

(平成 23 年度研究報告書)

21 分指-3-① がんの生物学的特性に着目した治療法および診断法の評価系の確立に関わる研究

富田 章弘 公益財団法人がん研究会・がん化学療法センター ゲノム研究部

研究の分類・属性

基礎系

研究の概要

本研究は、がん組織の微小環境の生物学に立脚した薬剤開発、診断法開発のための評価法の確立を目指すものである。特に、グルコース欠乏などの栄養飢餓状態に伴う、がん細胞のエネルギー代謝の変化やストレス応答を標的とする創薬研究の推進のための評価基盤を築くことを目的とする。本目的達成のため、1. がんの代謝特性に基づく薬剤の探索・作用機序解析、2. がんの生物学的特性の検出法、3. 作用コンセプトに基づく動物実験モデル構築と検証 の観点から、これまでに整えた共同研究体制を活用し研究に取り組む。

伝統薬物などから栄養飢餓条件下で選択的に細胞毒性を発揮する薬剤を探索する。また、これまでに見出してきた化合物を含め、作用機序解析を進める。そして、班員がおのおの見出した薬剤について、作用機序などの基盤情報の共有を加速させ、その情報を活用した化合物探索とその活性評価研究を行うことにより、共有基盤情報をさらに強化する。また、有用性の明らかになったメタボローム解析を一層活用し、栄養飢餓条件下で作用する薬剤の細胞毒性をエネルギー代謝の観点から評価し、薬剤の標的や作用機序の解明に役立てる。加えて、がんの増殖に関わることが明らかになってきた脂質代謝酵素について、治療標的としての可能性を追求するとともに、微小環境との関連を研究する。がんの生物学的特性の検出法としては、低酸素細胞集積性プローブを用いた臨床への展開研究、がん細胞の特徴をモニターする RI プローブや蛍光プローブの開発研究、腫瘍モデルでのメタボローム解析研究を続行する。これらの研究により得られる情報やツールを有効に活用し、上記の薬物が *in vivo* でも想定している環境や機序で作用し得るかを検証する研究を班内の共同作業を通じて推進し、微小環境から見た適切な動物実験モデルによる評価系の構築を目指す。

これらの研究を、班研究として効果的に融合し行うことによって、評価系構築のための基盤が確実に築かれることが期待される。なお本研究は、主に動物や培養細胞を用いた研究であるが、臨床材料を用いる研究も含まれており、各種倫理指針等を遵守し、各施設で倫理審査を受け、適切な措置を講じ研究を行う。

平成 23 年度研究経費

9,328 千円

研究班の組織

富田 章弘	公益財団法人がん研究会・がん化学療法センター部長	固形がん内部環境に対する細胞応答を標的とした治療法の研究
土原 一哉	国立がん研究センター・東病院臨床開発センター がん治療開発部 室長	栄養飢餓耐性分子機構の解析
門田 重利	富山大学・和漢医薬学総合研究所 教授	栄養飢餓条件下で作用する薬剤の探索

曾我 朋義	慶應義塾大学・環境情報学部 先端生命科学研究所 教授	メタボローム解析
清野 泰	福井大学・高エネルギー医学研究センター 准教授	サイクロトロンを利用したがんの核医学診断・治療用プローブの開発
浦野 泰照	東京大学・大学院医学系研究科教授	がんの生物学的特性に基づく蛍光プローブの創製
清宮 啓之	公益財団法人がん研究会・がん化学療法センター部長	脂質代謝を標的とする治療法の分子基盤・モデル系作りと検証

研究の目的と到達目標及び実績要点

全期間

(目的と到達目標)

がん細胞特異的な分子変化を標的にする治療法開発が精力的に試みられている。しかし、その特異性、および癌性細胞の出現など解決すべき点も多い。本研究では、がん組織に見られる特殊な微小環境に着目し、その生物学的特性に立脚した治療法および診断法開発に有用な評価系の確立を目指す。具体的には、1. がんの代謝特性に基づく薬剤の探索・作用機序解析、2. がんの生物学的特性の検出法、3. 作用コンセプトに基づく動物実験モデル構築と検証を中心に研究展開し、評価系の確立に結びつけることを目的とする。

低酸素状態や栄養飢餓状態を特徴とするがん微小環境では、がん細胞は代謝変化やストレス応答により生存すると考えられている。申請者らはこれまでに、がん細胞の栄養飢餓耐性反応を見出し、これを解除するキガマイシンやアルクチゲニン等の化合物が抗腫瘍効果を示すことを明らかにしてきた(門田、土原)。また同様に栄養飢餓状態で細胞毒性を示し抗腫瘍効果を有する VST 等の化合物が、がん細胞の小胞体ストレス応答を抑制することを明らかにしてきた(富田)。加えて最近では、がんにおける脂質代謝の重要性も明らかになってきた(清宮)。これらの事実は、微小環境におけるがん細胞のエネルギー代謝の変化やそれに伴う細胞応答が治療標的となることを示している。しかし、アルクチゲニンや VST 等の化合物は培養細胞系では類似した作用を示すものの、その作用機序や生体内での作用様式については不明な点が多く、臨床開発への展開は容易ではない。

