

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K21846

研究課題名（和文）発がんにおける組織幹細胞の細胞競合を可視化する解析系の確立とその応用

研究課題名（英文）Establishment of the system to visualize cell competition of intestinal stem cells in carcinogenesis

研究代表者

笹谷 めぐみ（豊島めぐみ）（Sasatani, Megumi）

広島大学・原爆放射線医科学研究所・准教授

研究者番号：80423052

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：近年、この「細胞競合」機構が組織や器官の発生のみならず、発がんを制御するためのシステムとしても用いられていることが報告され、発がんにおける「細胞競合」の重要度が注目されている。そこで本研究は、我々がこれまでに得た知見を応用し、「細胞競合」を検出することができるマウスモデルを作成した。得られたモデルマウスを用いて腸管陰窩に存在する幹細胞において、「細胞競合」がみられることを観察した。さらに、この「細胞競合」現象が、マウスの週齢により異なることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、我々がこれまでに得た知見を応用し、「細胞競合」を検出することができるマウスモデルを作成し、腸管組織幹細胞における「細胞競合」を組織レベルで解析した。本研究で観察される「細胞競合」機構は発がん過程において重要な役割を果たすと考えられるため、新しい放射線発がん機構として学術的に高い意義を有すると思われる。また、本研究で明らかにされる「細胞競合」の機構解明は、将来的に、新抗がん戦略としても期待できると考える。

研究成果の概要（英文）：Recently, it has been reported that "cell competition" mechanism has the function not only in the development of tissues and organs but also as a system to regulate carcinogenesis, and the importance of "cell competition" in carcinogenesis is attracting attention. In this study, we applied our previous findings to make a mouse model capable of detecting "cell competition". Using the mouse model, we have observed that "cell competition" in intestinal stem cells located at the bottom of crypts.

研究分野：放射線影響研究分野

キーワード：放射線 発がん 幹細胞 細胞競合

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

「細胞競合」は、生体内で隣り合っている細胞間の相互作用により、互いに生存を競い合う現象のことである。細胞競合により、適応度の低い細胞は敗者として除去され、一方、適応した細胞は勝者として生き残る。この「細胞競合」という現象は、1975年にショウジョウバエで最初に発見され、組織や器官が正常に発生するための選択機構であると考えられてきた(1)。近年、この「細胞競合」機構が組織や器官の発生のみならず、発がんを制御するためのシステムとしても用いられていることが報告され、発がんにおける「細胞競合」の重要度が注目されている。実際に、正常な上皮細胞中に異常な細胞が生じた場合に、正常細胞と異常な細胞との間で「細胞競合」がおこり、異常細胞を排除すること事が報告されており、このことは、「細胞競合」が抗腫瘍機能として働くことを示唆すると考えられている(2,3)。

我々は、我々はこれまでの研究過程で、家族性大腸腺腫症モデルマウス(*Apc<sup>Min/+</sup>*マウス)とコンソミック系統マウスを用いた実験から、極低線量の発がん影響とDNA上の放射線痕跡を高感度に検出することができる放射線発がんモデルを開発することに成功した。更に、このマウスモデルを用いて、大人期では、照射により生じた発がん性突然変異が生じるが、二次的な刺激がないと腫瘍発生が認められず、時間経過とともに淘汰されるという知見を得た。実際に、マウス肝臓において、*Apc*欠損変異が広範囲において誘導されると発がんが誘導されるが、モザイク状に誘導された場合に肝細胞の異常な増殖や肝肥大は起こらないことが報告されている(4)。そこで、本研究で得られた知見を応用することにより、発がんの初期過程における正常細胞とがんの元となる異常細胞との「細胞競合」現象を観察することができるという仮説を立てた。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、我々がこれまでに得た研究成果を応用し、「細胞競合」を検出することができるマウスモデルを開発し、発がんにおける「細胞競合」組織レベルで検出することである。

