

(総合研究報告書)

23-A-12 がん幹細胞に対する新規分子標的治療薬の
開発を目指した基盤研究

北林 一生
独立行政法人国立がん研究センター
研究所 造血器腫瘍研究分野 分野長

研究の分類・属性

発がん・がん生物学

研究の概要

がん幹細胞は、しばしば治療抵抗性を示して治療後に残存し、再発の原因となると考えられる。がん組織の維持や再生には、がん幹細胞は自己複製能を維持すると共に、これらの周囲を取り囲む間質細胞が形成する幹細胞ニッチが必要である。本研究では、がん幹細胞の自己複製や治療抵抗性の分子メカニズムを解明することにより、がん幹細胞根絶の標的分子やその他の鍵分子を同定し、新たな根治療法の開発に向けた探索的基盤研究を行う。また、がん幹細胞の維持に重要な周囲間質細胞を同定し、それらの構成細胞の生物像を解明し、がん治療法の開発基盤とすることを目指す。申請者らは、ヒトおよびマウスの種々の正常細胞に、ヒトがんで変異や高い発現が見られる遺伝子セットを導入することにより、様々な人工がん幹細胞システムを確立することに成功し、これらを試験内で維持する技術およびヒトがんを模倣する動物モデルを確立し、発現プロファイル解析や機能的スクリーニングによりがん幹細胞特異的に発現作用する因子を同定している。これらのシステムや知見を基盤として、がん幹細胞の成立・維持機構を解析することにより、がん幹細胞の自己複製や治療抵抗性の分子機構を明らかし、これらを制御する鍵因子を同定する。これらの因子の条件的遺伝子欠損マウス等を用いてがんが治癒するかどうかを検証することにより、がん幹細胞の自己複製に必要な不可欠な因子を同定する。新たな治療薬開発のため、これまでに樹立した人工がん幹細胞とこれらを試験内で維持培養する技術を応用した新たな治療薬のスクリーニングシステムを既に樹立していて、これらのシステムを用いてがん幹細胞に特異的に効果を示す低分子化合物の同定や抗体医薬の開発を行ない、マウスモデル及びヒト癌幹細胞移植モデルを用いて治療薬の効果を検証する。

研究経費

年 度	研究経費
平成 23 年度	28,800 千円
平成 24 年度	23,511 千円
平成 25 年度	23,511 千円
総 計	75,822 千円

研究班の組織

北林 一生	研究所 造血器腫瘍研究分野 分野長	白血病におけるがん幹細胞を標的とした治療法の開発
-------	-------------------------	--------------------------

清野 透	研究所 ウイルス発がん研究分野 分野長	ヒト人工がん幹細胞株の樹立と特性の研究
岡本 康司	研究所 がん分化制御解析分野 分野長	固形がん幹細胞制御因子の同定及び解析
石井 源一郎	東病院 臨床開発センター 臨床腫瘍病理部病理 ユニット長	がん幹細胞の生物像に影響を及ぼす間質細胞の同定
渡邊 利雄 H25.4～	奈良女子大学研究院 自然科学系生物科学 領域教授	遺伝子欠損マウスの作製と解析

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）：

がん幹細胞は、しばしば治療抵抗性を示して治療後に残存し、再びがん組織を再生して再発の原因となると考えられている。申請者らは、ヒト急性骨髄性白血病で見られる融合遺伝子を導入した白血病マウスモデルにおいて、遺伝子工学的手法を用いてがん幹細胞特異的にアポトーシスを誘導することにより白血病が治癒することを証明した。この結果は、がん幹細胞を根絶することにより、がんが根治できることを示唆している。本研究では、第一にがん幹細胞の自己複製や治療抵抗性を示す分子メカニズムを解明することにより、がん幹細胞根絶の標的分子やその他の鍵分子を探索・同定し、新たな根治療法の開発に向けた探索的基盤研究を行う。解析の進展している急性骨髄性白血病については治療薬の開発を積極的に進める一方で、解析途上のがんについては萌芽的な基盤的研究も推進する。

