

## 「特別推進研究」研究期間終了後の効果・効用、波及効果に関する自己評価書

- 研究代表者氏名 北村 幸彦（大阪大学・生命機能研究科・教授）
- 研究分担者氏名 伊藤 彰彦（大阪大学・医学系研究科・助手）  
森井 英一（大阪大学・医学系研究科・助手）  
実宝 智子（千里金蘭大学・生活科学部・講師）
- 研究課題名「mi 転写因子（MITF）によるマスト細胞の分化制御」
- 課題番号 12002010
- 補助金交付額（直接経費のみ）

平成12年度	60,000千円
平成13年度	34,000千円
平成14年度	34,000千円
平成15年度	36,000千円

### 【研究期間終了後の効果・効用、波及効果に関する内容】

#### 1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか。

##### (1) 概要

平成16年3月末日、特別推進研究の終了と同時に大阪大学を定年退職し、4月1日より塩野義製薬株式会社に顧問として就職した。塩野義製薬就職後は自身で研究活動は行っていないので、自身の研究の進展はない。一方、長年にわたるマスト細胞とカハール介在細胞の分化と癌化の研究によって、平成16年7月に International Society for Experimental Hematology から McCulloch and Till Award を、平成17年6月には日本学士院から日本学士院賞を授与された。

本研究は MITF によるマスト細胞の分化制御について行ったものである。研究の契機となったのは、マスト細胞の分化に最も重要なサイトカインである Stem Cell Factor (SCF) の受容体である KIT 受容体チロシンキナーゼの転写に MITF が関与していることを見出したことであった。現在までに MITF そのもの、あるいは MITF による KIT の制御についての我々の研究が現実的に社会に貢献したとは云い難いが、癌化したマスト細胞における KIT 受容体の構成的燐酸化の原因が KIT 遺伝子の機能獲得性突然変異であることを明らかにした我々の研究は、癌化したカハール介在細胞における KIT 遺伝子の機能獲得性突然変異の発見へと進展し、それまでは慢性骨髄性白血病の第一選択治療薬として使われていたイマチニブが KIT 受容体チロシンキナーゼの阻害剤でもあったところから、イマチニブがカハール介在細胞の腫瘍である消化管間質細胞腫 (Gastrointestinal Stromal Tumor, GIST) の第一選択治療薬としても使用されるという予期せざる結果を導いた。

MITF によるマスト細胞の分化制御の研究が十分な社会的成果を上げていないのは残念

だが、いつの日か MITF に作用する薬剤がマスト細胞の分化に影響を与えることにより、抗アレルギー薬として用いられることを期待している。

## (2) 論文発表、国際会議等への招待講演における発表など

### 平成16年以降の論文発表

\* は本特別推進研究とは直接の関係はないが、前述した消化管間質細胞腫（GIST）の研究について述べた総説、モノグラフなのでリストに加えた。

1. Morii E, Oboki K, Ishihara K, Jippo T, Hirano T, and Kitamura Y: Roles of MITF for development of mast cells in mice: Effects on both precursors and tissue environments. Blood 104:1656–1661, 2004.
2. Kitamura Y, Jippo T, Morii E, and Ito A: MITF mutants as the third mast cell-deficient mice. In Allergy Frontiers and Futures (Editors, Bienenstock J, Ring J, and Togias AG), Hogrefe and Huber, Toronto, pp 107–109, 2004.
3. Ito A, Koma Y, Watabe K, Jippo T, Wakayama T, Iseki S, and Kitamura Y: Contribution of the SgIGSF adhesion molecule to survival of cultured mast cells in vivo. Biochem Biophys Res Comm 319:200–206, 2004.
4. Koma Y, Ito A, Wakayama T, Watabe K, Okada M, Tsubota N, Iseki S, and Kitamura Y: Cloning of a soluble isoform of the SgIGSF adhesion molecule that binds the extracellular domain of the membrane-bound isoform. Oncogene 23:5687–5692, 2004.
- 5\*. Kitamura Y, Hirota S, and Nishida T: Gastrointestinal stromal tumors (GIST): A model for molecule-based diagnosis and treatment of solid tumors. In Gann Monograph on Cancer Research. Cancer Research Front of Japan, 2003 (Editors. Tsuruo T, and Kitagawa T), Japan Scientific Press, Tokyo, pp 27–40, 2004.
6. Kataoka TR, Morii E, Oboki K, and Kitamura Y: Strain-dependent inhibitory effect of mutant mi-MITF on cytotoxic activities of cultured mast cells and natural killer cells of mice. Lab Invest 84:376–384, 2004.
7. Morii E, Ito A, Jippo T, Koma Y, Oboki K, Wakayama T, Iseki S, Lamoreux L, and Kitamura Y: Numer of mast cells in the peitoneal cavity of mice: Influence of MITF through transcription of newly found mast cell adhesion molecule, SgIGSF. Am J Pathol 165:491–499, 2004.
8. Oboki K, Morii E, and Kitamura Y: Deficient eosionophil chemotaxis promoting activity of genetically normal mast cells transplanted into subcutaneous tissue of Mitf<sup>mi-vga9</sup>/Mitf<sup>mi-vga9</sup> mice: Comparison of the activity and mast cell distributoion pattern

