

「数学と諸分野の協働によるブレークスルーの探索」  
平成 21 年度採択研究代表者

H25 年度 実績報告
----------------

鈴木 貴

大阪大学基礎工学研究科  
教授

数理医学が拓く腫瘍形成原理解明と医療技術革新

## §1. 研究実施体制

### (1)「阪大」グループ

① 研究代表者: 鈴木 貴 (大阪大学基礎工学研究科、教授)

② 研究項目

- ・パスウェイネットワーク数学解析
- ・細胞生物学数理モデリング・数学解析
- ・組織画像自動検査のための位相的方法
- ・脊髄磁場逆源探索

### (2)「東大」グループ

① 主たる共同研究者: 村上善則 (東京大学医科学研究所人癌病因遺伝子分野、教授)

② 研究項目

- ・インバドポディアの形成制御の統合的解析
- ・細胞間接着分子 CADM1 のダイナミクスの解析
- ・抗癌剤耐性機構獲得の細胞ダイナミクスの解析

## §2. 研究実施の概要

### 1. インベドポディアの形成制御の統合的解析

細胞外マトリックス (ECM) 分解と細胞運動とは、インベドポディアと呼ばれる構造体で協調的に働き、癌の浸潤・転移に寄与する。そこで、インベドポディア形成誘導に寄与する癌細胞由来の細胞外因子を同定する目的で、癌細胞に増殖因子を加えてインベドポディアを誘導し、その前後の遺伝子発現を網羅的に比較した。この結果、誘導前後で 10 倍以上の変動を示す細胞外因子 32 遺伝子を抽出し、定量的 PCR により 5 遺伝子で発現量の変動を確認した。

### 2. 細胞間接着分子 CADM1 のダイナミクスの解析

CADM1 は上皮細胞間の接着分子であると同時に、がんに対して抑制的にも、また悪性化の促進にも働く興味深いタンパク質であり、細胞内タンパク質 4.1B, MPP3 と複合体を形成する。がんの浸潤初期において細胞間接着の剥離は重要なステップであり、これを制御することは浸潤抑制に重要である。そこで細胞間接着における CADM1 ダイナミクスを、CADM1 に蛍光分子 YFP、4.1B, MPP3 には GFP を結合させ、FRAP 解析により検討した。この際、解析時間を従来の 10 分間から 60 分間に延長することにより安定した結果を得ることが可能となり、この結果を exponential curve-fitting 解析することができた。その結果 CADM1 が作る複合体の構成タンパク質が各々異なる時定数を有することがわかった。しかしこれらの時定数には CADM1 固有の時定数が必ず含まれていた。この結果は CADM1 を中心としてダイナミックにタンパク質が結合解離していることを示す。この結果に基づいてモデル構築とシミュレーションを行い、FRAP 実験の再現に成功した。

### 3. 抗癌剤耐性機構獲得の細胞ダイナミクスの解析

癌遺伝子 RET の融合タンパク質 CCDC6-RET を発現する LC-2/ad 細胞に、RET 阻害剤である vandatenib を段階的に加えて長期培養し、500nM-1 $\mu$ M の濃度下でも生存、分裂できる耐性細胞を独立に 5 株分離した。この中の 1 例について網羅的 RNA シークエンス解析をしたところ、RET 遺伝子には変異を認めなかったが、最大 500 個程度の遺伝子変異を見出した。

### 4. MMP2 活性化パスウェイモデルの数理構造の解明と完全可積分ネットワークの発見

MT1-MMP 研究で使われ、早期のターンオーバー発見の基礎となった MMP2 活性化パスウェイモデルの数学解析を行った。3 つの基本分子の結合・解離系であるということと、反応則が 3 つに分類されることから 12 成分の解をすべて陽に表示できるのではないかと予想した。質量作用の法則の吟味によってモデルを若干変更し、変更したモデルがロジスティック方程式、単独線形方程式、連立線形代数法定期の 3 つのモジュールに完全に分解できることを示した。モデルの変更については化学反応論による理論解析の他、シミュレーションによっても検証し初期 TIMP2 濃度に対する活性化 MMP2 産生グラフのピークが 2 倍程度急峻になることも確認した。

