

平成22年 5月21日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20790300

研究課題名 (和文) マウスの腫瘍におけるがん幹細胞の存在の証明

研究課題名 (英文) Identification of Cancer Stem Cells in Murine Tumors

研究代表者

平田 暁大 (AKIHIRO HIRATA)

岐阜大学・生命科学総合研究支援センター・助教

研究者番号：30397327

研究成果の概要 (和文)：正常組織に存在する組織幹細胞とがん幹細胞の共通性に着目し、マウスの大腸腫瘍におけるがん幹細胞の存在を検討した。はじめに、正常大腸組織における細胞の分化および増殖の制御機構を検討し、 β -カテニンの高度な発現誘導により幹細胞が出現し、同細胞は遅い細胞周期を示すことを明らかにした。次いで、マウスの大腸腫瘍における β -カテニンの発現と細胞周期を検討し、周囲のがん細胞よりも β -カテニンを強く発現し、かつ遅い細胞周期を示す幹細胞様の細胞が存在することを見出した。

研究成果の概要 (英文)：The presence of cancer stem cells in murine colon tumors was investigated, focusing on the common characteristics with tissue stem cells. Firstly, we examined the underlying mechanisms on the control of cellular differentiation and proliferation in the normal colon epithelium and found that the induction of higher level of β -catenin induced the colonic stem cells dividing slowly. Next, we examined the expression pattern of β -catenin in murine colon tumors and found the cells expressing a higher level of β -catenin and dividing more slowly than surrounding tumor cells, indicating the presence of cancer stem-like cells in murine colon tumors.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：発がん

科研費の分科・細目：基礎医学・実験病理学

キーワード：がん幹細胞、大腸がん、組織幹細胞、 β -カテニン、Wnt シグナル伝達経路

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、正常組織と同様に、がん組織にも幹細胞が存在することが明らかにされ、がん幹細胞として注目されている。がん幹細胞は、がん組織内の他の多くのがん細胞と比較し

て、抗がん剤治療や放射線治療に対して強い抵抗性を示し、がん組織を形成する能力の高い細胞であるため、治療後の再発の原因となっており、がん幹細胞の研究は、がんの根治療法を考える上で非常に重要である。

(2) これまで、ヒトの様々ながんにおいて、がん幹細胞が存在することが報告されている。しかしながら、実験動物の腫瘍においては、がん幹細胞の存在自体が検討されていない。そのため、がん幹細胞の研究はヒトの腫瘍を用いた研究に限られおり、その制約の多さから研究は思うように進んでいない。

2. 研究の目的

がん幹細胞と組織幹細胞には多くの共通した性質を有し、がん幹細胞は組織幹細胞ががん化することにより生じると考えられている。そこで、本研究では、大腸における組織幹細胞の特徴を明らかにし、マウスの大腸腫瘍内に同様の特徴を示すがん幹細胞様の細胞が存在するか検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 大腸上皮細胞の分化・増殖制御機構の解析：腸管の分化・増殖に重要とされる Wnt シグナル伝達経路のシグナル伝達因子である β -カテニンの発現を自由に制御出来るマウス (β -カテニン誘導マウス) を用いて、正常大腸組織における細胞の分化および増殖の制御機構を検討した。

(2) マウスの大腸腫瘍における β -カテニンの発現と細胞周期の評価： *Apc*(Min/+)マウスに発生した大腸腫瘍における β -カテニンの発現および細胞増殖活性を免疫染色により評価した。細胞増殖活性は Ki-67 抗原に対する抗体により評価した。

4. 研究成果

(1) β -カテニン誘導により大腸上皮細胞に及ぼされる影響は、その発現レベルにより大きく異なった。低レベルの β -カテニンが誘導された細胞では、高度な細胞増殖活性を示し、細胞は一過性増殖細胞 (Transient-amplifying cell) 様の動態を示した。一方、高レベルの β -カテニンの誘導により β -カテニンの核への蓄積が見られた細胞では、腸管幹細胞マーカーの発現が見られ、また、同細胞の細胞周期は遅く、細胞は幹細胞様の動態を示すことが明らかとなった。以上より、大腸上皮細胞の分化・増殖の制御には β -カテニンの発現レベルが重要であることが明らかとなった。

