

令和 5 年 5 月 17 日現在

機関番号：14401
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2020～2022
課題番号：20K09056
研究課題名(和文)細胞特性を利用した大腸癌幹細胞分離による癌幹細胞理解と大腸癌幹細胞の治療標的化
研究課題名(英文)Understanding cancer stem cells and targeting colorectal cancer stem cells for therapy via isolation using cellular characteristics
研究代表者
植村 守(Uemura, Mamoru)
大阪大学・大学院医学系研究科・講師
研究者番号：10528483
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：大腸癌幹細胞(CSC)の低プロテアソーム活性(LPA)に着目し、これを分離・検証。LPA下での遺伝子発現変化を明らかにし、癌幹細胞治療への応用を探った。Wnt経路の上流遺伝子が抑制されており、その強制発現は細胞増殖能を低下させ、癌抑制作用があることが示された。しかし、この遺伝子のノックアウトマウスでは自然発癌は見られなかった。発癌モデル作成は続行中。長期低酸素暴露によって誘導される遺伝子が癌の悪性度・治療抵抗性に深く関わることを示唆された。これらの遺伝子による癌細胞の幹細胞性上昇は、通常酸素培養に戻しても元に戻らず固定化した。現在、この固定化がエピジェネティック制御によるものかを検討中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、大腸癌幹細胞(CSC)の低プロテアソーム活性(LPA)に注目し、新たながん治療戦略の可能性を探求しました。Wnt経路の上流遺伝子の発現抑制による癌細胞の増殖能低下は、新治療戦略への可能性を含むものと思います。また、長期低酸素環境下での遺伝子発現変化を分析し、悪性度や治療抵抗性に関与する遺伝子群を特定し、これらがエピジェネティックに制御される可能性は、新たな視点を提供するものと思われます。これらの成果は、がん研究の新領域を開き、治療法開発への道筋を示し、学術的・社会的意義を有すると思われます。

研究成果の概要(英文)：Our research targeted the low proteasome activity (LPA), a characteristic of colorectal cancer stem cells (CSCs). We isolated LPA-expressing cells using an imaging vector, confirming their tumorigenicity. We investigated the LPA-tumorigenicity link and changes in gene expression under LPA.

A gene in the Wnt pathway was suppressed in colorectal cancer. Its forced expression reduced cell proliferation, showing its tumor-suppressive role. The gene's knockout didn't lead to spontaneous carcinogenesis in mice. We're now working on a carcinogenesis model.

We focused on long-term hypoxia-induced genes, critical for malignancy and treatment resistance. Unlike short-term hypoxia-responsive genes, the long-term ones solidified changes in proliferation and CSC traits, irreversibly. We're studying if these changes are epigenetically regulated.

研究分野：大腸癌

キーワード：大腸癌 癌幹細胞 低プロテアソーム活性 低酸素

1. 研究開始当初の背景

癌幹細胞 (CSC) は、抗癌剤や放射線への抵抗性を持つことから、癌の再発源となる可能性がある。このため、CSC をターゲットとした癌治療法の開発は、大いに期待されている。大腸癌に関しても、CSC 候補マーカーの同定と、それを基にした治療戦略の模索が進んでいるが、臨床応用までの道のりはまだ遠いと言える。

主な問題は、表面マーカーを用いて同定された細胞群とその腫瘍形成能に基づくアプローチが、真の CSC を対象とした効果的な治療法開発につながらない点である。この問題を克服するために、真の CSC の適切な分離と、上皮細胞から間葉系細胞への移行 (EMT) のような、非 CSC に幹細胞性を付与する現象の本質を明らかにすることが必要とされる。

2. 研究の目的

大腸癌根治のために、癌幹細胞の特性を解明し、癌幹細胞治療の実現を目指すことを本研究の目的としている。癌幹細胞の主たる特徴の一つである低プロテアソーム活性 (LPA) に着目し、LPA を標識する imaging vector を利用し高純度の LPA 大腸癌細胞 (癌幹細胞) の分離法を確立しており、この手法を用いて LPA の影響下の治療抵抗性や幹細胞性、さらには癌幹細胞性の維持機構などを解明し、癌幹細胞をターゲットとした癌治療の実現を目指す。