こうした新たなタイプの薬剤の開発支援のためには、微小環境におけるがん細胞の特徴を診断し治療に結びつけるための評価系の構築が必須である。この必要性に対応するべく、本研究では、より有効な薬剤候補の探索を続行し作用機序解析を進めるとともに、ヒトがんの微小環境からみた適切なモデル系の構築に取り組む。その際に、これまでの研究から有用性が明らかになってきた、キャピラリー電気泳動-質量分析装置によるメタボローム解析の手法(曾我)を活用し、エネルギー代謝物質の解析を効率的に行う。また同時に、低酸素状態やがん細胞の生物活性を検出できる独自技術(清野、浦野)を基盤に、微小環境の評価に有用なプローブの創製研究を進める。これらを班研究として効果的に融合し、評価系構築のための基盤を迅速に築くことを目指す。

(第3年次評価時点の実績要点)

- 遺伝子発現データや細胞毒性パターンを活用することによって、栄養飢餓環境下で作用する栄養飢餓耐性解除薬やUPR抑制化合物を評価し探索することが可能であることを明らかにした。
- 薬用植物等から栄養飢餓環境下で選択的にがん細胞を死滅させる新たな化合物の探索研究を進め、Kayeassamins (A, B, D, E, G)、chrysoplenetin、chrysosplenol D、Ostruthin、Bornyl ferulate、Damnacanthal、キサントン類縁化合物を単離・同定した。
- 臨床開発ステージにある栄養飢餓耐性解除薬アルクチゲニンについて、構造活性相関を明らかにするとともに、UPR抑制活性を有することを明らかにした。

- ・ 栄養飢餓耐性解除薬（アルクチゲニン、キガマイシン、パモ酸ピルビニウム）がグルコース欠乏環境特異的に殺細胞効果を発揮する際に細胞内活性酸素(ROS)が重要な働きを担うことを明らかにした。また、メタボローム解析により、アルクチゲニンによって酸化リン酸化の阻害が示唆される結果を得た。
- ・ 7種のがん細胞株および4種の正常細胞をグルコース欠乏かつ低酸素条件において培養し、メタボローム解析を行い、ほぼ全てのがん細胞株においてフマル酸の減少およびコハク酸の蓄積が確認され、がん細胞がフマル酸呼吸により ATP 生成を行っている可能性を示唆する結果を得るとともに、これらの変化が、栄養飢餓耐性解除薬として見出された、フマル酸呼吸の阻害作用を持つピルビニウムパモエートにより阻害されることを明らかにした。
- ・ 脂質代謝酵素である ATP-クエン酸リアーゼ (ACLY)、アセチル Co-A カルボキシラーゼ (ACAC)、脂肪酸合成酵素 (FASN) のノックダウンにより、これら酵素の枯渇が様々ながん細胞の増殖抑制を導くこと、特に効果の強かった ACLY の枯渇による細胞増殖抑制は ROS および AMPK のリン酸化のレベルが低い細胞で顕著であることが明らかになった。
- ・ 低酸素部位集積性の ⁶⁴Cu-ATSM は、低酸素領域やミトコンドリア機能不全領域に集積すること、担がんマウスにおいて治療効果を有すること、また、⁶²Cu-ATSM を用いた臨床 PET イメージング研究において、¹⁸F-FDG の集積パターンと異なることを見出した。一方で、新しい放射性プローブの Br-BTdU の研究を進め、増殖能の高いがん細胞に集積し、その細胞内での集積部位が DNA 画分であることを明らかにした。
- ・ 加水分解酵素活性を検出可能な蛍光プローブの設計法を確立し、種々のアミノペプチダーゼ活性を鋭敏に検出する蛍光プローブ群の開発に成功した。そして、γ-グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT) に対する蛍光プローブによって、がん部位と正常部位の境界を可視化できることが明らかとなった。
- ・ UPR 阻害化合物のなかで水溶性ビグアナイドのブホルミンを用い、翻訳開始抑制因子 4E-BP1 の脱リン酸化が栄養飢餓選択的に作用する薬剤のバイオマーカーとして利用可能ながん細胞に集積し、その細胞内での集積部位が DNA 画分であることを明らかにした。
- ・ アルクチゲニンの治療効果の検証実験を進め、ヒト膵臓がんゼノグラフトモデルにおいて、ゲムシタビンの併用によってそれぞれ単独よりも有効性が高まることを見出した。
- ・ 栄養飢餓選択的薬剤を用いた研究から、これらの薬剤の中にはミトコンドリア機能を抑制するものが多く含まれることが明らかになってきたが、こうした薬剤の抗腫瘍効果と合致して、ミトコンドリア DNA を欠損した ρ⁰ 細胞株は造腫瘍性が非常に低いことを見出した。

第3年次

(到達目標)

