

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：23701

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20843

研究課題名（和文）がん幹細胞の微小環境シグナル統合因子を標的とした革新的治療法の基盤確立

研究課題名（英文）Targeting the factors integrating microenvironmental signals in cancer stem cells

研究代表者

深澤 和也（Fukasawa, Kazuya）

岐阜薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：70907443

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：近年、グリオブラストーマの発症・進展において、グリオーマ幹細胞の重要性が報告されている。本研究では、「微小環境シグナル統合因子ERK5」を通じた「がん幹細胞制御機構」の解明を目指した。本研究により、MEK5-ERK5-STAT3経路が、グリオーマ幹細胞の機能促進に関与していることが明らかになった。さらに、ERK5阻害剤により、グリオーマ幹細胞の機能が抑制されることが見出された。これらの結果から、MEK5-ERK5-STAT3経路はグリオブラストーマの新たな治療標的となり得ることが示唆される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題の遂行により、ERK5がグリオーマ幹細胞の機能制御メカニズムに深く関連することを見出した。さらに、ERK5阻害剤が、グリオーマ幹細胞の機能を抑制させる働きがあることを実証した。近年、グリオーマだけでなく白血病、乳がんや前立腺がんなどにおいても、その病態とがん幹細胞特性に緊密な関連性があることが報告されている。本研究成果による、「グリオーマ幹細胞の機能調節機構の解明」により、グリオーマを含む難治性がんに対する新規治療標的が明確になるだけでなく、がん幹細胞が関与する様々ながんに対する根本的治療法開発への展開が期待される。

研究成果の概要（英文）：Glioma stem cells (GSC) promote the aggressiveness of glioblastoma (GBM), the most fatal brain tumor. ERK5 is a member of the MAPK family. In this study, we have demonstrated that the MEK5-ERK5-STAT3 pathway plays a critical role in sustaining the stemness and tumorigenicity of GSCs. Silencing ERK5 in GSCs suppressed their ability to self-renew and inhibited the malignant growth of GBM, accompanied by a decrease in STAT3 phosphorylation. Introducing STAT3 counteracted the effects of ERK5 silencing on GSC characteristics. Furthermore, the expression and signaling of ERK5 were associated with poor prognosis in GBM patients with high stem cell properties. Finally, pharmacological inhibition of ERK5 significantly reduced GSC self-renewal and GBM growth. Overall, these findings uncover the crucial involvement of the MEK5-ERK5-STAT3 pathway in sustaining GSC characteristics and promoting the malignant growth of GBM, highlighting it as a potential target for GSC-directed therapy.

研究分野：腫瘍学

キーワード：グリオブラストーマ がん幹細胞 ERK5

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

膠芽腫(Glioblastoma=GBM)は、グリオーマの中で最も悪性度が高く、あらゆるがんにおいて最も予後不良の中枢神経系腫瘍であり、5年生存率は10%以下である。有効な治療薬の欠如により、約半世紀もの間、集学的な治療を以ってしても著明な予後の改善が認められていない。したがって、GBMの根本的な治療法開発は急務であり、希求されているといえる。近年、GBMの発症・進展において、グリオーマ幹細胞(Glioma stem cell=GSC)の幹細胞性維持機構が重要な役割を担うことが報告されている。また、栄養環境シグナル分子(=アミノ酸、グルコース、成長因子)や低酸素環境などの微小環境シグナルが、がん幹細胞の幹細胞性を制御していることが明らかにされている。本研究では「微小環境シグナル統合因子 ERK5」が、がん幹細胞の機能を制御しているのではないかと仮説を立て、研究を開始した。

2. 研究の目的

微小環境シグナル統合因子 ERK5 を分子基軸とした本研究課題を展開することで、①「GSCの新規幹細胞性調節機構の解明」、②「GSCの新規治療標的の同定」を目指した。

3. 研究の方法

公共データベースを利用し、GSCや分化型GBM細胞の遺伝子発現および各種シグナル強度、患者の生存期間について解析した。細胞はヒトGSCであるTGS-01細胞およびTGS-04細胞を用いた。各種遺伝子のノックダウンおよび過剰発現には、shRNAレンチウイルスベクターあるいはレトロウイルスベクターを用いた。また、これらの細胞を用いて、増殖、細胞死、自己複製能、遊走能を評価した。くわえて、RT-PCRおよびウエスタンブロット法により、各種遺伝子発現および細胞内シグナル解析を実施した。また、ERK5阻害剤XMD8-92を用いて、その薬理学的作用を検討した。GBMモデルは、マウス(BALB/cSlc-nu/nu)頭蓋内に、TGS-01細胞を移植することで作製した。その後、生存解析およびヘマトキシリン・エオジン染色による組織学的解析を実施した。