3. 研究の方法

- ・すでに LPA による癌幹細胞性維持機構や治療抵抗性メカニズムを探索する目的で、マイクロアレイにより発現遺伝子を網羅的に解析する。予備データでは、腫瘍増殖に関連する遺伝子や、低酸素誘導遺伝子等が LPA 下に発現亢進しており、これらの因子と CSC 治療抵抗性との関連を細胞実験にて解明する。
- ・複数のオートファジー関連遺伝子 (ATG) の発現が亢進していたことから、癌幹細胞性維持機構においてプロテアソームとオートファジーのクロストークが存在していることが示唆されており、これらによる癌幹細胞性維持機構を解明する。
- ・LPA 下にエピジェネティクス制御を受けた Wnt 経路上流遺伝子の、癌幹細胞性との関連を、細胞実験や動物実験 (ノックアウトマウス、FLOX マウス (Cre 依存的ノックアウト)) によって解明する。
- ・実験の過程で着目した、低酸素誘導遺伝子、中でも長期低酸素暴露によって誘導されてくる遺伝子に関する機能解析、機序解明。

4. 研究成果

大腸癌幹細胞 (CSC) に関する既存研究では、これをターゲットとした治療の確立には至っていない、この点を改善するために表面マーカーではなく、CSC の基本的特徴である低プロテアソーム活性 (LPA) に着目して研究を進めてきた。低プロテアソームを標識する imaging vector を利用して LPA 大腸癌細胞を分離し、高い癌細胞性を検証してきた。さらに、LPA が癌幹細胞性とのようなかわりを持つのかを検討し、癌幹細胞治療につなげるべく機能解析を進めるため、LPA 下での遺伝子発現変化を明らかにした。

最も有力であると考えられた、Wnt 経路上流遺伝子は、大腸癌においてその発現が抑制されていた。また、これを癌細胞に強制発現させると細胞増殖能が有意に低下した。in vitro ではこの遺伝子は癌抑制的に働くことが明らかとなった。作成したノックアウトマウスにおいて自然

発癌への寄与を検討したが、この遺伝子の単一のノックアウトでは明らかな自然発癌は見られず、大腸ポリープの発生も認められなかった。引き続き、科学的な刺激を併用した発癌モデルの作成を実験中である。