- 1 アルクチゲニンとその誘導体について、39種類のヒトがん細胞に対する細胞毒性パターンを基盤に、既知のUPR抑制化合物との類似性を評価する。
- 2 栄養飢餓耐性解除薬（アルクチゲニン、キガマイシン、パモ酸ピルビニウム）の機序解析を進める。
- 3 アフリカ産薬用植物 *Securidaca longepedunculata* ならびにミャンマー産薬用植物 *Vitex negundo* から、栄養飢餓耐性解除活性物質の探索を行う。
- 4 アルクチゲニンを投与した Panc-1 のメタボローム解析を行いエネルギー代謝の時系列変動を調べるとともに、ミトコンドリア複合体に対する阻害剤を投与した際のメタボローム解析データを統合し、アルクチゲニンの作用機序を検討する。
- 5 ACLY の枯渇によるがん細胞の増殖抑制機構として、AMPK および ROS の関与を明らかにするとともに、トランスクリプトームおよびメタボローム解析により ACLY 枯渇の制がん効果を反映するマーカーを抽出する。
- 6 様々ながん種において Cu-ATSM-PET イメージングの臨床研究を行うとともに、放射性臭素標識 BTdU の内照射治療効果を確認する。
- 7 γ-グルタミルトランスペプチダーゼ活性検出蛍光プローブ (gGlu-HMRG) のがん特異性を検証するとともに、蛍光内視鏡と組み合わせた際にがん部位検出が可能かどうか検討する。
- 8 ミトコンドリア DNA を欠損した ρ⁰ 細胞株を用い、ミトコンドリア機能の抑制と抗腫瘍効果の関係を検討する。

(年次評価時点の実績要点)

- 1 アルクチゲニンならびにその誘導体の細胞毒性のパターンは、既知のUPR抑制化合物と高い類似性を示すこと、また、UPRの抑制活性を有することを明らかにした。
- 2 栄養飢餓耐性解除薬（アルクチゲニン、キガマイシン、パモ酸ピルビニウム）がグルコース欠乏環境特異的に殺細胞効果を発揮する際に細胞内活性酸素が重要な働きを担うことを明らかにした。
- 3 栄養飢餓耐性解除活性物質として新たに、アフリカ産薬用植物 *Securidaca longepedunculata* から Xanthone 類、ミャンマーの薬用植物 *Vitex negundo* から chrysosplenetin 及び chrysosplenol D を単離、同定した。

- 4 アルクチゲニン投与後数十分という短時間で TCA 回路中間物質の低下や酸化型グルタチオンの増加、ATP 等エネルギーチャージの低下が確認され、アルクチゲニンによる酸化的リン酸化の阻害が示唆された。これは、複合体阻害剤であるロテノン投与した際の、エネルギー代謝関連物質の変化が酷似していることから裏付けられた。
- 5 ACLY の枯渇は ROS レベルの上昇を介してがん細胞の増殖を抑制することを見出した。増殖抑制が顕著な細胞では ROS に加え、AMPK のリン酸化レベルおよび中性脂質の含有量が上昇することから、これらのパラメータは ACLY 枯渇の制がん効果を反映するマーカー因子となる可能性が示唆された。
- 6 低酸素集積性の Cu-ATSM を用いた PET 臨床研究より FDG との集積パターンが異なること、Cu-ATSM はミトコンドリア機能不全の細胞にも集積すること、放射性臭素標識 BTdU ががん細胞の DNA 合成能を評価するプローブおよび内照射治療薬剤として有効であることを見出した。
- 7 肺、肝、胆管、胃、卵巣がん細胞における GGT 活性を検討し、がん細胞における活性は一般に高いこと、また、SHIN3 細胞を腹腔内に播種したがんモデルマウスで、gGlu-HMRG を散布することでがん部位と正常部位の境界の可視化が可能であることが明らかとなった。
- 8 HT29 細胞由来の ρ^0 細胞株では造腫瘍性が非常に低いことを見出し、親株と ρ^0 細胞株のゼノグラフト間でのトランスクリプトーム比較解析への展開を図った。

研究成果と考察

第3年次評価時点

【成果】平成 23 年度の研究成果を以下に項目ごとにまとめて述べる。

1. がんの代謝特性に基づく薬剤の探索・作用機序解析

1-1) 栄養飢餓条件下で作用する薬剤の探索と評価

ストレス応答 UPR は栄養飢餓環境下でのがん細胞の生存に重要な役割を果たす。昨年度までに、抗腫瘍効果を有する UPR 阻害化合物として見出してきた VST やビッグアナイド系糖尿病薬などを利用し、遺伝子発現データや細胞毒性パターンによって、栄養飢餓環境下で作用する UPR 抑制化合物を評価し探索することが可能であることを明らかにしてきた。本年度は、栄養飢餓選択的薬剤として現在開発の進められているアルクチゲニンとその誘導体について、39 種類のヒトがん細胞に対する細胞毒性パターンを基盤に、既知の UPR 抑制化合物との類似性を評価した。その結果、通常条件下で弱いながらも検出される、アルクチゲニンならびにその誘導体の細胞毒性のパターンは、既知の UPR 抑制化合物と高い類似性を示すことが判明した。また、これらのアルクチゲニンとその誘導体については、UPR の抑制活性も検証され、細胞毒性パターンを用いた評価系の有用性が確認された。

一方で、薬用植物等から栄養飢餓環境下で選択的にがん細胞を死滅させる新たな化合物の探索研究を進めた。本年度は、アフリカ産薬用植物 *Securidaca longepedunculata* より、比較的強い栄養飢餓選択的細胞毒性を示す化合物として、1,6-dihydroxy-2,3,4,5,8-pentamethoxyxanthone ならびに 3,6,8-trihydroxy-2,3,4,5-tetramethoxyxanthone を同定した。また、薬用植物 *Vitex negundo* より、活性成分として既知化合物の chrysopenetin 及び chrysosplenol D を同定した。chrysopenetin については、ヒトがん細胞パネルによる活性評価を行い、従来の細胞毒性化合物や UPR 抑制化合物とは異なる細胞毒性パターンを示すことが明らかになった。

