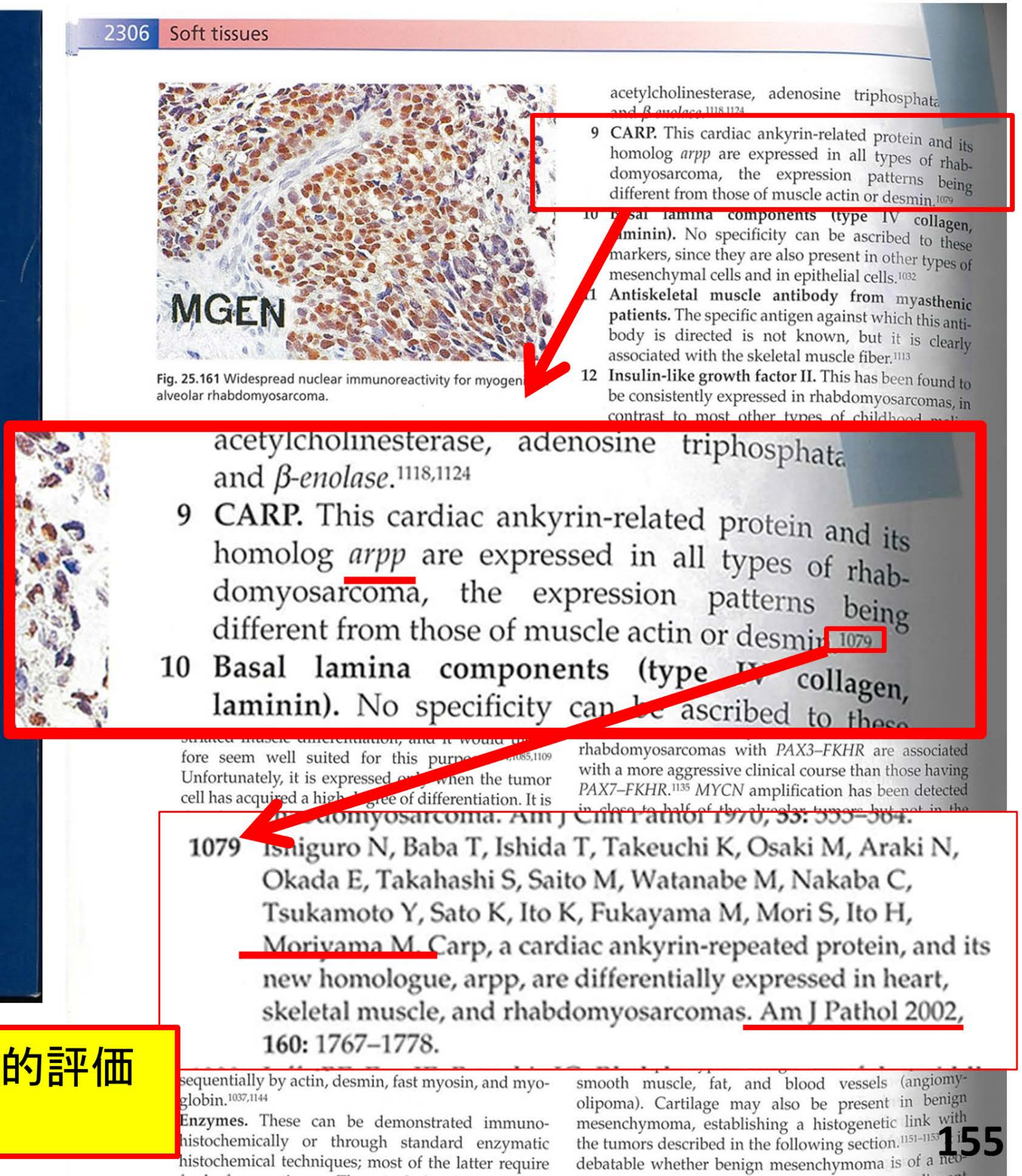
typically negative or focally positive. Clear cell papillary RCC can have a collapsed acinar-like pattern, solid architecture, and prominent delicate vascularity, resembling clear cell RCC (ccRCC).