また、がん幹細胞の自己複製能の維持には周囲を取り囲む間質細胞が必要である。申請者らは、がんの進展、転移巣形成過程には、周囲を取り囲む間質細胞の生物像が深く関わっていることを報告してきた。このことは、遺伝子変異により規定されていると考えられていたがん細胞自身の形質は固定されたものではなく、周囲間質細胞との相互作用により生じる分子レベルの変化が、がん幹細胞とその他のがん細胞の階層性に影響を与える可能性を示している。本研究では、第2にがん幹細胞の維持に必要な間質細胞集団を同定し、それら構成細胞の生物像を解明し、がん治療法の開発基盤とすることを目指す。

がん幹細胞をヒトがん組織から大量に得ることは困難であるが、申請者らは種々の臓器由来のヒト正常細胞にいくつかのがん関連遺伝子を導入することにより、がん幹細胞を誘導することに成功している。そこで、これまでに樹立したヒト人工がん幹細胞について、多種のがんに於いて共通に、あるいは、細胞種特異的にがん幹細胞性に関わる主要な因子の同定を試みる。さらに、種々の人工がん幹細胞に共通かつ特異的に効果を示す分子標的の同定と新たな治療薬開発のためのスクリーニングシステムを樹立する。また、申請者が確立した機能的スクリーニングや各種発現プロファイリング等を行うことによりがん幹細胞を制御する分子メカニズムを解明する。

(研究終了時の実績要点)

1 白血病におけるがん幹細胞を標的とした治療法の開発

急性骨髄性白血病の幹細胞では M-CSFR の発現が高いことを見出し、M-CSF 受容体特異的 ADCC 活性抗体がモデルマウスで強い抗白血病効果を示したので、ヒト M-CSF 受容体に対する ADCC 活性抗体を開発した。IDH 遺伝子変異を有する急性骨髄性白血病モデルを確立し、IDH 変異体の発現が AML 幹細胞の維持に必須であることを示した。

2 固形がん幹細胞制御因子の同定及び解析

ヒト大腸がん及び漿液性卵巣がんより、がん幹細胞の特性を強く有する細胞の継代培養系を確立した。CD44 陽性大腸がん幹細胞の生化学的解析により、Akt-mTOR 経路の活性化が大腸がん幹細胞の特「注維持に重要である事」を示した。

3 がん幹細胞の生物像に影響を及ぼす間質細胞の同定

ヒトがん組織および *in vitro* の結果から、1)ALDH-1 陰性の肺腺癌細胞には、がん始原細胞が濃縮されていること、2)CD204(+) マクロファージは、がん始原細胞の腫瘍生着能に影響を与える間質細胞である可能性、が示唆された。

4 ヒト人工がん幹細胞株の樹立と特性の研究

膵管上皮細胞、胆管上皮細胞、胆のう細胞、子宮内膜上皮細胞などを分離し長期培養した。これらの初代正常上皮細胞に p53 および pRB 経路の不活化とテロメラーゼの活性化、活性型 KRAS, c-MYC の発現を tetOff システムを用いて同時に誘導することで、正常細胞からがん幹細胞の性質を持つ細胞へ可逆的に変換することに成功した。

研究方法

1 白血病におけるがん幹細胞を標的とした治療法の開発

ヒト急性骨髄性白血病で発現する MOZ-TIF2 融合遺伝子をレトロウイルスベクターを用いてマウス骨髄の c-Kit 陽性細胞に導入し、これを放射線照射した同系マウスに移植し白血病を誘導する。このマウスに、M-CSF 受容体に対する ADCC 活性抗体と中和抗体を投与し、治療効果を検討する。

2 固形がん幹細胞制御因子の同定及び解析

ヒト大腸がん由来のスフェロイド細胞を効率よく培養する系を樹立したが、この *in vitro* 培養系において培養細胞のがん幹細胞としての特質の詳細な検討を行う。また、マイクロアレイを用いた発現プロファイリング、及び p53、 β -Catenin 系等の主要がん制御経路因子や Oct-3/4、Nanog 等の正常 ES 幹細胞制御因子の発現解析等を行う。さらに、培養がん幹細胞の系を基盤として、大腸がんを中心とした固形がん幹細胞の増殖分化に重要な役割を果たす制御因子の機能的な同定法の構築を行う。同定法としては、レンチウイルス発現ライブラリー及びヒト shRNA ライブラリーを細胞に導入した後、ライブラリーに対応したカスタムマイクロアレイ等を用いた機能スクリーニング (drop-out 法) を行う。同定した新規制御因子については、がん幹細胞に導入後、免疫不全マウスにおける造腫瘍性、治療抵抗性、転移能等の比較を行い、がん抑制効果を検討する。