1-2) 栄養飢餓条件下での代謝特性と薬剤の作用機序解析

キャピラリー電気泳動飛行時間型質量分析装置 (CE-TOFMS) を用い、培養細胞レベルでのメタボローム解析を継続した。本年度は、すい臓がん Panc-1 細胞に対しグルコース有無の条件でアルクチゲニンを投与し、薬剤投与後、比較的短時間 (投与後 10 分から 180 分) における細胞代謝の変化を検討した。前年度に取得した比較的長時間 (投与後 3 時間から 12 時間) におけるメタボローム変化と比較することで、アルクチゲニン投与による、より直接的なエネルギー代謝への影響と、細胞死を伴うより二次的な細胞代謝の変動を時系列的に検討した。グルコース欠乏条件では、アルクチゲニン投与後数十分で TCA 中間物質の顕著な低下および酸化型グルタチオンの増加が見られ、TCA 回路の停滞とそれに伴う酸化ストレスの亢進が、非常に早い時間で生じることが示唆された。また、グルコース存在下において解糖系中間物質およびピルビン酸や乳酸が増加することから、嫌氣的解糖の亢進がアルクチゲニン投与後非常に早い段階で生じることも明らかとなった。さらにアルクチゲニンの長時間の投与により必須アミノ酸の増加が目立ったが、結果としてメタボロームプロファイル全体としては、グルコース欠乏条件におけるアルクチゲニン投与時のプロファイルに近い様相を徐々に呈することが明らかになった。

栄養飢餓耐性解除薬のアルクチゲニン、キガマイシン、パモ酸ピルビニウムの作用機序解析を進め、これらの薬剤は共通して、グルコース欠乏環境特異的にがん細胞の細胞内活性酸素種 (ROS) を急激に増大させること、それにとまって AKT の活性を低下させることが明らかになった。これらの変化は上記薬剤の特異的な殺細胞効果ともよく関連してい

た。

1-3) 脂質代謝を標的とする治療法の分子基盤

がん細胞はしばしば脂質を盛んに合成するが、昨年度までに、脂質代謝酵素である ATP-クエン酸リアーゼ (ACLY)、アセチル Co-A カルボキシラーゼ (ACAC)、脂肪酸合成酵素 (FASN) のノックダウンにより、これら酵素の枯渇が増殖抑制効果を示すこと、酵素間の効果比較では ACLY の枯渇が最も顕著であることを見出してきた。本年度は、ACLY の枯渇は細胞内 ROS レベルの上昇をもたらし、がん細胞の増殖抑制をもたらすことを明らかにした。ACLY の枯渇による細胞増殖抑制は、AMPK のリン酸化レベルが低い細胞で顕著であることを見出した。ヒト大腸がんでは、ステージが進行した腫瘍ほど AMPK リン酸化レベルおよび ROS レベルを反映する DNA 酸化損傷の程度が低く、ACLY の阻害に対して感受性を示す可能性が示された。また、トランスクリプトームおよびメタボローム解析を実施し、ACLY 枯渇の制がん効果を反映するマーカーの候補因子群を抽出した。

2. がんの生物学的特性の検出法

がん組織の微小環境評価に有用な RI 分子プローブや蛍光プローブの開発を目指し、RI 分子プローブについては低酸素部位集積性の ^{64}Cu -ATSM とチミジン誘導体の放射性 Br-BTdU の研究、蛍光プローブについては γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT) 活性検出蛍光プローブ (gGlu-HMRG) の研究を進めた。 ^{64}Cu -ATSM 研究では、mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS) 患者の細胞から作製したミトコンドリア機能不全細胞株を用いて、通常酸素濃度条件下においても放射性 Cu-ATSM の集積が正常細胞と比較して有意に上昇することを見出した。また、 ^{62}Cu -ATSM を用いた臨床 PET イメージング研究では、扁平上皮がんと腺がんでは ^{62}Cu -ATSM と ^{18}F -FDG の集積パターンが異なることを見出した。放射性 Br-BTdU 研究では、放射性 Br-BTdU が増殖能の高いがん細胞に集積し、その細胞内での集積部位が DNA 画分であることを明らかにした。GGT 活性検出蛍光プローブ gGlu-HMRG については、まず、培養がん細胞における GGT 活性の測定や GGT 選択的阻害剤 GGsToP を用いた検討により、gGlu-HMRG によるイメージングは各細胞の GGT 活性に由来するものであることを示した。次に SHIN3 細胞を腹腔内に播種したがんモデルマウスにおいて、蛍光内視鏡下で gGlu-HMRG を散布することで、がん部位と正常部位の境界を可視化できることが明らかとなった。