- with Kit<sup>W</sup>/Kit<sup>W-v</sup> mice. Am J Pathol 165:1141–1150, 2004.
9. Watabe K, Ito A, Koma Y, Wakayama T, Iseki S, Shinomura Y, and Kitamura Y: Distinct roles for the SgIGSF adhesion molecule and c-kit receptor tyrosinekinase in the interaction between mast cells and the mesentery. Biochem Biophys Res Comm 324:782–788, 2004.
  - 10\*. Kitamura Y, and Hirota S: Kit as a human oncogenic tyrosine kinase. Cell Mol Life Sci 61:2924–2931, 2004.
  - 11\*. Kitamura Y, Miettinen M, Hirota S, and Kanakura Y (Editors). Gann Monograph on Cancer Research. Gastrointestinal Stromal Tumor (GIST): From Pathology to Molecular Target Therapy, Japan Scientific Societies Press, Tokyo, pp 1–176, 2004.
  12. Koma Y, Ito A, Watabe K, Hirata T, Mizuki M, Kitamura T, Kanakura Y, and Kitamura Y: Distinct role for c-kit receptor tyrosine kinase and SgIGSF adhesion molecule in attachment of mast cells to fibroblasts. Lab Invest 85:426–435, 2005.
  13. Furuno T, Ito A, Koma Y, Watabe K, Yokozaki H, Bienenstock J, Nakanishi M, and Kitamura Y: The spermatogenic Ig superfamily/synaptic adhesion molecule mast-cell adhesion molecule promotes interaction with nerves. J Immunol 174:6934–6942, 2005.
  14. Kitamura Y, and Ito A: Commentary: Mast cell-committed progenitor. Proc Natl Acad Sci USA 102:11129–11130, 2005.
  15. Kitamura Y: MITF and SgIGSF: an essential transcription factor and its target adhesion molecule for development and survival of mast cells. In Novartis Foundation Symposium 271. Mast Cells and Basophils: Development, Activation and Roles in Allergic/Autoimmune Disease (Editors, Chadwick DJ and Goode J), John Wiley & Sons, Chichester, UK, pp 4–14, 2005.
  16. Kitamura Y, Oboki K, and Ito A: Molecular mechanisms of mast cell development. Immunol Allergy Clin N Am 26:387–405, 2005.
  17. Kitamura Y, Oboki K, and Ito A: Mast cells. In Encyclopedia of Life Sciences, John Wiley & Sons, Chichester, UK, <http://www.elsnet/>, 2007.
  18. Kitamura Y, Oboki K, and Ito A: Development of mast cells. Proc Jpn Acad Ser B 83: 164–174, 2007.
  - 19\*. Kitamura Y: Gastrointestinal stromal tumor: Past, present, and future. J Gastroenterol 43:499–508, 2008.

