

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20390341

研究課題名（和文） 癌幹細胞の分子機構の解明と分子標的治療への展開

研究課題名（英文） Targeting therapy against cancer stem cells

研究代表者

久保 肇 (KUBO HAJIME)

京都大学・医学研究科・講師

研究者番号：50362520

研究成果の概要（和文）：ヒトサンプルにおける癌幹細胞の存在を証明し、それを対象とする抗がん剤のスクリーニング法を確立した。癌幹細胞は、大腸がんでは CD133 陽性細胞と位置づけられているが、肝臓間質細胞（星細胞）存在下 CD133 陰性細胞から、CD133 陽性細胞が誘導され、この細胞が癌幹細胞であることを示している。結果、非癌幹細胞から癌幹細胞への転換がおこうことを発見し、その過程を抑制する新規がん治療の方法を提案した。

研究成果の概要（英文）：We have proven the presence of cancer stem cells in the human samples, leading to the establishment of screening methods in vitro targeting cancer stem cells. In addition, we observed the new finding that non-cancer stem cells convert to cancer stem cells. The pathway could be the novel target.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	5,500,000	1,650,000	7,150,000
2009年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
2010年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
年度			
年度			
総計	14,800,000	4,440,000	19,240,000

研究分野：外科学

科研ひの分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：癌幹細胞

1. 研究開始当初の背景

癌組織の中に抗癌剤および放射線抵抗性の集団があるということから、癌組織にも血液幹細胞に代表される組織幹細胞のような細胞が存在するのではないかと考えられたのが、癌幹細胞のアイデアの端緒であろう。そして、癌幹細胞の定義という、どうしても組織幹細胞の定義をそのまま当てはめるといふ誤解が生じる。“Self-renewal”などは、ま

だ容易に実験系を用意できるが、“multipotency”となると、本当に癌幹細胞の定義に必要な難しい。実際、最近報告された大腸癌の幹細胞に関する論文（A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice.Nature. 2007 Jan 4;445(7123):106-10.; Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells.Nature. 2007 Jan 4;445(7123):111-5.）に明

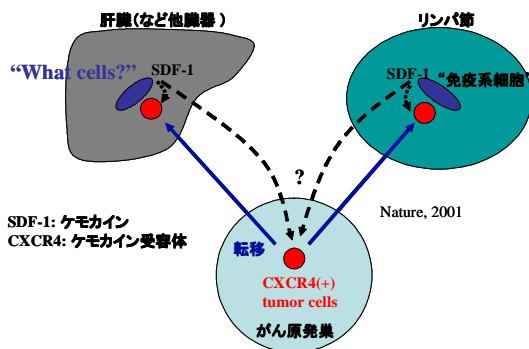
らかなように、最近では、癌幹細胞の定義として最も重要なのは、“tumor initiating potential”をもつことだとされる。

【癌幹細胞の定義】

1. Tumor initiationの能力
: マウス移植において、少数の細胞集団から腫瘍を形成する。
2. 多能性を持つ
3. マウスにおいて、継承可能

この定義に従うと、癌転移は少数の癌細胞が他の臓器に飛んでいって腫瘍塊を形成するわけであるから、「転移が成立するためには、癌幹細胞が転移しなければならない」という仮説が提示される。一方で、最近、転移過程でケモカインとその受容体が重要な役割をもっていることが明らかにされてきた(図1)。

図1. SDF-1-CXCR4と肝転移、そしてがん幹細胞



この概念に興味深いのは、ケモカイン受容体を持つ癌細胞が転移するために、転移巣に存在するケモカイン分泌細胞の刺激が必要である事実である。以上から、我々は癌幹細胞の potential は他の細胞から付加されるものであって、本当に実体のあるものなのかという問題を提起し、同時に癌幹細胞の分子標的としてのケモカインの重要性に着目した。

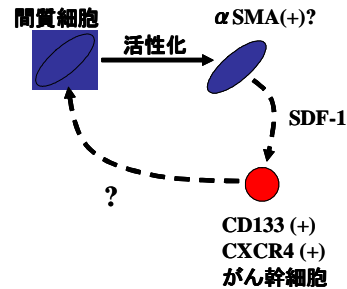
2. 研究の目的

癌幹細胞を治療対象とする戦略が本当に有効であるかを知るためには、癌幹細胞の基礎研究は不可欠である。また、同時に新規の治

療法開発につながる概念の創出に発展することを期待する。よって、以下に挙げる4つの課題に大きく分類して、研究を推進することとする(図2参照)。

図2

仮説



1. 大腸がん幹細胞の新しいマーカーの提唱
2. がん幹細胞のポテンシャルを誘導するには、SDF-1による刺激が必要
3. がん幹細胞と血管・リンパ管新生の関連

- 1) 大腸癌幹細胞が本当に実体として存在するのか? 間質細胞との関係。
- 2) 癌幹細胞の分子標的治療は可能か?
- 3) 肝臓への転移モデルへの応用
- 4) リンパ節転移およびリンパ管新生との関連

【当該分野における本研究の学術的な特色・独創的な点及び予想される結果と意義】

癌幹細胞の研究の多くは、現在主にマーカー探索に集中している。我々のように、癌幹細胞の能力が、間質細胞によって誘導されると提唱するのは、世界的にも極めて独創的であると考えられる。既に、Preliminary に癌幹細胞の能力を誘導する間質細胞を探っており、癌幹細胞に関する新しい理論を発信する期待がある。

3. 研究の方法

- 1) 大腸癌幹細胞が本当に実体として存在するのか? 2) 癌幹細胞の分子標的治療は可能か? 3) 肝臓への転移モデルへの応用、4)