3. 作用コンセプトに基づく動物実験モデル構築と検証

上記の研究で見出した薬剤や標的分子が *in vivo* でも想定している環境や機序で作用するかを評価・検証する系の構築を目指し、初年度より、UPR 阻害化合物のなかで水溶性ビグアナイドのブホルミンを用いた検討を継続してきた。その結果、実験腫瘍内へのブホルミン投与によって、栄養飢餓状態の培養がん細胞と同様に、がん抑制因子としても知られる翻訳開始抑制因子 4E-BP1 の脱リン酸化が観察され、4E-BP1 が栄養飢餓選択的に作用する薬剤のバイオマーカーとして利用可能なことが明らかになった。一方、栄養飢餓選択的薬剤を用いた研究から、これらの薬剤の中にはミトコンドリア機能を抑制するものが多く含まれることが明らかになってきた。こうした薬剤の抗腫瘍効果と合致して、ミトコンドリア DNA を欠損した HT-29 の ρ^0 細胞株では、造腫瘍性が非常に低いことを見出した。現在、栄養飢餓選択的薬剤の評価に有用なバイオマーカーの同定を目指し、親株と ρ^0 細胞株のゼノグラフトモデルを活用し、ゼノグラフト間でのトランスクリプトーム比較解析を進めている。

【考察】本年度の研究推進によって、遺伝子発現データや細胞毒性パターンを活用した類似性の比較が、栄養飢餓で作用する薬剤の評価系として極めて有用であることが確認された。すなわち、別々のアッセイ系で見出されてきた、栄養飢餓耐性解除薬と UPR 抑制薬剤が、同一プラットフォームでの解析によって、非常に類似した作用を有していることを明らかにすることができた。なかでも、研究班内での共同研究が原動力となり、現在開発の進められているアルクチゲニンが両作用を有することを明らかにできた点は、班研究としての重要な成果である。また、いずれのタイプの薬剤も、メタボローム解析や作用機序解析から、ミトコンドリアの機能阻害が重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。こうした観点から、 ^{64}Cu -ATSM が、低酸素領域のみならず、ミトコンドリア機能の抑制されたがん細胞もイメージングできる可能性を見出したことは、今後の展開を考える上で大変興味深いものと考えている。一方で、栄養飢餓環境下で選択的にがん細胞を死滅させる新たな化合物の探索研究から見出された化合物の中には、細胞毒性パターンの評価系では異なる挙動を示すものがあることも分かってきた。今後こうした化合物の解析を進めることで、新しいメカニズムの発見につながることも期待でき、さらに研究を継続することが必要であると考えている。こうした新しい方向性の研究については、脂質代謝を標的とした新しい研究や応用性の高い蛍光プローブの研究などと組合せることが肝要ではないかと考えている。

倫理面への配慮

本研究は、主に動物や培養細胞を用いた研究であり、これらに関しては、各施設の倫理審査委員会での審査を受けて研究を推進している。DNA 組換え実験、動物実験、細胞生物学的実験等については、一般的な法令、動物実験指針等を遵守するとともに、各施設の動物実験等取扱規程、遺伝子組換え実験安全規程等に従って行った。メタボロミクス解析や蛍光プローブ研究など臨床材料を用いる研究を行う場合、また臨床検体の遺伝子解析等を行う必要が生じた場合には、臨床研究に関する倫理指針、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針等を遵守し、各施設で倫理審査を受け、匿名化試料のみを扱うなどの適切な措置を講じる。⁶²Cu-ATSM のジェネレーターを用いた臨床研究や、薬物の臨床導入を目指す場合には、早い段階から倫理審査を受ける。現時点では臨床研究登録の予定はないが、必要に応じ登録を行う。