3 がん幹細胞の生物像に影響を及ぼす間質細胞の同定

ヒト外科切除検体において、転移形成に関与する脈管内がん微小環境の検討を行う。具体的には、リンパ管内に腫瘍塞栓を認める症例を選別し、リンパ節転移と相関するがん幹細胞マーカーを検討する。同定されたがん幹細胞マーカー陽性、陰性腫瘍細胞を sorting し、昨年度確立した *in vitro* のアッセイ系を用い、幹細胞マーカー陽性浮遊コロニーの性状を検討する。さらには、間質細胞との共培養により、浮遊コロニーの性状変化を解析し、転移形成に強く関わる脈管内がん微小環境を同定する。

4 ヒト人工がん幹細胞株の樹立と特性の研究

病院手術検体より種々の臓器由来のヒト正常細胞に遺伝子導入することにより、ヒト固形がんの *in vitro* 多段階発がんモデルを樹立する。その中で高い造腫瘍能を示す細胞株を誘導する遺伝子の組み合わせを同定し、がん幹細胞様細胞の成立・維持機構を解析する。樹立したヒト人工がん幹細胞株: iCSC; Induced cancer stem cell) について、多種のがんに於いて共通に、あるいは、細胞種特異的にがん幹細胞性に関わる主要な因子の同定を試みる。同時に不死化したヒト正常不死化組織幹細胞をコントロールとし、種々の iCSC にできるだけ共通かつ特異的に効果を示す分子標的の同定と新たな治療薬開発のためのスクリーニングシステムを樹立する。

研究成果と考察

全期間 (研究終了時)

1 白血病におけるがん幹細胞を標的とした治療法の開発

MOZ 融合遺伝子や MLL 融合遺伝子を発現する急性骨髄性白血病の幹細胞では M-CSFR の発現が高いことを見出し、マウスモデルを用いて M-CSFR の発現が高い幹細胞を除去することにより、白血病が治癒することを証明した。M-CSFR を標的とした治療法を開発するため、マウス M-CSF 受容体に対する ADCC 活性抗体と中和抗体を急性骨髄性白血病モデルマウスに投与した。ADCC 活性抗体には強い抗白血病効果が認められたが、中和抗体による優位な効果は見られなかった。これらの結果から、中和抗体より、ADCC 活性抗体により強い白血病抑制効果があることが示唆されたので、ヒト M-CSF 受容体に対する ADCC 活性抗体の開発を開始した。一方、4 つの変異遺伝子 (*NPMc*, *IDH2/R140Q*, *DNMT3A/R882H* and *FLT3/ITD*) を導入することにより IDH 遺伝子変異を有する急性骨髄性白血病モデルを確立した。Cre-loxP システムを用いて *IDH2/R140Q* を欠損させると M-CSFR を発現する AML 幹細胞が顕著に減少し、AML の発症が抑制されたことから、IDH 変異体の発現が AML 幹細胞の維持に必須であり、IDH 変異体が有望

な治療標的であることが強く示唆された。

2 固形がん幹細胞制御因子の同定及び解析

ヒト大腸がん及び漿液性卵巣がん由来のがん幹細胞の *in vitro* 培養系の構築を行い、その生化学的解析により特性を明らかにする事を行なった。まず、大腸がん幹細胞の解析を先行して行ない、造腫瘍能、分化能、CD44 がん幹細胞マーカーの発現、解糖系の亢進等を認め、とりわけ CD44 陽性細胞ががん幹細胞としての特質を有する事を明らかにした。その後の解析で、CD44 の発現は Akt-mTOR 経路の活性化により引き起こされる事、さらに大腸がん幹細胞の特性維持に Akt-mTOR 経路が必須である事を見いだした。これらの知見は近年開発が進んでいる mTOR の阻害剤が、大腸がんの治療応用に使用しうる可能性を示している。一方、卵巣がん由来のがん幹細胞のスフェロイド培養系の樹立も行ない、各種解析によりがん幹細胞としての特質を有する事を明らかにした。又、分化能の解析の結果、大腸、卵巣由来の両がん幹細胞で、分化可塑性がある事を示したが、これらはがん幹細胞を標的とした治療戦略を考える上で重要な知見と考えられた。

