

平成 28 年 5 月 18 日

平成 27 年度共同研究報告書

京都大学再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）

所属：国立がん研究センター研究所

職名：グループリーダー

氏名：大木 理恵子

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題：膵内分泌腫瘍の新規がん抑制遺伝子 PHLDA3 の機能抑制を利用した膵島移植効率向上法の確立
2. 再生医科学研究所共同研究者： 角 昭一郎 准教授
3. 研究期間：平成 27 年 4 月 1 日～平成 28 年 3 月 31 日
4. 研究経過及び研究成果：

膵臓はその約 9 割以上は外分泌腺が占め、その中に内分泌細胞が集まる膵島が島のように浮かんで存在している組織である。膵島細胞が腫瘍化すると膵内分泌腫瘍となり、一方で膵島の機能が破綻し、インスリン分泌が異常になると糖尿病を発症する。糖尿病患者の治療として、膵臓移植より患者の体への負担が少ないという事で膵島移植が行われている。日本においては臓器提供者が少ないため、より高い膵島の生着率が望まれており、膵島細胞を増殖させる、あるいは膵島細胞の細胞死を抑制する方法が模索されている。

我々は、これまで機能未知であった PHLDA3 遺伝子が、p53 によって誘導される遺伝子である事を見だし、PHLDA3 が p53 による Akt 抑制を担う重要な遺伝子である事を世界で初めて明らかにした (Cell, Vol. 136, pp. 535-550, 2009)。PHLDA3 遺伝子は、細胞膜に存在するイノシトールリン脂質 (PIPs) との結合に働く PH ドメインのみから構成されるタンパク質をコードしている。一方、Akt も PH ドメインを持つタンパ

ク質であり、活性化には PH ドメインを介して細胞膜に局在する事が必須である。PHLDA3 は、Akt のいわば内在的に発現する dominant negative 体として機能し、Akt と PIPs との結合を直接阻害する。その結果、Akt の細胞膜局在は阻害され、下流の生存シグナルは伝達されない (Fig. 1)。

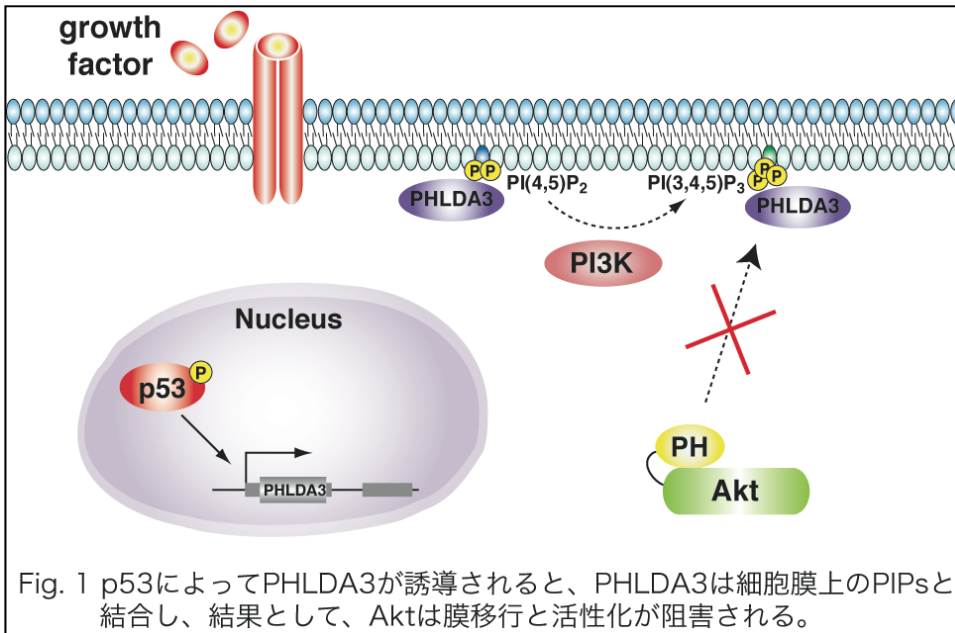
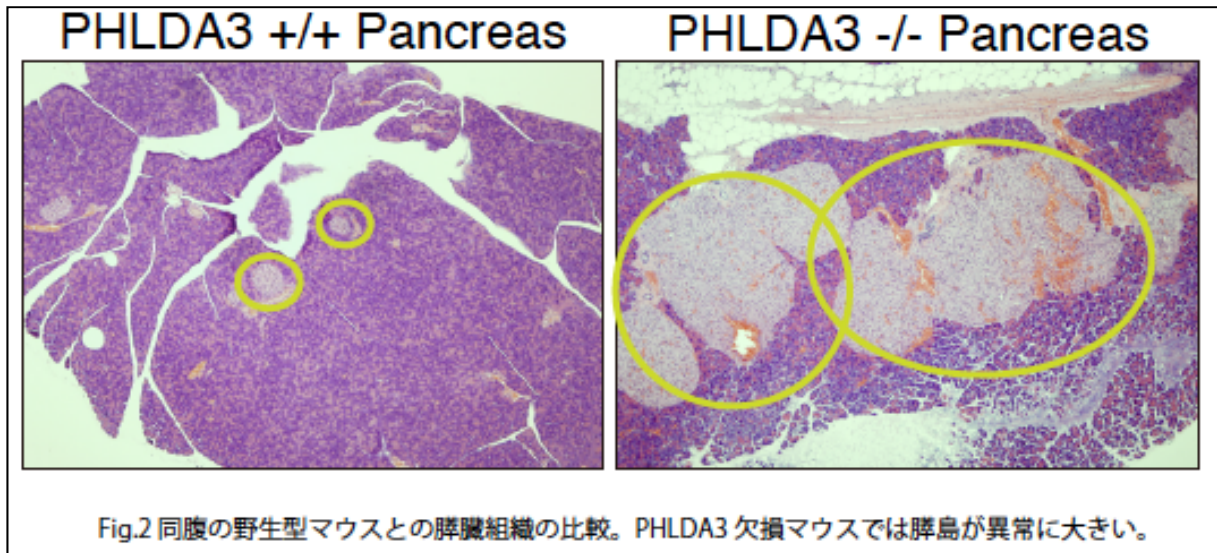