本研究に関連する、本研究期間中の主な発表論文等

【2011 年度】

- Matsuo J, Tsukumo Y, Saito S, Tsukahara S, Sakurai J, Sato S, Kondo H, Ushijima M, Matsuura M, Watanabe T, Tomida A. Hyperactivation of 4E-binding protein 1 as a mediator of biguanide-induced cytotoxicity during glucose deprivation. *Mol Cancer Ther*, in press.
- Saito S, Tomida A. Use of chemical genomics in assessment of the UPR. *Methods Enzymol*, 491:327-41, 2011.
- Awale S, Linn TZ, Li F, Tezuka Y, Myint A, Tomida A, Yamori T, Esumi H, Kadota S. Identification of Chrysopenetin from *Vitex negundo* as a Potential Cytotoxic Agent against PANC-1 and a Panel of 39 Human Cancer Cell Lines (JFCR-39). *Phytother Res*, 25:1770-1775, 2011.
- Assaily W, Rubinger DA, Wheaton K, Lin Y, Ma W, Xuan W, Brown-Endres L, Tsuchihara K, Mak TW, Benchimol S. ROS-Mediated p53 Induction of Lpin1 Regulates Fatty Acid Oxidation in Response to Nutritional Stress. *Mol Cell*, 44:491-501, 2011.
- Zaugg K, Yao Y, Reilly PT, Kannan K, Kiarash R, Mason J, Huang P, Sawyer SK, Fuerth B, Faubert B, Kalliomäki T, Elia A, Luo X, Nadeem V, Bungard D, Yalavarthi S, Growney JD, Wakeham A, Moolani Y, Silvester J, Ten AY, Bakker W, Tsuchihara K, Berger SL, Hill RP, Jones RG, Tsao M, Robinson MO, Thompson CB, Pan G, Mak TW. Carnitine palmitoyltransferase 1C promotes cell survival and tumor growth under conditions of metabolic stress. *Genes Dev*, 25:1041-1051, 2011.
- Onozuka H, Tsuchihara K, Esumi H. Hypoglycemic/hypoxic condition in vitro mimicking the tumor microenvironment markedly reduced the efficacy of anticancer drugs. *Cancer Sci*, 102:975-982, 2011.
- Li F, He Y-M, Awale S, Kadota S, Tezuka Y. Two New Cytotoxic Phenylallylflavanones from Mexican Propolis. *Chem Pharm Bull*, 59:1194-1196, 2011.
- Tezuka Y, Morikawa K, Li F, Auw L, Awale S, Nobukawa T, Kadota S. Cytochrome P450 3A4 Inhibitory Constituents of the Wood of *Taxus yunnanensis*. *J Nat Prod*, 74:102-105, 2011.
- Subehan, Takahashi N, Kadota S, Tezuka Y. Cytochrome P450 2D6 Inhibitory Constituents of *Lunasia amara*. *Phytochemistry Lett*, 4:30-33, 2011.
- Soga T, Sugimoto M, Honma M, Mori M, Igarashi K, Kashikura K, Ikeda S, Hirayama A, Yamamoto T, Yoshida H, Otsuka M, Tsuji S, Yatomi Y, Sakuragawa T, Watanabe H, Nihei K, Saito T, Kawata S, Suzuki H, Tomita M, Suematsu M. Serum Metabolomics Reveals γ -glutamyl Dipeptides as Biomarkers for discrimination among Different Forms of Liver Disease. *J Hepatol*, 55:896-905, 2011.
- Adam J, Hatipoglu E, O' Flaherty L, Ternette N, Sahgal N, Lockstone H, Baban D, Nye E, Stamp GW, Wolhuter K, Stevens M, Fischer R, Carmeliet P, Maxwell PH, Pugh CW, Frizzell N, Soga T, Kessler BM, El-Bahrawy M, Ratcliffe PJ, Pollard PJ. Renal Cyst Formation in Fhl1-Deficient Mice Is Independent of the Hif/Phd Pathway: Roles for Fumarate in KEAP1 Succination and Nrf2 Signaling. *Cancer Cell*, 20:524-537, 2011.
- Iino K, Sugimoto M, Soga T, Tomita M. Profiling of the Charged Metabolites of Traditional Herbal Medicines Using Capillary Electrophoresis time-of-flight Mass Spectrometry. *Metabolomics*, 8:99-108, 2012.
- Yoshii Y, Furukawa T, Kiyono Y, Watanabe R, Mori T, Yoshii H, Asai T, Okazawa H, Welch MJ, Fujibayashi Y. Internal radiotherapy with copper-64-diacetyl-bis(N4-methylthiosemicarbazone) reduces CD133+ highly tumorigenic cells and metastatic ability of mouse colon carcinoma. *Nucl Med Biol*, 38:151-157, 2011
- Oyama N, Hasegawa Y, Kiyono Y, Kobayashi M, Fujibayashi Y, Ponde DE, Dence C, Welch MJ, Yokoyama O. Early response assessment in prostate carcinoma by 18F-fluorothymidine following anticancer therapy with docetaxel

- using preclinical tumour models. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 38:81-89, 2011.
- Urano Y, Sakabe M, Kosaka N, Ogawa M, Mitsunaga M, Asanuma D, Kamiya M, Young MR, Nagano T, Choyke PL, Kobayashi H. Rapid cancer detection by topically spraying a γ -glutamyltranspeptidase-activated fluorescent probe. *Sci Transl Med*, 3:110ra119, 2011.
- Kamiya M, Asanuma D, Kuranaga E, Takeishi A, Sakabe M, Miura M, Nagano T, Urano Y. β -Galactosidase Fluorescence Probe with Improved Cellular Accumulation Based on Spirocyclized Rhodol Scaffold. *J Am Chem Soc*, 133:12960-12963, 2011.
- Koide Y, Urano Y, Hanaoka K, Terai T, Nagano T. Development of an Si-rhodamine-based far-red to near-infrared fluorescence probe selective for hypochlorous acid and its applications for biological imaging. *J Am Chem Soc*, 133:5680-5682, 2011.
- Koide Y, Urano Y, Hanaoka K, Terai T, Nagano T: Evolution of group 14 rhodamines as platforms for near-infrared fluorescence probes utilizing photoinduced electron transfer. *ACS Chem Biol*, 6:600-608, 2011.
- Mashima T, Okabe S, Seimiya H. Molecular pharmacological approach reveals potential new strategies to suppress androgen receptor signaling in prostate cancer. *Mol Cell Pharmacol*, 3:7-12, 2011.
- Mashima T, Seimiya H. Role of acyl-CoA synthetases in glioma cell survival and its therapeutic implication. *Tumors of the Central Nervous System*, 1:337-340, 2011.