3 がん幹細胞の生物像に影響を及ぼす間質細胞の同定

第1年次では、ヒト肺扁平上皮癌原発巣を用いて、がん始原細胞とその周囲を取り巻く間質細胞に焦点を当てた。そして、両者の分子発現パターンを臨床病理学的に検討することにより、がん幹細胞の生物像に影響を及ぼす間質細胞の同定を試みた。しかしながら結果は芳しくなく、より直接的な因果関係が期待される「転移直前のがん細胞の性状、すなわち脈管内がん細胞の性状」と「転移形成の有無」に焦点を当て直した。上記を踏まえ、第2年次では、脈管内がん細胞の増殖を模倣するモデルを作製した。その結果、脈管内腫瘍細胞の性状（大きさ、形状）は、転移形成能と密接に相関することが明らかとなった。より具体的な成果を得るために、第3年次は肺腺癌症例を用いて、リンパ管内腫瘍細胞の性状と転移形成との関連を検討した。その結果、1) リンパ管内腫瘍細胞が ALDH1 陰性症例では、有意にリンパ節転移巣を有すること、2) リンパ管内腫瘍組織内に CD204(+) マクロファージが多く浸潤する症例では、有意にリンパ節転移巣を形成したこと、を見出した。さらに、前年度に確立した colony assay 法を用い、ALDH1 活性陰性細胞が形成する浮遊コロニーは、より大型のコロニーを形成する傾向を示すことを確認した。以上より、ALDH1 活性陰性の脈管内腫瘍細胞は、転移形成能が高い“がん始原細胞”である可能性が示された。今後は、CD204(+) マクロファージが、がん始原細胞(ALDH1 活性陰性の脈管内腫瘍細胞)の生物像に影響を及ぼす間質細胞であると仮定し、腫瘍生着に影響を与える分子機構を検討する。

4 ヒト人工がん幹細胞株の樹立と特性の研究

膝管上皮細胞に加え、胆管上皮細胞、胆のう細胞、子宮内膜上皮細胞などの分離および長期培養に成功した。これらの初代正常上皮細胞に p53 および pRB 経路の不活化とテロメラーゼの活性化、活性型 KRAS, c-MYC の発現を tetOff システムを用いて同時に誘導することで、正常細胞からがん幹細胞の性質を持つ細胞への可逆的変換を可能にするシステムを構築した。マウス Xenograft では、がん遺伝子セットの発現誘導に依存して腺がんを形成した後、遺伝子発現を止めると正常腺管様構造を取ることで、遺伝子発現を再誘導すると再び腺がんを形成することから、この細胞の生物学的な可逆性が確認できた。この系は *in vitro* ならびに *in vivo* においても人工がん幹細胞に特異的に毒性を示すような薬剤のスクリーニング系として有望である。また、活性型 KRAS の代わりに EGFR, ERBB の他、ALK, RET, ROS などのキナーゼ融合遺伝子などのドライバー変異を導入することで、各ドライバー変異に特異的ながんの特性の解析や薬剤感受性の検討も可能である。さらに、この手法は正常細胞だけでなくこれまで株化の困難であった希少がんなどにも応用可能である。

倫理面への配慮

ヒト遺伝子及びヒト腫瘍サンプルを用いた実験、解析を実施する際には、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守し、各研究施設や大学の遺伝子解析研究倫理審査委員会において研究計画の審査を受け、委員会の承認が得られた上で研究を実施する。手術材料より得た細胞を使用するにあたっては患者に不利益の生じないよう、連結可能匿名化し、またインフォームドコンセントを得るなどの配慮をし、国立がん研究センター倫理審査委員会の承認を得ている(承認番号 16-69)。細胞への遺伝子導入にあたっては、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律に基づき申請し、国立がん研究センター遺伝子組換え実験安全委員会の審査を経て、理事長の承認を受ける。本研究に必要となる動物実験については「国立がん研究センターにおける動物実験に関する指針」に従い動物実験倫理委員会に申請を行う。遺伝子組み換え実験に関しては、「遺伝子組み換え実験に関する指針」に従い、カルタヘナ法の遵守を徹底する。

本研究に関連する、本研究期間中の主な発表論文等

(雑誌論文)

平成 23 年度

がん研究開発費による支援を受けたことを明記している論文

1. Hoshino A, Ishii G*, Ito T, Aoyagi K, Ohtaki Y, Nagai K, Sasaki H and Ochiai A. Podoplanin-positive fibroblasts enhance lung adenocarcinoma tumor formation *Cancer Res.* 71(14):4769-79, 2011.
2. Takahashi Y, Ishii G*, Taira T, Fujii S, Yanagi S, Yoshida J, Nishimura M, Nomori H, Nagai K, Ochiai A. Fibrous stroma is associated with poorer prognosis in lung squamous cell carcinoma patients *J Thorac Oncol.* 6(9):1460-7, 2011.