### §3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

##### 論文詳細情報(国際)

1. Hoshino D, Nagano M, Saitoh A, Koshikawa N, Suzuki T, Seiki M. The phosphoinositide-binding protein ZF21 regulates ECM degradation by invadopodia. *PLoS One*. 8(1):e50825, 2013. (doi: 10.1371/journal.pone.0050825)
2. Weaver SA, Wolters B, Ito N, Woskowicz AM, Kaneko K, Shitomi Y, Seiki M, Itoh Y. Basal localization of MT1-MMP is essential for epithelial cell morphogenesis in 3D collagen matrix. *J Cell Sci*. 2014.
3. Sakamoto T, Weng JS, Hara T, Yoshino S, Kozuka-Hata H, Oyama M, Seiki M. Hypoxia-inducible factor 1 regulation through cross talk between mTOR and MT1-MMP. *Mol Cell Biol*. 34(1):30-42, 2013. (doi: 10.1128/MCB.01169-13)
4. Tang Y, Rowe RG, Botvinick EL, Kurup A, Putnam AJ, Seiki M, Weaver VM, Keller ET, Goldstein S, Dai J, Begun D, Saunders T, Weiss SJ. MT1-MMP-dependent control of skeletal stem cell commitment via a  $\beta$ 1-integrin/YAP/TAZ signaling axis. *Dev Cell*. 25(4):402-16, 2013. (doi: 10.1016/j.devcel.2013.04.011).
5. Hoshiko S, Kawaguchi M, Fukushima T, Haruyama Y, Yorita K, Tanaka H, Seiki M, Inatsu H, Kitamura K, Kataoka H. Hepatocyte growth factor activator inhibitor type 1 is a suppressor of intestinal tumorigenesis. *Cancer Res*. 73(8):2659-70, 2013. (doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3337)
6. Ichikawa, K., Ohshima, D., and Sagara, H., "Regulation of signal transduction by spatial parameters: a case in NF- $\kappa$ B oscillation", *IET Systems Biology*, 1-11, (2013), doi:10.1049/iet-syb.2013.0020.
7. Pham, T.D., and Ichikawa, K., "Spatial chaos and complexity in the intracellular space of cancer and normal cells", *Theoretical Modeling and Medical Biology*, 10:62, (2013), doi: 10.1186/1742-4682-10-62.
8. Watanabe, A., Hosino D., Koshikawa, N., Seiki, M., Suzuki, T., and Ichikawa, K., "Critical role of transient activity of MT1-MMP for ECM degradation in invadopodia", *PLoS Comp.Biol.*, 9, (2013), e1003086, doi: 10.1371/journal.pcbi.1003086.
9. Ibrahim R, Matsubara D, Osman W, Morikawa T, Goto A, Morita S, Ishikawa S, Aburatani H, Takai D, Nakajima J, Fukayama M, Niki T, Murakami Y. Expression of PRMT5 in lung adenocarcinoma and its significance in epithelial-mesenchymal transition. *Human Pathology*, in press.
10. Cortez VS, Cervantes-Barragan L, Song C, Gilfillan S, McDonald KG, Edelson BT, Murakami Y, Newberry RD, Sibley LD, Colonna M. CRTAM controls residency of

gut CD4+CD8+T cells in the steady state and maintenance of gut CD4 TH17 during parasitic infection. *J Exp. Med.*, in press.

11. Mimae T, Hagiyaama M, Inoue T, Yoneshige A, Kato T, Okada M, Murakami Y, Ito A. Increased ectodomain shedding of lung-epithelial cell adhesion molecule 1 as a cause of increased alveolar cell apoptosis in emphysema. *Thorax*, in press.
12. Ito A, Ichiyanagi N, Ikeda Y, Hagiyaama M, Inoue T, Kimura KB, Sakurai MA, Hamaguchi K, Murakami Y. Adhesion molecule CADM1 contributes to gap junctional communication among pancreatic islet  $\alpha$ -cells and prevents their excessive secretion of glucagon. *Islets*, in press.
13. Murakami S, Sakurai-Yageta M, Maruyama T, Murakami Y. Intercellular adhesion of CADM1 activates PI3K by forming a complex with MAGuK-family proteins MPP3 and Dlg. *PLoS One*, 9:e82894, 2014. (doi: 10.1371/journal.pone.0082894.)

### (3-2) 知財出願

- ① 平成 25 年度特許出願件数(国内 0 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 5 件)