Comparative genomic hybridization has revealed differences between clear cell papillary tumours occurring sporadically and those occurring in end-stage renal disease {13,1281}.

一つ一つの小さな基礎研究成果が学問の進歩を支えている。
その積み重ねがoutstandingな発見（ノーベル賞）を支えていると思っています。

Ackermanの「Surgical Pathology」は、約3千頁の外科病理学の教科書（バイブル）であるが、我々が単離同定したArppが横紋筋肉腫の重要な腫瘍マーカーであると項目を取って記述している





2306 Soft tissues

Fig. 25.161 Widespread nuclear immunoreactivity for myogen alveolar rhabdomyosarcoma.

acetylcholinesterase, adenosine triphosphata and *β-enolase*.[1118,1124]

9 **CARP.** This cardiac ankyrin-related protein and its homolog *arpp* are expressed in all types of rhabdomyosarcoma, the expression patterns being different from those of muscle actin or desmin.[1079]

10 **Basal lamina components (type IV collagen, laminin).** No specificity can be ascribed to these markers, since they are also present in other types of mesenchymal cells and in epithelial cells.[1032]

11 **Antiskeletal muscle antibody from myasthenic patients.** The specific antigen against which this antibody is directed is not known, but it is clearly associated with the skeletal muscle fiber.[1113]

12 **Insulin-like growth factor II.** This has been found to be consistently expressed in rhabdomyosarcomas, in contrast to most other types of childhood

acetylcholinesterase, adenosine triphosphata and *β-enolase*.[1118,1124]

9 **CARP.** This cardiac ankyrin-related protein and its homolog *arpp* are expressed in all types of rhabdomyosarcoma, the expression patterns being different from those of muscle actin or desmin.[1079]

10 **Basal lamina components (type IV collagen, laminin).** No specificity can be ascribed to these

fore seem well suited for this purpose.[1085,1109] Unfortunately, it is expressed only when the tumor cell has acquired a high degree of differentiation. It is

rhabdomyosarcomas with *PAX3–FKHR* are associated with a more aggressive clinical course than those having *PAX7–FKHR*.[1135] *MYCN* amplification has been detected

1079 Ishiguro N, Baba T, Ishida T, Takeuchi K, Osaki M, Araki N, Okada E, Takahashi S, Saito M, Watanabe M, Nakaba C, Tsukamoto Y, Sato K, Ito K, Fukayama M, Mori S, Ito H, Moriyama M. Carp, a cardiac ankyrin-repeated protein, and its new homologue, arpp, are differentially expressed in heart, skeletal muscle, and rhabdomyosarcomas. Am J Pathol 2002, **160:** 1767–1778.

sequentially by actin, desmin, fast myosin, and myoglobin.[1037,1144]

Enzymes. These can be demonstrated immunohistochemically or through standard enzymatic histochemical techniques; most of the latter require

smooth muscle, fat, and blood vessels (angiomyolipoma). Cartilage may also be present in benign mesenchymoma, establishing a histogenetic link with the tumors described in the following section.[1151–1153] debatable whether benign mesenchymoma is of a neo-

研究成果が教科書に記載される（国際的評価が定まる）までに10年以上かかる

大学院生(18名)を派遣いただいた医局に感謝します

1.	泌尿器科	吉本先生、成松先生、井上先生、高橋先生、甲斐先生
2.	消化器内科	内田(政)先生、Tung先生、黒田先生、平下先生、木下先生、渕野先生
3.	消化器小児外科	赤木先生、一万田先生
4.	旧第二外科 現呼吸器乳腺外科	内田名誉教授、野口(剛)先生、麓先生、林下先生、宮脇先生
5.	歯科口腔外科	吉岡先生、金田先生
6.	検査部	黒木先生
7.	腫瘍血液内科	天田先生