(2) マウスの大腸腫瘍において、周囲のがん細胞よりも β -カテニンを強く発現し、かつ遅い細胞周期を示す幹細胞様の細胞が存在することが明らかとなった。

(3) 本研究成果の意義：これまで実験動物の腫瘍においてがん幹細胞の存在は証明され

ておらず、本研究成果はがん幹細胞の基礎研究を進展させる足掛かりになると考えられる。また、大腸上皮細胞の分化・増殖制御機構の解明は、大腸腫瘍の発がん機構や粘膜再生治療など様々な分野の発展に繋がると考えられる。

(4) 今後の展望：がん幹細胞であることをより完全に証明するためには、腫瘍内より β -カテニンを高発現する細胞を分離し、同細胞の高い造腫瘍性を示す必要があり、現在、検討中である。

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)

[雑誌論文] (計 6 件)

① Phutthaphadoong S, Yamada Y, Hirata A, Tomita H, Taguchi A, Hara A, Limtrakul PN, Iwasaki T, Kobayashi H, Mori H. Chemopreventive effects of fermented brown rice and rice bran (FBRA) on the inflammation-related colorectal carcinogenesis in *Apc*^{Min/+} mice. *Oncology Reports*. 査読あり. 23(1), 2010, pp. 23-59

② Asaoka Y, Sakai H, Hirata A, Sasaki J, Goryo M, Miyamoto Y, Yanai T, Masegi T, Okada K. Detection of initiation activity of 1,2-dimethylhydrazine in in vivo medium-term liver initiation assay system using 4-week-old rats without hepatocellular proliferative stimuli during the test chemical treatment period. *Journal of Veterinary Medical Sciences*. 査読あり. 72(1), 2010, pp. 43-53

③ Phutthaphadoong S, Yamada Y, Hirata A, Tomita H, Taguchi A, Hara A, Limtrakul PN, Iwasaki T, Kobayashi H, Mori H. Chemopreventive effects of fermented brown rice and rice bran against 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced lung tumorigenesis in female A/J mice. *Oncology Reports*. 査読あり. 21(2), 2009, pp. 321-7.

④ Takasu S, Tsukamoto T, Cao X, Toyoda T, Hirata A, Ban H, Yamamoto M, Sakai H, Yanai T, Masegi T, Oshima M, Tatematsu M. Roles of cyclooxygenase-2 and microsomal prostaglandin E synthase-1 expression and β -catenin activation in gastric carcinogenesis in N-methyl-N-nitrosourea-treated K19-C2mE transgenic mice. *Cancer Science*. 査読あり. 99(12), 2008, pp. 2356-64.

⑤ Hirata A, Tsukamoto T, Sakai H, Takasu S, Ban H, Imai T, Totsuka Y, Nishigaki R, Wakabayashi K, Yanai T, Masegi T, Tatematsu M. Carcinogenic risk of heterocyclic amines in combination – assessment with a liver initiation model. *Food and Chemical Toxicology*. 査読あり. 2008, 46(6), pp. 2003-9.

⑥ Oyama T, Yamada Y, Hata K, Tomita H, Hirata A, Sheng H, Hara A, Aoki H, Kunisada T, Yamashita S, Mori H. Further upregulation of β -catenin/Tcf transcription is involved in the development of macroscopic tumors in the colon *Apc*^{Min/+} mice. *Carcinogenesis*. 査読あり. 29(3), 2008, pp. 666-72.

[学会発表] (計 16 件)

① 酒井洋樹、村上麻美、平田暁大、児玉篤史、村井厚子、米丸加余子、丸尾幸嗣、森崇、星野有希、木村透、柳井徳磨、獣医病理病態学からみた比較腫瘍学への貢献 一犬の血管肉腫の研究を例に一、第 149 回日本獣医学会学術集会、2010 年 3 月 28 日、東京

② 平田暁大、山田泰広、富田弘之、山下聡、牛島俊和、原 明、DNA 低メチル化 (Global DNA hypomethylation) の胃発がん抑制作用—メチル基転移酵素 Dnmt1 低発現マウスによる検討—、第 26 回日本毒性病理学会、2010 年 2 月 3 日、金沢

③ 平田暁大、山田泰広、尾山武、原 明、*Dkk-1* heterozygosity dose not promote colon tumor development in *Apc*(Min/+) mice with *Sfrps* heterozygosity、第 68 回日本癌学会学術総会、2009 年 10 月 2 日、横浜

④ 山田泰広、波多野裕一郎、平田暁大、原 明、Role of epigenetic modifications in colon tumorigenesis、第 68 回日本癌学会学術総会、2009 年 10 月 2 日、横浜