Fig. 1 p53によってPHLDA3が誘導されると、PHLDA3は細胞膜上のPIPsと結合し、結果として、Aktは膜移行と活性化が阻害される。

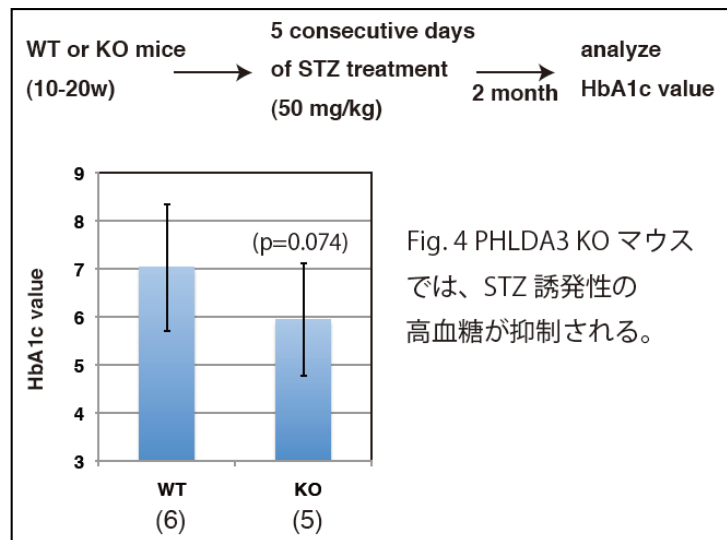
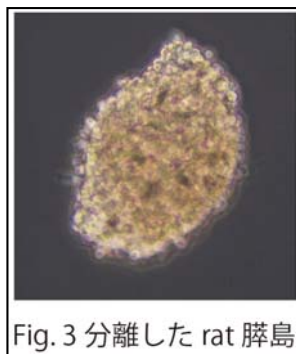
がん抑制において、非常に強いがん化促進能を持つ Akt の活性を制御する事はとても重要である。実際に PHLDA3 の発現を抑制した細胞では Akt の異常な活性化が認められるとともに、細胞ががん化(足場非依存性の増殖能を獲得)している事が示され、PHLDA3 はがん抑制能を有する事が示された。さらに、ヒト肺及び膵内分泌腫瘍において PHLDA3 遺伝子の高頻度な欠損が認められた。これらのがん組織では正常組織と比較して PHLDA3 の発現低下と Akt 活性の上昇が認められ、PHLDA3 が内分泌腫瘍のがん抑制遺伝子として機能していると考えられた。

一方で、PHLDA3 が膵内分泌腫瘍のがん抑制遺伝子であるという事から、PHLDA3 が膵内分泌細胞の増殖を制御するのではないかと考え研究を進めている。これまでに膵島β細胞由来の細胞株 RIN 細胞、正常膵島細胞を用いて、膵β細胞において PHLDA3 が細胞増殖と Akt 活性を抑制している事を明らかにした。

さらには PHLDA3 欠損マウスにおいて膵島の過形成が認められており、PHLDA3 は膵島細胞の増殖を抑制する事が示された (Fig. 2)。



これまでに角昭一郎准教授との共同研究によって、分離膵島から得た膵島細胞を用い (Fig. 3)、PHLDA3 が膵島細胞において細胞増殖の抑制、アポトーシス誘導に機能する事を明らかにした。