守山研究室で獲得した研究費（教員4名と大学院生による）

1. 科研費（18年間に新規獲得したもの）　57件　計　2億7,692万円

1）我々の研究室が直接獲得したもの（新規に）

2003～23年度	基盤C	30件	計	1億1,859万円
	若手B	17件	計	6,256万円
	基盤B	2件	計	3,367万円
	スタートアップ	2件	計	596万円
	国際共同研究加速	1件	計	975万円
	新学術領域研究	1件	計	3,042万円

2）共同研究者として申請段階から関わり獲得したもの（新規に）

2002～24年度	基盤C	4件	計	1,807万円

2. AMED（シーズA）

2021年度	1件	計	287万円

3. 民間　武田科学振興財団（医学系研究助成）

2020～21年度	2件	計	392万円

#　運営費交付金（特別経費）　**平成19～27年度　計　6億5,391万2千円**

平成19～21年度	1億2,549万5 千円	「東アジアにおけるヘリコバクター・ピロリ感染と胃癌研究の拠点形成」
平成22～24年度	3億9,077万6千円	「抗がん剤早期臨床試験とゲノム解析による個別化がん化学療法の推進」
平成25～27年度	1億3,764万1千円	「アカデミア主導の産学連携による新しいがん分子標的薬開発拠点の形成」

大分医科大学卒業の教授

三股病院長より提供

国立大学　46人（大分大　30人：医学部 27名、他 3名）

公立大学　1人

私立大学　12人

総数59人（名誉教授1人）

九州大学　2人
佐賀大学
長崎大学
熊本大学
宮崎大学　3人
琉球大学
九州保健福祉大
産業医大
別府大学
大分県立看護大

北里大学
獨協医科大学
埼玉医科大学
上武大学
順天堂大学
東京慈恵会医科大学
東邦大学
昭和大学

大分医科大学卒業の教授

三股病院長より提供

国立大学　46人（大分大　30人：医学部27名、他3名）
公立大学　1人
私立大学　12人
総数59人（名誉教授1人）

大分医大は優れた研究者を輩出してきました。

とても優れている！！

九州大学　2人
佐賀大学
長崎大学
熊本大学
宮崎大学　3人
琉球大学
九州保健福祉大
産業医大
別府大学
大分県立看護大

北里大学
獨協医科大学
埼玉医科大学
上武大学
順天堂大学
東京慈恵会医科大学
東邦大学
昭和大学

大分医科大学卒業の教授

三股病院長より提供

国立大学　46人（大分大　30人：医学部27名、他3名）
公立大学　1人
私立大学　12人

総数59人（名誉教授1人）

大分医大は優れた研究者を輩出してきました。

とても優れている！！

九州大学　2人
佐賀大学
長崎大学
熊本大学
宮崎大学　3人
琉球大学
九州保健福祉大
産業医大
別府大学
大分県立看護大

にもかかわらず、医学部の研究力が低いとの指摘がある。

基礎講座教授の出身研究室

京都大学	3名
慶応大	1名
MRC分子生物学研究所（英国）	1名
愛媛大	1名
ベイラー医科大学（米国）	1名
東京都監察医務院	1名
鳥取大	1名
大分医大	2名

- ほとんどが国内外の**一流の研究室から**来ており、かつ **超一流の業績(Nature, Science, Cell)のある者** が選ばれてきている(私以外は)。

- それでも**大分に来てから世界的研究がなかなか出せない。**

- 中央の研究施設や大学と異なるところ
  - ① 研究資金不足の問題（大分の地でブレークするための）
  - ② 研究環境（不可欠な研究装置やそれを動かすスキルがない）
  - ③ 研究を担う人材不足（フルタイム頑張れる大学院生が少ない）

－大学の下支え（研究資金と設備の確保、
技術職員の補填）が不可欠。

－必ず世界的研究成果につながる（間違いない）。

－「選択と集中」の考えは誤り。

- もちろん、研究成果のwatchは必要で、
  本日、守山の研究業績をすべてさらけ出して開示しました。
  今後も必要と思います

- 今後、世界的研究成果が医学部から多く出ることを祈っています。

がんばってください。
ありがとうございました。