### 3. 研究の方法

我々のこれまでの*Apc<sup>Min/+</sup>*マウスモデルと系譜追跡技術(lineage tracing)を組み合わせることにより、幹細胞特異的に*Apc*遺伝子を欠損した「がんの元となる細胞」を蛍光色素タンパクの発現により可視化することを目的とし、数種類の数種類の遺伝子改変マウスを掛け合わせた。得られたマウスを用いて、様々な濃度のタモキシフェン投与を行った。その後、マウスを屠殺し、腸管を採取し4% PFAによる固定を行った。固定後、腸管組織は、約5mm四方の大きさに切り、核染色、組織の透明化を行い、96ウェルプレートに封入した。腸管陰窩における蛍光標識細胞の定量は、イスルーブット・ハイコンテンツイメージングシステム(OperaPhenix)を用いて行った。

### 4. 研究成果

数種類の遺伝子改変マウスを掛け合わせ、系譜追跡技術 (lineage tracing)により、幹細胞特異的に「がんの元となる細胞」を蛍光色素タンパクの発現により可視化するための実験系を確立した。次に、得られた実験系を用いてタモキシフェン投与により、「がんの元となる細胞」を蛍光色素タンパクの発現により可視化し、時間経過による「がんの元となる細胞」の増殖速度を計測した。実際に、タモキシフェンの投与により、「正常幹細胞」と「がんの元となる幹細胞」のみならず、「正常幹細胞」同士においても細胞競合が行われていることを明らかにした。タモキシフェン投与により誘導される蛍光色素を発現した「正常幹細胞」、「がんの元となる幹細胞」は、タモキシフェン投与後の時間経過とともにその頻度は減少するが、そのサイズが増加することを明らかにした。また、ex vivo システムを開発、利用し、発がんにおける「細胞競合」を制御する分子機構の解明を目指した。次に、年齢依存的にタモキシフェン投与を行うことで「がんの元となる細胞」の増殖速度が年齢により異なることを明らかにした。本研究成果は、発がんにおける「細胞競合」の重要性を示す重要な知見といえる。

#### 引用文献

- (1) Morata G, Ripoll P, Minutes: mutants of drosophila autonomously affecting cell division rate, *Dev Biol*, 1975, 42(2):211-21
- (2) Hogan C, Dupré-Crochet S, Norman M, et al, Characterization of the interface between normal and transformed epithelial cells, *Nature Cell Biology*, 2009, 11(4):460-7
- (3) Tatsushi Igaki 1, Jose Carlos Pastor-Pareja, Hiroka Aonuma, Masayuki Miura, Tian Xu, et al, Intrinsic tumor suppression and epithelial maintenance by endocytic activation of Eiger/TNF signaling in Drosophila, *Dev Cell*, 2009, 16(3):458-65
- (4) Schreiber S, Rignall B, Braeuning A, et al, Phenotype of single hepatocytes expressing an activated version of  $\beta$ -catenin in liver of transgenic mice, *J Mol Histol*, 2011, 42(5):393-400