#### 平成16年以降の国際会議等への招待講演における発表

Kitamura Y. (February 28–March 4, 2004), Regulation of mouse mast cell development by MITF. Keystone Symposium on “Mast Cells in Physiology, Host Defense and Disease: Beyond IgE”, Taos, NM, USA

Kitamura Y. (July 17–20, 2004), Development of mast cells studied by using mice of four mutant genotypes. McCulloch and Till Lectureship, The 33<sup>rd</sup> Annual Meeting of International Society for Experimental Hematology, New Orleans, LA, USA

Kitamura Y. (November 16–18, 2004), MITF and SgIGSF: An essential transcription factor and its target adhesion molecule for development of mast cells. Novartis Foundation Symposium 271 on “Mast Cells and Basophils: Development, Activation and Role in Allergic/Autoimmune Disease”, London, UK

Kitamura Y. (April 1–4, 2006), Regulation of mast cell development by KIT receptor tyrosine kinase and MITF transcription factor. President’s Symposium “IgE and Beyond: The Regulation and Expression of Mast Cell Function in Health and Disease” Annual Meeting, American Society for Investigative Pathology, San Francisco, CA, USA

### (3) 研究費の取得状況（研究代表者として取得しているもののみ）

大阪大学を定年退職して以後、いかなる研究費も申請していない。

### (4) 特別推進研究の研究成果を背景に生み出された新たな発見・知見

特になし。

## 2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況はどうか。

### (1) 学界への貢献の状況

PubMed で調べると、MITF についての論文は全部あわせても725編しか発表されておらず(平成21年1月16日現在)、そのうちマスト細胞に関係したものは97編である。マスト細胞と MITF の関係について調べた論文の約半数が我々のものなので、極めて小さく限定すれば我々の研究は学会に貢献したと云えるし、逆に現在までのところ他の研究者の興味を引くテーマとなっていないとも云える。

前述したカハール介在細胞の腫瘍(消化管間質細胞腫、GIST)において KIT 遺伝子の機能獲得性突然変異を初めて記載した我々の論文 (Hitota S et al: Science 279:577–580, 1998)\* は1777件引用されている(平成21年1月16日現在、Google Scholar)。消化管間質

細胞腫 (Gastrointestinal Stromal Tumor, GIST) は比較的稀な腫瘍であり、それまで混同されていた平滑筋腫/平滑筋肉腫から独立させて、1983年に Gastrointestinal Stromal Tumor (GIST) と命名されてから、我々の Science の論文が発表されるまでの15年の間に、約200編の論文しか発表されていなかった事と考え合わせると、小さく限定的なテーマであっても現実にヒトの病気、さらにはその病気の治療薬が関係すると、興味を持つ研究者の数が飛躍的に増加する事がわかる。

\* Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, Hashimoto K, Nishida T, Ishiguro S, Kawano K, Hanada M, Kurata A, Takeda M, Tunio GM, Matsuzawa, Y, Kanakura Y, Shinomura Y, and Kitamura Y: Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science* 279:577-580, 1998.

## (2) 論文引用状況

直接 MITF とマスト細胞に関する論文についてのみ示す。

調査日は平成21年1月16日で Google Scholar による。

### 平成15年以前に発表された論文(引用20件以上)

Ito A, Jippo T, Wakayama Y, Morii E, Koma Y, Onda H, Nojima H, Iseki S, and Kitamura Y: SgIGSF: A new mast-cell adhesion molecule used for attachment to fibroblasts and transcriptionally regulated by MITF. *Blood* 101:2601-2608, 2003. (新規マスト細胞接着因子 SgIDSFの転写がMITFに依存していること見出した論文)50件

Adachi S, Morii E, Kim DK, Ogihara H, Jippo T, Ito A, Lee YM, and Kitamura Y: Involvement of mi-transcription factor (MITF) in expression of alpha melanocyte-stimulating hormone receptor in cultured mast cell of mice. *J Immunol* 164:855-860, 2000. (メラノサイト刺激ホルモンの受容体が培養マスト細胞に発現しており、その発現がMITFに依存していることを見出した論文)42件

Ogihara H, Morii E, Kim DK, Oboki K, and Kitamura Y: Inhibitory effect of transcription factor encoded by mutant mi microphthalmia allele on transcription of mouse mast cell protease 7 gene. *Blood* 97:645-651, 2001. (マウス・マスト細胞プロテアーゼ7の転写がmi 突然変異遺伝子によりコードされたMITFにより阻害されることを見出した論文)33件