実験の過程で着目した、低酸素誘導遺伝子、中でも長期低酸素暴露によって誘導されてくる遺伝子に関しては、短期間の低酸素暴露によって素早く発現が変化する遺伝子群ではなく、長期低酸素暴露により誘導されてくる遺伝子が癌の悪性度、治療抵抗性に深く関わっていることが示唆されており、長期低酸素暴露下に誘導される遺伝子に着目して検討を進めている。長期低酸素暴露ではLPAの観点からも、癌細胞の幹細胞性が上昇し、それによってもたらされた増殖能の変化などは、短期間通常酸素培養に戻しても元に戻らず固定化されていた。現在はこれらの性質変化の固定化が、エピジェネティックな制御によってなされている可能性に着目して検討を加えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Morimoto Yoshihiro, Takahashi Hidekazu, Arita Asami, Itakura Hiroaki, Fujii Makoto, Sekido Yuki, Hata Tsuyoshi, Fujino Shiki, Ogino Takayuki, Miyoshi Norikatsu, Uemura Mamoru, Matsuda Chu, Yamamoto Hirofumi, Mizushima Tsunekazu, Doki Yuichiro, Eguchi Hidetoshi	4. 巻 23
2. 論文標題 High postoperative carcinoembryonic antigen as an indicator of high risk stageII colon cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/ol.2022.13287	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 KATO AYA, MIYOSHI NORIKATSU, OHTSURU TORU, SAKAI DAISUKE, HASEGAWA JUNICHI, NAKATA KEN, IMASATO MITSUNOBU, KATO TAKESHI, IKENAGA MASAKAZU, KUDO TOSHIHIRO, TEI MITSUYOSHI, KAGAWA YOSHINORI, UEMURA MAMORU, et., al.	4. 巻 42
2. 論文標題 A Phase II Study of Dose-reductive XELOX Plus Bevacizumab in Elderly or Vulnerable Patients With Metastatic Colorectal Cancer (MCSGO-1202)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 1859 ~ 1865
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticanres.15662	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Bando Hideaki, Tsukada Yuichiro, Inamori Koji, Togashi Yosuke, Koyama Shohei, Kotani Daisuke, Fukuoka Shota, Yuki Satoshi, Komatsu Yoshito, Homma Shigenori, Taketomi Akinobu, Uemura Mamoru, et., al.	4. 巻 28
2. 論文標題 Preoperative Chemoradiotherapy plus Nivolumab before Surgery in Patients with Microsatellite Stable and Microsatellite Instability High Locally Advanced Rectal Cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clinical Cancer Research	6. 最初と最後の頁 1136 ~ 1146
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1158/1078-0432.CCR-21-3213	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wang Jiaqi, Yokoyama Yuhki, Hirose Haruka, Shimomura Yuki, Bonkobara Saki, Itakura Hiroaki, Kouda Shihori, Morimoto Yoshihiro, Minami Kazumasa, Takahashi Hidekazu, Shibata Satoshi, Kobayashi Shogo, Uemura Mamoru, Tanaka Susumu, Wu Xin, Tanaka Shinji, Mori Masaki, Yamamoto Hirofumi	4. 巻 60
2. 論文標題 Functional assessment of miR 1291 in colon cancer cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2022.5303	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takeda Takashi, Yokoyama Yuhki, Takahashi Hidekazu, Okuzaki Daisuke, Asai Kaho, Itakura Hiroaki, Miyoshi Norikatsu, Kobayashi Shogo, Uemura Mamoru, Fujita Toshitsugu, Ueno Hiroo, Mori Masaki, Doki Yuichiro, Fujii Hodaka, Eguchi Hidetoshi, Yamamoto Hirofumi	4. 巻 126
2. 論文標題 A stem cell marker KLF5 regulates CCAT1 via three-dimensional genome structure in colorectal cancer cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 109 ~ 119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41416-021-01579-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujino Shiki, Miyoshi Norikatsu, Ito Aya, Yasui Masayoshi, Matsuda Chu, Ohue Masayuki, Uemura Mamoru, Mizushima Tsunekazu, Doki Yuichiro, Eguchi Hidetoshi	4. 巻 11
2. 論文標題 HNF1A regulates colorectal cancer progression and drug resistance as a downstream of POU5F1	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-89126-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yukimoto Ryohei, Nishida Naohiro, Hata Tsuyoshi, Fujino Shiki, Ogino Takayuki, Miyoshi Norikatsu, Takahashi Hidekazu, Uemura Mamoru, Satoh Taroh, Yamamoto Hirofumi, Mizushima Tsunekazu, Doki Yuichiro, Eguchi Hidetoshi	4. 巻 112
2. 論文標題 Specific activation of glycolytic enzyme enolase 2 in BRAF V600E mutated colorectal cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2884 ~ 2894
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14929	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujino Shiki, Miyoshi Norikatsu, Ito Aya, Yasui Masayoshi, Ohue Masayuki, Ogino Takayuki, Takahashi Hidekazu, Uemura Mamoru, Matsuda Chu, Mizushima Tsunekazu, Doki Yuichiro, Eguchi Hidetoshi	4. 巻 19
2. 論文標題 Crenolanib Regulates ERK and AKT/mTOR Signaling Pathways in RAS/BRAF-Mutated Colorectal Cancer Cells and Organoids	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Cancer Research	6. 最初と最後の頁 812 ~ 822
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1541-7786.MCR-20-0600	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Paku Masakatsu, Haraguchi Naotsugu, Takeda Mitsunobu, Fujino Shiki, Ogino Takayuki, Takahashi Hidekazu, Miyoshi Norikatsu, Uemura Mamoru, Mizushima Tunekazu, Yamamoto Hirofumi, Doki Yuichiro, Eguchi Hidetoshi	4. 巻 28