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Shimura Tsutomu, Shiga Rina, Sasatani Megumi, Kamiya Kenji, Ushiyama Akira	4. 巻 14
2. 論文標題 Melatonin and MitoEbselen-2 Are Radioprotective Agents to Mitochondria	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Genes	6. 最初と最後の頁 45 ~ 45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/genes14010045	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Shimura Tsutomu, Totani Rina, Ogasawara Hyougo, Inomata Keiki, Sasatani Megumi, Kamiya Kenji, Ushiyama Akira	4. 巻 99
2. 論文標題 Effects of oxygen on the response of mitochondria to X-irradiation and reactive oxygen species-mediated fibroblast activation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Radiation Biology	6. 最初と最後の頁 769 ~ 778
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09553002.2023.2142980	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 Shimura T, Nakashiro C, Fujiwara K, Shiga R, Sasatani M, Kamiya K, Ushiyama A.	4. 巻 63(2)
2. 論文標題 Radiation affects glutathione redox reaction by reduced glutathione peroxidase activity in human fibroblasts	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Radiat Res	6. 最初と最後の頁 183-191
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jrr/rrab122.	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 Zaharieva E, Sasatani M, Matsumoto R, Kamiya K	4. 巻 196(1)
2. 論文標題 Formation of DNA Damage Foci in Human and Mouse Primary Fibroblasts Chronically Exposed to Gamma Radiation at 0.1 mGy/min	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Radiation Research	6. 最初と最後の頁 40-54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1667/RADE-20-00059.1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shimura T, Ando T, Narao M, Sasatani M, Kamiya K, Ushiyama A	4. 巻 22
2. 論文標題 Mechanism of turnover or persistence of radiation-induced myofibroblast in vitro	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Cycle	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15384101	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Doi K, Kai M, Suzuki K, Imaoka T, Sasatani M, Tanaka S, Yamada Y, Kakinuma S	4. 巻 194
2. 論文標題 Estimation of Dose-Rate Effectiveness Factor for Malignant Tumor Mortality: Joint Analysis of Mouse Data Exposed to Chronic and Acute Radiation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Radiation Research	6. 最初と最後の頁 500-510
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1667/RADE-19-00003.1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 笹谷めぐみ、神谷研二
2. 発表標題 マウスモデルを用いた放射線発がんにおける被ばく時年齢依存性の解明
3. 学会等名 日本放射線影響学会第65回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 笹谷めぐみ、神谷研二
2. 発表標題 ApcMin/+マウスにおける放射線誘発小腸腫瘍感受性は、形態形成期に高い
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 笹谷めぐみ、神谷研二
2. 発表標題 マウスモデルを用いた放射線発がんにおける被ばく時年齢の影響解明
3. 学会等名 日本環境変異原ゲノム学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Megumi Sasatani, Tsutomu Shimura, Guanyu Zhou, and Kenji Kamiya
2. 発表標題 Morphology dynamics in intestinal crypt during postnatal development affect age-dependent susceptibility to radiation-induced intestinal tumorigenesis by using ApcMin/+ mice
3. 学会等名 The 7th international symposium of the network-type joint usage/research center for radiation disaster medical science (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 笹谷めぐみ、神谷研二
2. 発表標題 マウスモデルを用いた低線量・低線量率放射線発がん研究と、幹細胞動態に着目した放射線発がんにおける被ばく時年齢性解明
3. 学会等名 第1回放射線影響学会・若手部会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 笹谷めぐみ、Zaharieva Elena、神谷研二
2. 発表標題 ApcMin/+マウスでは小児期における被ばくが放射線発がんを高感受性を示す
3. 学会等名 日本放射線影響学会第64回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 神代紗央理、笹谷めぐみ、Elena K Zaharieva、松井亜子、神谷研二
2. 発表標題 マウスモデルを用いた放射線発がんの機構解明
3. 学会等名 第45回中国地区放射線影響研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 笹谷めぐみ
2. 発表標題 実験動物モデルを用いた放射線発がん研究
3. 学会等名 第71回放射線科学研究会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sasatani Megumi , Kamiya Kenji
2. 発表標題 The effect of age at exposure on radiation induced tumor risk using ApcMin/+ mice
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sasatani Megumi, Zaharieva Elena , Kakomi Saori, Matsui Ako, Kenji Kamiya
2. 発表標題 The effect of age at exposure on radiation-induced carcinogenesis in ApcMin/+ mice
3. 学会等名 日本放射線影響学会第63回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Matsui Aki, Sasatani Megumi, Zaharieva Elena, Kamiya Kenji
2. 発表標題 Investigation of radiation dose rate effect on loss of heterozygosity in mouse F1 hybrid embryonic stem cells
3. 学会等名 The 5th International Symposium of the Network-type Joint Usage/ Research Center for Radiation Disaster Medical Science (国際学会)
4. 発表年 2021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	志村 勉 (Shimura Tsutomu)  (40463799)	国立保健医療科学院・その他部局等・上席主任研究官  (82602)	
研究分担者	神谷 研二 (Kamiya Kenji)  (60116564)	広島大学・医療政策室・特任教授  (15401)	

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
---------	---------