Oboki K, Morii E, Kataoka TR, Jippo T, and Kitamura Y. Isoform of mi transcription factor preferentially expressed in cultured mast cells of mice. Biochem Biophys Res Comm 290:1250-1254, 2002. (マウス培養マスト細胞で特によく発現しているMITF のIsoformを見出した論文)27件

Morii E, Ogihara H, Oboki K, Sawa C, Sakuma T, Nomura S, Seko JD, Handa H, and Kitamura Y: Inhibitory effect of MITF encoded by mutant mi allele on GA binding protein-mediated transcript expression in mouse mast cell. Blood 97:3032-3039, 2001. (ヘパリン合成に必須の酵素であるNDST-2 の転写にはGA結合蛋白が必要であるが、mi 突然変異遺伝子によりコードされたMITFはGA結合蛋白の核内移行を阻害する事によりヘパリン合成を阻害する。実際にmi/mi突然変異マウスの皮膚マスト細胞のヘパリン含量は著明に減少している)26件

Jippo T, Morii E, Ito A, and Kitamura Y: Effect of anatomical distribution of mast cells on their defense function against bacterial infections: demonstration using partially mast-cell-deficient tg/tg mice. J Exp Med 197:1417-1425, 2003. (MITFを発現しないtg/tgマウスを用いることにより、大腸菌性の腹膜炎に対するマスト細胞による自然免疫には、マスト細胞の存在する解剖学的位置が重要である事を示した論文)24件

Morii E, Ogihara H, Kim DK, Ito A, Oboki K, Lee YM, Jippo T, Nomura S, Maeyama K, Lamoreux ML, and Kitamura Y. Importance of leucine zipper domain of mi transcription factor (MITF) for differentiation of mast cells demonstrated using mi<sup>ce</sup>/mi<sup>ce</sup> mutant mice of which MITF lacks the zipper domain. Blood 97: 2038-2044, 2001. (mi<sup>ce</sup>/mi<sup>ce</sup>ミュータントマウスを用いてMITFのロイシン・ジッパー領域がマスト細胞の分化に重要である事を示した論文)22件

Morii E, Oboki K, Kataoka TR, Igarashi K, and Kitamura Y: Interaction and cooperation of MITF and Myc-associated zinc-finger protein for transcription of mouse mast cell protease 6 gene. J Biol Chem 277:8566-8571, 2002. (マウス・マスト細胞プロテアーゼ6の転写にはMITFとMyc-associated zinc-finger proteinの協働作用が必要である事を示した論文)20件

#### 平成16年以降に発表された論文

20件以上引用された論文はない。

### 3. その他、効果・効用等の評価に関する情報。

#### (1) 研究成果の社会への還元状況

MITF によるマスト細胞の分化制御の研究は、その成果を具体的な形で社会へ還元するレベルに現状では達していない。しかし我々の研究により、MITF がマスト細胞の生体組織内における分化に必須の転写因子である事が明らかになったので、将来マスト細胞の分化抑制によるアレルギー疾患の治療の試みがなされる日が来れば、MITF は有力な標的となりうる転写因子であり、我々の研究結果はその基礎的データとして利用されるであろう。

一方、ほぼ同時にマスト細胞の癌化の研究から派生する形で行ったカハール介在細胞の癌化の研究は、規模としては小さいがその成果を社会に還元できたと考えられるので以下にその詳細を述べる。そもそもカハール介在細胞の腫瘍は、その存在自体がヒトでもその他の動物でも知られていなかったのであるが、我々は消化管間質細胞腫 (Gastrointestinal Stromal Tumor, GIST) がカハール介在細胞の腫瘍であることを発見した。同時に GIST では KIT 遺伝子の機能獲得性突然変異のために、KIT 受容体チロシンキナーゼが構成的に活性化していることも発見した。

我々が1998年に Science へその論文を発表した時点では GIST の有効な治療手段は手術しかなく、手術後再発した GIST や手術不可能な GIST には成す術もない状態であった。我々自身は想像できなかったのだが、我々の知見を単純に適用するだけで、GIST に対して著明な治療効果を示す薬が、別の病気の治療薬として当時すでに存在していたのである。