2. 論文標題 SIRT3-Mediated SOD2 and PGC-1 Contribute to Chemoresistance in Colorectal Cancer Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 4720 ~ 4732
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-020-09373-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sasaki Masaru, Miyoshi Norikatsu, Fujino Shiki, Saso Kazuhiro, Ogino Takayuki, Takahashi Hidekazu, Uemura Mamoru, Yamamoto Hirofumi, Matsuda Chu, Yasui Masayoshi, Ohue Masayuki, Mizushima Tsunekazu, Doki Yuichiro, Eguchi Hidetoshi	4. 巻 497
2. 論文標題 The meiosis-specific cohesin component stromal antigen 3 promotes cell migration and chemotherapeutic resistance in colorectal cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Letters	6. 最初と最後の頁 112 ~ 122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.canlet.2020.10.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ikeda Atsuyo, Ogino Takayuki, Kayama Hisako, Okuzaki Daisuke, Nishimura Junichi, Fujino Shiki, Miyoshi Norikatsu, Takahashi Hidekazu, Uemura Mamoru, Matsuda Chu, Yamamoto Hirofumi, Takeda Kiyoshi, Mizushima Tsunekazu, Mori Masaki, Doki Yuichiro	4. 巻 8
2. 論文標題 Human Nkp44+ Group 3 Innate Lymphoid Cells Associate with Tumor-Associated Tertiary Lymphoid Structures in Colorectal Cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Immunology Research	6. 最初と最後の頁 724 ~ 731
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/2326-6066.CIR-19-0775	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saso Kazuhiro, Miyoshi Norikatsu, Fujino Shiki, Sasaki Masaru, Yasui Masayoshi, Ohue Masayuki, Ogino Takayuki, Takahashi Hidekazu, Uemura Mamoru, Matsuda Chu, Mizushima Tsunekazu, Doki Yuichiro, Eguchi Hidetoshi	4. 巻 27
2. 論文標題 Dipeptidyl Peptidase 9 Increases Chemoresistance and is an Indicator of Poor Prognosis in Colorectal Cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 4337 ~ 4347
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-020-08729-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwamoto Kazuya, Takahashi Hidekazu, Okuzaki Daisuke, Osawa Hideo, Ogino Takayuki, Miyoshi Norikatsu, Uemura Mamoru, Matsuda Chu, Yamamoto Hirofumi, Mizushima Tsunekazu, Mori Masaki, Doki Yuichiro, Eguchi Hidetoshi	4. 巻 123
2. 論文標題 Syntenin-1 promotes colorectal cancer stem cell expansion and chemoresistance by regulating prostaglandin E2 receptor	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 955 ~ 964
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41416-020-0965-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sekido Yuki, Nishimura Junichi, Nakano Kazuhiro, Osu Takeaki, Chow Cheryl-Emiliane T., Matsuno Hiroshi, Ogino Takayuki, Fujino Shiki, Miyoshi Norikatsu, Takahashi Hidekazu, Uemura Mamoru, Matsuda Chu, Kayama Hisako, Mori Masaki, Doki Yuichiro, Takeda Kiyoshi, Uchino Motoi, Ikeuchi Hiroki, Mizushima Tsunekazu	4. 巻 10
2. 論文標題 Some Gammaproteobacteria are enriched within CD14+ macrophages from intestinal lamina propria of Crohn's disease patients versus mucus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2988-2988
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-59937-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sasaki Masaru, Miyoshi Norikatsu, Fujino Shiki, Saso Kazuhiro, Ogino Takayuki, Takahashi Hidekazu, Uemura Mamoru, Yamamoto Hirofumi, Matsuda Chu, Yasui Masayoshi, Ohue Masayuki, Mizushima Tsunekazu, Doki Yuichiro, Eguchi Hidetoshi	4. 巻 497
2. 論文標題 The meiosis-specific cohesin component stromal antigen 3 promotes cell migration and chemotherapeutic resistance in colorectal cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Letters	6. 最初と最後の頁 112 ~ 122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.canlet.2020.10.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 北風雅敏、今野雅允、浅井歩、藤野志季、荻野崇之、高橋秀和、三吉範克、植村守、水島恒和、土岐祐一郎、江口英利、石井秀始
2. 発表標題 大腸がんにおけるTissue resident memory CD8+ T cells (Trm) が全生存期間、無再発生存期間を延長する
3. 学会等名 第29回日本がん転移学会学術集会・総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大塚正久、市原もも子、廣瀬遥、高橋秀和、松田宙、赤松大樹、水島恒和、土岐祐一郎、山本浩文
2. 発表標題 大腸癌幹細胞関連長鎖非コードRNA LNC01534の機能的役割の解明
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤野志季、三吉範吉、大植雅之、安井昌義、荻野 崇之、高橋秀和、植村 守、松田 宙、水島恒和、森 正樹、土岐祐一郎
2. 発表標題 MSS大腸癌や薬剤耐性大腸癌における新たな治療標的としてのHNF1Aの働きの解明
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 萩原清貴、原口直紹、藤野志季、荻野崇之、高橋秀和、三吉範克、植村守、松田宙、水島恒和、山本浩文、森正樹、土岐祐一郎
2. 発表標題 PLXND1と上皮間葉移行の関わり
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 笹生和宏、三吉範克、藤野志季、荻野崇之、高橋秀和、植村守、松田宙、大植雅之、山本浩文、水島恒和、森正樹、土岐祐一郎
2. 発表標題 大腸癌におけるDPP9遺伝子発現の意義と治療標的としての検討
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	高橋 秀和 (Takahashi Hidekazu) (10528508)	大阪大学・大学院医学系研究科・特任講師(常勤) (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------