本研究と密接に関連している論文

3. Ozeki C, Sawai Y, Shibata T, Kohno T, Okamoto K, Yokota J, Tashiro F, Tanuma SI, Sakai R, Kawase T, Kitabayashi I, Taya Y, Ohki R. Cancer susceptibility polymorphism of p53 at codon 72 affects phosphorylation and degradation of p53 protein. *J Biol Chem.*, 286:18251-18260, 2011.
4. Yokoyama A, Ficara F, Murphy MJ, Meisel C, Naresh A, Kitabayashi I, Cleary ML. Proteolytically cleaved MLL subunits are susceptible to distinct degradation pathways. *J Cell Sci.*, 124:2208-2219, 2011.
5. Shima Y, Kitabayashi I. Deregulated transcription factors in leukemia. *Int J Hematol.* 94:134-41, 2011.
6. Mishima Y, Miyagi S, Saraya A, Negishi M, Endoh M, Endo TA, Toyoda T, Shinga J, Katsumoto T, Chiba T, Yamaguchi N, Kitabayashi I, Koseki H, Iwama A. The Hbo1-Brd1/Brpf2 complex is responsible for global acetylation of H3K14 and required for fetal liver erythropoiesis. *Blood.* 118:2443-53, 2011.
7. Fujiwara S, Nawa A, Luo C, Kamakura M, Goshima F, Kondo C, Kiyono T, Kikkawa F, Nishiyama Y. Carrier cell-based delivery of replication-competent HSV-1 mutants enhances antitumor effect for ovarian cancer. *Cancer Gene Ther* 18: 77-86, 2011.
8. Kyo, S., J. Sakaguchi, T. Kiyono, Y. Shimizu, Y. Maida, Y. Mizumoto, N. Mori, M. Nakamura, M. Takakura, K. Miyake, M. Sakamoto, and M. Inoue. Forkhead transcription factor FOXO1 is a direct target of progesterin to inhibit endometrial epithelial cell growth. *Clin Cancer Res* 17:525-537, 2011.
9. Mizumoto, Y., S. Kyo, T. Kiyono, M. Takakura, M. Nakamura, Y. Maida, N. Mori, Y. Bono, H. Sakurai, and M. Inoue. Activation of NF- κ B Is a Novel Target of KRAS-Induced Endometrial Carcinogenesis. *Clin Cancer Res* 17:1341-1350, 2011.
10. Shaker, M., Y. Yokoyama, S. Mori, M. Tsujimoto, N. Kawaguchi, T. Kiyono, T. Nakano, and N. Matsuura. Aberrant expression of disintegrin-metalloprotease proteins in the formation and progression of uterine cervical cancer. *Pathobiology* 78:149-161, 2011.
11. Shiomi, K., T. Kiyono, K. Okamura, M. Uezumi, Y. Goto, S. Yasumoto, S. Shimizu, and N. Hashimoto. CDK4 and cyclin D1 allow human myogenic cells to recapture growth property without compromising differentiation potential. *Gene Ther*, 2011.
12. Yamato, K., N. Egawa, S. Endo, K. Ui-Tei, T. Yamada, K. Saigo, I. Hyodo, T. Kiyono, and I. Nakagawa. Enhanced specificity of HPV16 E6E7 siRNA by RNA-DNA chimera modification. *Cancer Gene Ther* 18:587-597, 2011.
13. Zushi, Y., M. Narisawa-Saito, K. Noguchi, Y. Yoshimatsu, T. Yugawa, N. Egawa, M. Fujita, M. Urade, and T. Kiyono. An in vitro multistep carcinogenesis model for both HPV-positive and -negative human oral squamous cell carcinomas. *Am J Cancer Res* 1:869-881, 2011.
14. Izumiya M, Tsuchiya N, Okamoto K, Nakagama H, Systematic exploration of cancer-associated microRNA through functional screening assays. *Cancer Sci.* 102:1615-21, 2011.
15. Tsuchiya N, Izumiya M, Ogata-Kawata H, Okamoto K, Fujiwara Y, Nakai M, Okabe A, Schetter AJ, Bowman ED, Midorikawa Y, Sugiyama Y, Aburatani H, Harris CC, Nakagama H: Tumor-suppressor miR-22 determines p53-dependent cellular fate through post-transcriptional regulation of p21. *Cancer Res.* 71, 4628-4639, 2011.
16. Aokage, K, Ishii G*, Ohtaki Y, Yamaguchi Y, Hishida T, Yoshida J, Nishimura M, Nagai K, Ochiai A. Dynamic molecular changes associated with epithelial-mesenchymal transition and subsequent mesenchymal-epithelial transition in the early phase of metastatic tumor formation *Int. J. Cancer* 128:1585-95, 2011.
17. Maeda R, Ishii G*, Ito M, Yoshida J, Hishida T, Nishimura M, Haga H, Nagai K, Ochiai A. Number of circulating endothelial progenitor cells and intratumoral microvessel density in non-small cell lung cancer patients: differences in angiogenic status between adenocarcinoma histological subtypes *J Thorac Oncol.* 7(3):503-11, 2011.