リンパ節転移およびリンパ管新生との関連の4点に分けることができるが、それぞれを並列に推進することを計画し、3年間で十分遂行できる計画案であると考えている。研究代表者のもとで大学院生2人（久森、松末）が細胞培養実験・動物実験などすべてを分担する他に、癌基礎研究の業績の豊富な助教1人（小濱）が研究協力する。本研究では FACS 操作は不可欠で、久森が専任する。小濱は、自身の申請する研究課題において、間質細胞の収集をするため、本研究において有力な分担者として期待される。

4. 研究成果

(1) 1次がん幹細胞として、CD133+細胞を分離培養した。また、2次がん幹細胞として、CD133-細胞を分離し、in vitroで間質細胞と共培養した。それら培養系に、大腸がんの標準治療薬である5-FU, オキサリプラチン(Oxali), 5-FU+Oxaliを投与した。1次がん幹細胞は、5-FU+Oxaliによって、標準投与量ですべて死滅した。一方で、2次がん幹細胞は、5-FU+Oxaliによって死滅に至らなかった。これは、化学療法抵抗性の出現と、2次がん幹細胞の生成が関連することを示唆する。

(2) 上記(1)の系において、現在までに我々が2次がん幹細胞生成プロセスに対する分子標的であることを示してきたSDF-1の阻害剤+5-FU+Oxaliを投与すると、2次がん幹細胞も死滅した。結果、非がん幹細胞からがん幹細胞への転換のメカニズムにSDF-1が必須であることがわかった。一方、CD133-非がん幹細胞に、SDF-1を投与してもがん幹細胞への転換は得られなかった。そこで、このプロセスを詳細に調べるために、1次がん幹細胞、非がん幹細胞、2次がん幹細胞の差異を比較することにした。これら細胞の発現解析のために、microarray解析を行った。現在

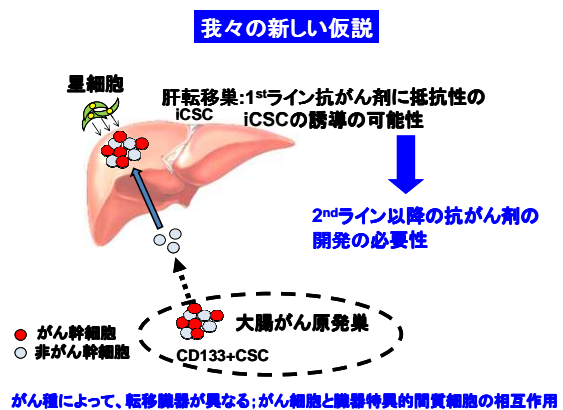
、その差異を形成する遺伝子群の候補を挙げることができた。

今回、リンパ節転移のかわりに肝転移をモデルとして使用しているが、リンパ節転移にも同様の概念が応用できるかどうか重要である。

【意義】

がん幹細胞の能力を決める遺伝子候補が明らかになった。新規抗がん剤、特に抗転移薬の開発に繋がる可能性がある。

以下結果のまとめを図に示す。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

1. Akagami M, Kawada K, Kubo H, Kawada M, Takahashi M, Kaganoi J, Kato S, Itami A, Shimada Y, Watanabe G, Sakai Y. Transcriptional Factor Prox1 Plays an Essential Role in the Antiproliferative Action of Interferon- γ in Esophageal Cancer Cells. Ann Surg Oncol. 2011 Mar 31. [Epub ahead of print]

2. Nakayama S, Hasegawa S, Nagayama S, Kato S, Hida K, Tanaka E, Itami A, Kubo H, Sakai Y. The importance of precompression time for secure stapling with a linear stapler. Surg Endosc. 2010 Dec 24. [Epub ahead of print]

3. Matsusue R, Kubo H, Hisamori S, Okoshi K, Takagi H, Hida K, Nakano K, Itami A, Kawada K, Nagayama S, Sakai Y. Hepatic stellate cells promote liver metastasis of colon cancer cells by the action of SDF-1/CXCR4 axis. *Ann Surg Oncol*. 2009 Sep;16(9):2645-53. Epub 2009 Jul 9.

4. Nagayama S, Yamada E, Kohno Y, Aoyama T, Fukukawa C, Kubo H, Watanabe G, Katagiri T, Nakamura Y, Sakai Y, Toguchida J. Inverse correlation of the up-regulation of FZD10 expression and the activation of beta-catenin in synchronous colorectal tumors. *Cancer Sci*. 2009 Mar;100(3):405-12. Epub 2008 Dec 24.

5. Hisamori S, Tabata C, Kadokawa Y, Okoshi K, Tabata R, Mori A, Nagayama S, Watanabe G, Kubo H, Sakai Y. All-trans-retinoic acid ameliorates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice through modulating cytokine production. *Liver Int*. 2008 Nov;28(9):1217-25. Epub 2008 Apr 7.

6. Okoshi K, Kubo H, Nagayama S, Tabata C, Kadokawa Y, Hisamori S, Yonenaga Y, Fujimoto A, Mori A, Onodera H, Watanabe G, Sakai Y. All-trans-retinoic acid attenuates radiation-induced intestinal fibrosis in mice. *J Surg Res*. 2008 Nov;150(1):53-9. Epub 2008 Jan 9.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

久保 肇 (KUBO HAJIME)

京都大学・医学研究科・講師

研究者番号：50362520

(2) 研究分担者

小濱 和貴 (OBMA KAZUTAKA)

京都大学・医学研究科・助手

研究者番号：50322649