⑤ 波多野裕一郎、山田泰広、平田暁大、畑和也、田口綾子、境浩康、馬場政司、原 明、Global hypomethylation suppresses inflammation-related colon carcinogenesis in mice、第 68 回日本癌学会学術総会、2009 年 10 月 1 日、横浜

⑥ 高須伸二、豊田武士、時 亮、平田暁大、山本昌美、田口修、立松正衛、塚本徹哉、Roles of Bone Marrow Derived Cells in *Helicobacter pylori* Associated Mouse Gastric Carcinogenesis、第 68 回日本癌学会学術総

会、2009 年 10 月 1 日、横浜

⑦ 浅岡由次、酒井洋樹、平田暁大、佐々木淳、御領政信、宮本庸平、柳井徳磨、柵木利昭、岡田幸助、4 週齢ラットを用いた中期イニシエーション活性検索法の有用性、第 36 回日本トキシコロジー学会学術年会、2009 年 7 月 6 日、盛岡

⑧ 平田暁大、塚本徹哉、高須伸二、山本昌美、立松正衛、相磯成敏、福島昭治、*N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine 誘発鼻腔内腫瘍に対する *p53* ノックアウトマウスの発がん感受性、第 16 回日本がん予防学会、2009 年 6 月 16 日、名古屋

⑨ 高須伸二、塚本徹哉、豊田武士、時 亮、平田暁大、山本昌美、立松正衛、骨髄移植マウスにおける *Helicobacter* 感染および MNU 誘発胃癌と骨髄由来細胞の関与、第 16 回日本がん予防学会、2009 年 6 月 16 日、名古屋

⑩ 塚本徹哉、時 亮、豊田武士、高須伸二、齋藤典子、齋藤亜弓、山本昌美、平田暁大、立松正衛、田中卓二、Cyclooxygenase-2 阻害剤 Etodolac による DSS 誘発 Min マウス大腸腫瘍の抑制効果、第 16 回日本がん予防学会、2009 年 6 月 16 日、名古屋

⑪ 平田暁大、山田泰広、山下聡、牛島俊和、原明 Wnt pathway による大腸上皮細胞の増殖制御: β -catenin inducible マウスによる検討 第 25 回日本毒性病理学会、2009 年 1 月 27 日、浜松

⑫ 山田泰広、平田暁大、富田弘之、山下聡、森秀樹、牛島俊和、原明 The role of DNA methylation in carcinogenesis of the digestive tract 第 67 回日本癌学会学術総会、2008 年 10 月 4 日、名古屋

⑬ 尾山武、山田泰広、平田暁大、安井由美子、金美慧、甲野裕之、原明、杉江茂幸、田中卓二、森秀樹 The epigenetic transcriptional repression of Wnt antagonist genes in the development of colon tumors in *Apc*^{Min/+} mice 第 67 回日本癌学会学術総会、2008 年 10 月 4 日、名古屋

⑭ 平田暁大、山田泰広、山下聡、牛島俊和、原明、森秀樹 Role of the canonical Wnt signaling in proliferation and differentiation of the colonic epithelium cell 第 67 回日本癌学会学術総会、2008 年 10 月 3 日、名古屋

⑮ 高須伸二、塚本徹哉、曹雪源、豊田武士、

時亮、平田暁大、大島正伸、立松正衛
Beta-catenin accumulation and mutation in
gastric cancer in *H.pylori* infected and MNU
treated K19-C2mE transgenic mice 第 67 回
日本癌学会学術総会、2008 年 10 月 3 日、
名古屋

- ⑩ 山田泰広、原 明、平田暁大、廣瀬善信、
ルドルフ イェーニツシュ、森秀樹 未分化
性の維持と発がん、第 97 回日本病理学会
総会、2008 年 10 月 15~17 日、金沢

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

学術賞

- ① 第 26 回日本毒性病理学会 会長賞(優秀賞)
受賞演題：「DNA 低メチル化 (Global DNA
hypomethylation) の胃発がん抑制作用 —
メチル基転移酵素 Dnmt1 低発現マウスによる
検討—」

- ② 第 25 回日本毒性病理学会 会長賞 (最優
秀賞)
受賞演題：「Wnt pathway による大腸上皮細胞
の増殖制御： β -catenin inducible マウスに
よる検討」

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平田 暁大 (HIRATA AKIHIRO)
岐阜大学・生命科学総合研究支援センタ
ー・助教
研究者番号：30397327

(2) 研究分担者 ()

研究者番号：

(3) 連携研究者 ()

研究者番号：