平成 24 年度

がん研究開発費による支援を受けたことを明記している論文

18. Itoh M, Ishii G*, Nagai K, Maeda R, Nakano Y, Ochiai A. Prognostic significance of cancer associated stromal cells in stage I lung adenocarcinoma patients. *Chest* 142:151-8, 2012.
 19. Matsumura Y, Ishii G*, Aokage K, Kuwata T, Hishida T, Yoshida J, Nishimura M, Nagai K, Ochiai A. Morphophenotypical characteristics of intralymphatic cancer and stromal cell susceptible to lymphogenic metastasis. *Cancer Sci.* 103: 1342-1347, 2012.
 20. Ito S, Ishii G*, Hoshino A, Hashimoto H, Neri S, Kuwata T, Higashi M, Nagai K, Ochiai A. Tumor promoting effect of podoplanin-positive fibroblasts is mediated by enhanced RhoA activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 422:194-9, 2012.
 21. Neri S, Ishii G*, Taira T, Hishida T, Yoshida J, Nishimura M, Nagai K, Ochiai A. Recruitment of podoplanin positive cancer-associated fibroblasts in metastatic lymph nodes predicts poor prognosis in pathological N2 Stage III lung adenocarcinoma. *Ann. Surg. Oncol.* 19:3953-62, 2012.
 22. Hirayama S, Ishii G*, Nagai K, Ono S, Kojima M, Yamauchi C, Aokage K, Hishida T, Yoshida J, Suzuki K, Ochiai A. Prognostic impact of CD204-positive macrophages in lung squamous cell carcinoma: possible contribution of CD204-positive macrophages to the tumor-promoting microenvironment *J Thorac Oncol.* 7:1790-7, 2012
 23. Ono S, Ishii G*, Nagai K, Takuwa T, Yoshida J, Nishimura M, Hishida T, Aokage K, Fujii S, Ikeda N, Ochiai A. Prognostic immunophenotypic studies in stage I lung squamous cell carcinoma: Utility of combining analysis of both cancer cell phenotype and cancer associated fibroblast phenotype *Chest* 2012, [Epub ahead of print]
 24. Ishii G*, Hashimoto H, Astumi N, Hoshino A, Ochiai A. Morphophenotype of floating colonies derived from a single cancer cell has a critical impact on tumor-forming activity. *Pathol. Int* 63:29-36, 2013
 25. Kinoshita T, Ishii G*, Hiraoka N, Hirayama S, Yamauchi C, Aokage K, Hishida T, Yoshida J, Nagai K, Ochiai A. Foxp3+ regulatory T cells coexisting with cancer associated fibroblast are correlated with a poor outcome in lung adenocarcinoma. *Cancer Sci.* 104:409-15, 2013.
 26. Shima Y, Honma Y, Kitabayashi I. Mechanism of PML nuclear body disruption in APL: PML-RAR α inhibits PML oligomerization and its phosphorylation restores PML NBs. *Cancer Res.*, in press, 2013.
 27. Shimizu K, Yamagata K, Kurokawa M, Mizutani S, Tsunematsu Y, Kitabayashi I. Roles of AML1/RUNX1 in T-cell malignancy induced by loss of p53. *Cancer Sci.*, in press, 2013.
- 本研究と密接に関連している論文
28. Ohata H, Ishiguro T, Aihara Y, Sato A, Sakai H, Sekine S, Taniguchi H, Akasu T, Fujita S, Nakagama H, Okamoto K, Induction of the stem-like cell regulator CD44 by Rho kinase inhibition contributes to the maintenance of colon cancer-initiating cells. *Cancer Res.* 72:5101-5110, 2012.