【2010 年度】

- Haga N, Saito S, Tsukumo Y, Sakurai J, Furuno A, Tsuruo T, Tomida A. Mitochondria regulate the unfolded protein response leading to cancer cell survival under glucose deprivation conditions. *Cancer Sci*, 101:1125-1132, 2010.
- Kim JY, Hwang JH, Cha MR, Yoon MY, Son ES, Tomida A, Ko B, Song SW, Shin-ya K, Hwang YI, Park HR. Arctigenin blocks the unfolded protein response and shows therapeutic antitumor activity. *J Cell Physiol*, 224:33-40, 2010.
- Misawa A, Katayama R, Koike S, Tomida A, Watanabe T, Fujita N. AP-1-Dependent miR-21 expression contributes to chemoresistance in cancer stem cell-like SP cells. *Oncol Res*, 19:23-33, 2010.
- Miyake K, Tezuka Y, Awale S, Li F, Kadota S. Canthin-6-one alkaloids and a tirucallanoid from *Eurycoma longifolia* Jack. *Nat Prod Commun*, 5:17-22, 2010.
- He CC, Hui RR, Tezuka Y, Kadota S, Li JX. Osteoprotective effect of extract from *Achyranthes bidentata* in ovariectomized rats. *J Ethnopharmacol*, 127:229-234, 2010.
- Li F, Awale S, Tezuka Y, Esumi H, Kadota S. Study on the Constituents of Mexican Propolis and Their Cytotoxic Activity against PANC-1 Human Pancreatic Cancer Cells. *J Nat Prod*, 73:623-627, 2010.
- Miyake K, Li F, Tezuka Y, Awale S, Kadota S. Cytotoxic Activity of Quassinoids from *Eurycoma longifolia*. *Nat Prod Commun*, 5:1009-1012, 2010.
- Morikawa K, Tanaka K, Li F, Awale S, Tezuka Y, Nobukawa T, Kadota S. Analysis of MS/MS fragmentation of taxoids. *Nat Prod Commun*, 5:1551-1556, 2010.
- Li F, Awale S, Tezuka Y, Esumi H, Kadota S. Cytotoxicity of Constituents from Mexican Propolis Against a Panel of Six Different Cancer Cell Lines. *Nat Prod Commun*, 5:1601-1606, 2010.
- Widyowati R, Miyahara T, Tezuka Y, Awale S, Kadota S. Enhancement of alkaline phosphatase (ALP) activity by Indonesian medicinal plants and active constituents of *Barleria lupulina*. *Nat Prod Commun*, 5:1711-1716, 2010.
- Kitagawa M, Ikeda S, Tashiro E, Soga T, Imoto M. Metabolomic Identification of the Target of the Filopodia Protrusion Inhibitor Glucopiericidin A. *Chem Biol*, 17:989-998, 2010.
- Sugimoto M, Hirayama A, Robert M, Abe S, Soga T, Tomita M. Prediction of metabolite identity from accurate mass, migration time prediction and isotopic pattern information in CE-TOFMS data. *Electrophoresis*, 31:1-8, 2010.
- Horai H, Arita M, Kanaya S, Nihei Y, Ikeda T, Suwa K, Ojima Y, Tanaka K, Tanaka S, Aoshima K, Oda Y, Kakazu Y, Kusano M, Tohge T, Matsuda F, Sawada Y, Hirai YM, Nakanishi H, Ikeda K, Akimoto N, Maoka T, Takahashi H, Ara T, Sakurai N, Suzuki H, Shibata D, Neumann S, Iida T, Tanaka K, Funatsu K, Matsuura F, Soga T, Taguchi R, Saito K, Nishioka T. MassBank: A Public Repository for Sharing Mass Spectral Data for Life Sciences. *J Mass Spectro*, 45:703-714, 2010.
- Sugimoto M, Hirayama A, Ithikawa T, Robert M, Baran R, Uehara K, Kawai K, Soga T, Tomita M. Differential

- Metabolomics Software for Capillary Electrophoresis–Mass Spectrometry Data Analysis. *Metabolomics*, 6:27–41, 2010.
- Sugimoto M, Wong D, Hirayama A, Soga T, Tomita M. Capillary Electrophoresis Mass Spectrometry–based Saliva Metabolomics Identified Oral, Breast and Pancreatic Cancer–Specific Profiles. *Metabolomics*, 6:78–95, 2010.
- Yoshii Y, Furukawa T, Kiyono Y, Watanabe R, Waki A, Mori T, Yoshii H, Oh M, Asai T, Okazawa H, Welch MJ, Fujibayashi Y. Copper–64–diacetyl–bis(N4–methylthiosemicarbazone) accumulates in rich regions of CD133+ highly tumorigenic cells in mouse colon carcinoma. *Nucl Med Biol*, 37:395–404, 2010
- Kobayashi H, Ogawa M, Alford R, Choyke PL, Urano Y. New Strategies for Fluorescent Probe Design in Medical Diagnostic Imaging. *Chem Rev*, 110:2620–40, 2010.
- Mashima T, Okabe S, Seimiya H. Pharmacological targeting of constitutively active truncated androgen receptor by nigericin and suppression of hormone–refractory prostate cancer cell growth. *Mol Pharmacol*, 78:846–854, 2010.