イマチニブは慢性骨髄性白血病の原因である BCR-ABL 融合蛋白の ABL チロシンキナーゼ活性を阻害する薬として Novartis 社により開発されたものだが、開発の過程で KIT チロシンキナーゼも阻害することが分かっていたようである。我々が1998年に Science の論文を発表すると、手術後再発した GIST で肝臓への転移も見られる第一例への投与が直ちに開始され、2001年にはその症例報告がなされた (Joensuu H et al: N Eng J Med 344:1052-1056, 2001)。多数例による治験の後、イマチニブの GIST の治療薬としての適応拡大は2002年に米国とヨーロッパで承認され、2003年には日本でも承認された。イマチニブは経口投与が行え、副作用も比較的少ない。イマチニブだけで GIST を完治することはできないが、手術後再発した GIST 患者や手術不可能な GIST 患者を2年程度延命させることができるので、現在ではそれらの GIST 患者に対する第一選択治療薬として使用されている。さらに2008年末になって、GIST の手術直後から、再発の有無に関係なくイマチニブを投与するアジュバント療法が米国で承認された。手術後イマチニブを飲み続ければ、手術のみの場合に比べ GIST から完治する患者が確実に増加する。イマチニブは全世界で年間2000億—3000億円の売り上げがあるらしいが、その 1/4 は GIST の治療に用いられていると推定される。イマチニブによる GIST の治療は固形癌に対するキナーゼ阻害剤の最初の確実な成功例であり、我々の研究はこの成功に貢献したと考える。

当初はイマチニブに反応していた手術後再発あるいは手術不能の GIST も、イマチニブの投与を続けると KIT 遺伝子に二次的な突然変異が発生するため、やがてイマチニブの治療効果が失われる。このような GIST の中には、KIT チロシンキナーゼの別の阻害薬であるスニチニブには反応するものがあり、スニチニブはイマチニブ抵抗性の GIST に対する治療薬として 2008年には日本でも承認された。

結果的に、GIST についての我々の研究はイマチニブの適応拡大をもたらしたばかりでなく、固形癌に対する分子標的薬の開発を加速した。

## (2) 研究計画に関与した若手研究者の成長の状況

### 研究分担者

研究分担者の伊藤彰彦、森井英一、実宝智子の3人は本研究の開始時においては、大阪大学医学系研究科の助手であったが、本研究の終了後はそれぞれ別の方向を歩んでいる。本研究に参加した事は各々がそれ以後の進路を決定し、なんらかの形で研究を続けて行く上で役立っていると考ええる。

#### 伊藤 彰彦

神戸大学・医学系研究科の准教授をへて、現在東京大学・医科学研究所の准教授をしている。MITF と MITF により発現が制御されるマスト細胞接着因子 SgIGSF の研究を進展させて、マスト細胞－神経細胞間の相互作用が関与する病態を解析している。また、癌化に対する SgIGSF の影響についても研究を行っている。

#### 森井 英一

大阪大学・医学系研究科の准教授として、診断病理学の教育、研究、診療に従事している。病理診断に直接関係する方向に研究分野を変更したが、特別推進研究の研究過程で身につけた分子細胞生物学的的方法論を用いて研究を行っている。

#### 実宝 智子

千里金欄大学・生活科学部の准教授として、管理栄養士養成のための教育と、栄養病理学におけるマスト細胞の意義に関する研究を行っている。

### 大学院生

#### 大保木 啓介

大阪大学・医学研究科の院生として特別推進研究に参加していたが、特別推進研究の終

了とほぼ同時に学位を取得した。以後国立成育医療センターの共同研究員として、アレルギー病におけるマスト細胞の役割についての研究を続けている。

粕 雄一郎

大阪大学・理学部卒業後、大阪大学・医学研究科の院生として特別推進研究に参加していたが、特別推進研究の終了とほぼ同時に大阪大学医学研究科を退学して神戸大学医学部に学士入学し、現在は臨床研修医である。将来病理診断を専門とする医師になると共に、臨床或いは基礎医学の研究者としても働くことをめざしている。