 29. Okamoto K, Ishiguro T, Midorikawa Y, Ohata H, Izumiya M, Tsuchiya N, Sato A, Sakai H, Nakagama H, miR-493 induction during carcinogenesis blocks metastatic settlement of colon cancer cells in liver. *EMBO J.* 31:1752-1763, 2012.
 30. Ishiguro T, Sato A, Ohata H, Sakai H, Nakagama H, Okamoto K, Differential expression of nanog1 and nanogp8 in colon cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 418:199-204, 2012.
 31. Satow R, Shitashige M, Jigami T, Fukami K, Honda K, Kitabayashi I, Yamada T. β -catenin inhibits promyelocytic leukemia protein tumor suppressor function in colorectal cancer cells. *Gastroenterology.* 142:572-581, 2012.
 32. Taira, T, Ishii G*, Nagai K, Yoh K, Takahashi Y, Matsumura Y, Kojima M, Ohmatsu H, Goto K, Niho S, Takeshima H, Inoue H, Ohe Y, Ochiai A. Characterization of the immunophenotype of the tumor budding and its prognostic implications in squamous cell carcinoma of the lung. *Lung Cancer* 76:423-30, 2012.
 33. Takuwa T, Ishii G*, Nagai K, Yoshida J, Nishimura M, Hishida T, Neri S, Hasegawa S, Ochiai A. Characteristic immunophenotype of solid subtype component in lung adenocarcinoma. *Ann. Surg. Oncol.* 19:3943-52, 2012.
 34. An J, Enomoto A, Weng L, Kato T, Iwakoshi A, Ushida K, Maeda K, Ishida-Takagishi M, Ishii G, Ming S, Sun T, Takahashi M. Significance of cancer-associated fibroblasts in the regulation of gene expression in the leading cells of invasive lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 139:379-388, 2013.
 35. Narisawa-Saito M, Inagawa Y, Yoshimatsu Y, Haga K, Tanaka K, Egawa N, Ohno S, Ichikawa H, Yugawa T, Fujita M, and Kiyono T*. A critical role of MYC for transformation of human cells by HPV16 E6E7 and oncogenic HRAS. *Carcinogenesis*, 33:910-917, 2012.
 36. Bono Y, Kyo S, Takakura M, Maida Y, Mizumoto Y, Nakamura M, Nomura K, Kiyono T, and Inoue M. Creation of immortalised epithelial cells from ovarian endometrioma. *Br J Cancer*, 106:1205-1213, 2012.
 37. Nishijima N, Ishii G*, Nagai K, Atsumi N, Aokage K, Tokunaga Y, Ichinokawa H, Ohe Y, Ochiai A.

Cancer-initiating cell marker-positive cells generate metastatic tumors that recapitulate the histology of the primary tumors. *Pathol. Int.* 63:94-101, 2013

38. Iwanami A, Gini B, Zanca C, Matsutani T, Assuncao A, Nael A, Dang J, Yang H, Zhu S, Kohyama J, Kitabayashi I, Cavenee WK, Cloughesy TF, Furnari FB, Nakamura M, Toyama Y, Okano H, Mischel PS. PML mediates glioblastoma resistance to mammalian target of rapamycin (mTOR)-targeted therapies. *Proc Natl Acad Sci USA.* 110:4339-4344, 2013.
39. Rokudai S, Laptenko O, Arnal SM, Taya Y, Kitabayashi I, Prives C. MOZ increases p53 acetylation and premature senescence through its complex formation with PML. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 110:3895-3900, 2013.