【2009 年度】

- Saito S, Furuno A, Sakurai J, Sakamoto A, Park HR, Shin–Ya K, Tsuruo T, Tomida A. Chemical genomics identifies the unfolded protein response as a target for selective cancer cell killing during glucose deprivation. *Cancer Res*, 69:4225–4234, 2009.
- Tsukumo Y, Tsukahara S, Saito S, Tsuruo T, Tomida A. A novel endoplasmic reticulum export signal: proline at the +2–position from the signal peptide cleavage site. *J Biol Chem*, 284:27500–27510, 2009.
- Matsuo J, Tsukumo Y, Sakurai J, Tsukahara S, Park HR, Shin–ya K, Watanabe T, Tsuruo T, Tomida A. Preventing the unfolded protein response via aberrant activation of 4E–binding protein 1 by versipelostatin. *Cancer Sci*, 100:327–333, 2009.
- Arnaudeau S, Arboit P, Bischof P, Shin–ya K, Tomida A, Tsuruo T, Irion O, Cohen M. Glucose–regulated protein 78: a new partner of p53 in trophoblast. *Proteomics*, 9:5316–5327, 2009.
- Miyawaki J, Matsumura S, Yuge R, Murakami T, Sato S, Tomida A, Tsuruo T, Ichihashi T, Fujinami T, Irie H, Tsuchida K, Iijima S, Shiba K, Yudasaka M. Biodistribution and ultrastructural localization of single–walled carbon nanohorns determined in vivo with embedded Gd203 labels. *ACS Nano*, 3:1399–1406, 2009.
- Matsumura S, Sato S, Yudasaka M, Tomida A, Tsuruo T, Iijima S, Shiba K. Prevention of carbon nanohorn agglomeration using a conjugate composed of comb–shaped polyethylene glycol and a peptide aptamer. *Mol Pharm*, 6:441–447, 2009.
- Yun J, Kim YI, Tomida A, Choi CH. Regulation of DNA topoisomerase IIalpha stability by the ECV ubiquitin ligase complex. *Biochem Biophys Res Commun*, 389:5–9, 2009.
- Li F, Awale S, Zhang H, Tezuka Y, Esumi H, Kadota S. Chemical constituents of propolis from Myanmar and their preferential cytotoxicity against a human pancreatic cancer cell line. *J Nat Prod*, 72:1283–1287, 2009.
- Li F, Awale S, Tezuka Y, Kadota S. Cytotoxic Constituents of Propolis from Myanmar and Their Structure–activity Relationship. *Biol Pharm Bull*, 32:2075–2078, 2009.
- Awale S, Miyamoto T, Linn TZ, Li F, Win NN, Tezuka Y, Esumi H, Kadota S. Cytotoxic Constituents of Soymida febrifuga from Myanmar. *J Nat Prod*, 72:1631–1636, 2009.
- Miyake K, Tezuka Y, Awale S, Li F, Kadota S. Quassinoids from *Eurycoma longifolia*. *J Nat Prod*, 72:2135–2140, 2009.
- Minami Y, Kasukawa T, Kakazu Y, Iigo M, Sugimoto M, Ikeda S, Yasui A, van der Horst G, Soga T, Ueda H. Measurement of Internal Body Time by Blood Metabolomics. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106:9890–9895, 2009.
- Hirayama A, Kami K, Sugimoto M, Sugawara M, Toki N, Onozuka H, Kinoshita T, Saito N, Ochiai A, Tomita M, Esumi H, Soga T. Quantitative Metabolome Profiling of Colon and Stomach Cancer Microenvironment by Capillary Electrophoresis Time–of–flight Mass Spectrometry. *Cancer Res*, 69:4918–4925, 2009.
- Soga T, Igarashi K, Itoh C, Mizobuchi K, Zimmermann H, Tomita M. Metabolomic Profiling of Anionic Metabolites by Capillary Electrophoresis Mass Spectrometry. *Anal Chem*, 81:6165–6174, 2009.
- Oh M, Tanaka T, Kobayashi M, Furukawa T, Mori T, Kudo T, Fujieda S, Fujibayashi Y. Radio–copper–labeled Cu–ATSM: an indicator of quiescent but clonogenic cells under mild hypoxia in a Lewis lung carcinoma model. *Nucl Med Biol*, 36:419–26, 2009.
- Izumi S, Urano Y, Hanaoka K, Terai T, Nagano T. A simple and effective strategy to increase the sensitivity of fluorescence probes in living cells. *J Am Chem Soc*, 131:10189–10200, 2009.

- Koide Y, Urano Y, Yatsushige A, Hanaoka K, Terai T, Nagano T. Design and development of enzymatically activatable photosensitizer based on unique characteristics of thiazole orange. *J Am Chem Soc*, 131: 6058-6059, 2009.
- Mashima T, Sato S, Okabe S, Miyata S, Matsuura M, Sugimoto Y, Tsuruo T, Seimiya H. Acyl-CoA synthetase as a cancer survival factor: its inhibition enhances the efficacy of etoposide. *Cancer Sci*, 100:1556-1562, 2009.
- Mashima T, Seimiya H, Tsuruo T. De novo fatty-acid synthesis and related pathways as molecular targets for cancer therapy. *Br J Cancer*, 100:1369-1372, 2009.
- Mashima T, Sato S, Sugimoto Y, Tsuruo T, Seimiya H. Promotion of glioma cell survival by acyl-CoA synthetase 5 under extracellular acidosis conditions. *Oncogene*, 28:9-19, 2009.