また、PHLDA3 欠損マウスを用いて実験的に一型糖尿病を引き起こすと、PHLDA3 欠損マウスでは野生型マウスに比べ、顕著に血糖値の上昇が抑えられている事が示され (Fig. 4)、マウス生体内においても PHLDA3 が膵島細胞の増殖、アポトーシスを制御する事が示された。

今後さらに膵島機能に PHLDA3 がどのように関わるのか解析を進める事で、糖尿病研究、膵島移植に役立つ成果を得る事が可能である。さらには PHLDA3 機能を抑制した膵島を作り出し、再生医療の分野に役立てたいと考えている。

5. 研究成果の公表

※発表論文リスト（掲載予定、プレプリントを含む。準備中も可）、学会発表等

1. Naitoh T, Morikawa T, Tanaka N, Aoki T, Ohtsuka H, Okada T, Sakata N, Ohnuma S, Nakagawa K, Hayashi H, Musha H, Yoshida H, Motoi F, Katayose Y, Unno M. Early experience of robotic surgery for type I congenital dilatation of the bile duct. *J Robot Surg*. 2015;9:143-8.
2. Hata T, Ishida M, Motoi F, Sakata N, Yoshimatsu G, Naitoh T, Katayose Y, Egawa S, Unno M. Clinical Characteristics and Risk Factors for the Development of Postoperative Hepatic Steatosis After Total Pancreatectomy. *Pancreas*. 2016;45:362-9.
3. Tsuchiya H, Sakata N, Yoshimatsu G, Fukase M, Aoki T, Ishida M, Katayose Y, Egawa S, Unno M. Extracellular Matrix and Growth Factors Improve the Efficacy of Intramuscular Islet Transplantation. *PLoS One*. 2015;10:e0140910.
4. Hata T, Sakata N, Yoshimatsu G, Tsuchiya H, Fukase M, Ishida M, Aoki T, Katayose Y, Egawa S, Unno M. Cholestatic Liver Injury After Biliary Reconstruction Impairs Transplanted Islet Viability and Function. *Am J Transplant*. 2015;15:2085-95.
5. Sakata N, Sax N, Yoshimatsu G, Tsuchiya H, Kato S, Aoki T, Ishida M, Katayose Y, Egawa S, Kodama T, Unno M. Enhanced ultrasonography using a nano/microbubble contrast agent for islet transplantation. *Am J Transplant*. 2015;15:1531-42.
6. Hata T, Sakata N, Yoshimatsu G, Tsuchiya H, Fukase M, Ishida M, Aoki T, Katayose Y, Egawa S, Unno M. Nerve Growth Factor Improves Survival and Function of Transplanted Islets Via TrkA-mediated β Cell Proliferation and Revascularization. *Transplantation*. 2015;99:1132-43.
7. Yoshimatsu G, Sakata N, Tsuchiya H, Minowa T, Takemura T, Morita H, Hata T, Fukase M, Aoki T, Ishida M, Motoi F, Naitoh T, Katayose Y, Egawa S, Unno M. The co-transplantation of bone marrow derived mesenchymal stem cells reduced inflammation in intramuscular islet transplantation. *PLoS One*. 2015;10:e0117561.
8. Komatsu H, Egawa S, Motoi F, Morikawa T, Sakata N, Naitoh T, Katayose Y, Ishida K, Unno M. Clinicopathological features and surgical outcomes of adenosquamous carcinoma of the pancreas: a retrospective analysis of patients with resectable stage tumors. *Surg Today*. 2015;45:297-304.
9. 1. Yoshinori Asano, Tatsuya Kawase, Atsushi Okabe, Shuichi Tsutsumi, Hitoshi Ichikawa, Satoko Tatebe, Issay Kitabayashi, Fumio Tashiro, Hideo Namiki, Tadashi Kondo, Kentaro Semba, Hiroyuki Aburatani, Yoichi Taya, Hitoshi Nakagama and Rieko Ohki[#] ([#]corresponding author). IER5 generates a novel hypo-phosphorylated active form of HSF1 and contributes to tumorigenesis. *Scientific Reports*, 6, 19174; doi: 10.1038/srep19174, 2016.
10. Xiaoqi Wang, Guangyuan Li, Sanjay Koul, Rieko Ohki, Matthew Maurer, Alain Borczuk,

Balazs Halmos. PHLDA2 is a key oncogene-induced negative feedback inhibitor of EGFR/ErbB2 signaling via interference with AKT signaling. *Oncotarget*, DOI: 10.18632/oncotarget.3674, 2015.

11. Toshitsugu Fujita, Miyuki Yuno, Daisuke Okuzaki, Rieko Ohki, and Hodaka Fujii. Identification of non-coding RNAs associated with telomeres by enChIP-RNA-Seq. *PLoS One*, 10, e0123387, 2015.

特許

PTC/JP2015/064792

発明の名称：移植材料およびその調整方法

出願人：京都大学、東北大学、大木理恵子