4. 研究成果

公共データベースから入手したGBM患者腫瘍組織から抽出したシングルセルRNA-seqデータを解析することにより、GSCにおいて、ERK5発現レベルおよびERK5シグナル強度が、分化型GBM細胞と比較して、増加していることが明らかになった。さらに、ERK5ノックダウンGSCを用いて、各種解析を実施したところ、ERK5阻害により、GSCの増殖、自己複製能、遊走能が低下することが観察された。また、幹細胞マーカーであるSOX2やc-MYCのmRNAレベルおよびタンパク発現レベルの低下も認められた。さらに、ERK5ノックダウンGSCを移植したマウスでは、腫瘍体積の減少や生存期間の延長が認められた。反対に、ERK5を過剰発現させた場合や、ERK5の上流因子であるMEK5を過剰発現させた場合では、GSCの自己複製能の増加が観察された。

また、ERK5によるGSCの機能制御メカニズムを検討するために、ERK5ノックダウンGSCを

用いて、シグナル解析を実施したところ、STAT3 のリン酸化レベルの減少が認められた。恒常的活性化型 STAT3 を ERK5 ノックダウン GSC に過剰発現させたところ、自己複製能の低下が部分的にレスキューされることが明らかとなった。

本知見の臨床的意義を検討するために、GBM 患者腫瘍組織の ERK5 発現解析および、患者の生存解析を実施した。その結果、ERK5 発現は、正常組織と比較して、腫瘍組織において、有意に上昇することが認められた。さらに、グレードの進行に伴って、ERK5 の発現が増加することも見出された。くわえて、ERK5 高発現群では、ERK5 低発現群と比較して、生存期間が有意に低下することが明らかとなった。

最後に、XMD8-92 を利用することにより、ERK5 を薬理的に抑制したところ、GSC の自己複製能の低下および GBM モデルマウスの生存期間の延長が認められた。本研究結果から、MEK5-ERK5-STAT3 経路は、GSC の幹細胞性を制御することにより、腫瘍形成能を増進させる機能を持つことが示唆された。さらに、ERK5 阻害剤 XMD8-92 の利用により、GBM の病態進行を薬理的に抑制できることを実証した。以上のことから、MEK5-ERK5-STAT3 経路は、GBM の新規治療ターゲットとなることが予想される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hiraiwa Manami, Fukasawa Kazuya, Iezaki Takashi, Sabit Hemragul, Horie Tetsuhiro, Tokumura Kazuya, Iwahashi Sayuki, Murata Misato, Kobayashi Masaki, Suzuki Akane, Park Gyujin, Kaneda Katsuyuki, Todo Tomoki, Hirao Atsushi, Nakada Mitsutoshi, Hinoi Eiichi	4. 巻 5
2. 論文標題 SMURF2 phosphorylation at Thr249 modifies glioma stemness and tumorigenicity by regulating TGF-receptor stability	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	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/s42003-021-02950-0	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 Horie Tetsuhiro, Fukasawa Kazuya, Yamada Takanori, Mizuno Seiya, Iezaki Takashi, Tokumura Kazuya, Iwahashi Sayuki, Sakai Shiho, Suzuki Akane, Kubo Takuya, Osumi Ryoma, Tomizawa Akane, Ochi Hiroki, Sato Shingo, Kaneda Katsuyuki, Takahashi Satoru, Hinoi Eiichi	4. 巻 -
2. 論文標題 Erk5 in Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Regulates Bone Homeostasis by Preventing Osteogenesis in Adulthood	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Stem Cells	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） 10.1093/stmcls/sxac011	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 Fukasawa Kazuya, Lyu Jiajun, Kubo Takuya, Tanaka Yuki, Suzuki Akane, Horie Tetsuhiro, Tomizawa Akane, Osumi Ryoma, Iwahashi Sayuki, Tokumura Kazuya, Murata Misato, Kobayashi Masaki, Todo Tomoki, Hirao Atsushi, Hinoi Eiichi	4. 巻 3
2. 論文標題 MEK5-ERK5 Axis Promotes Self-renewal and Tumorigenicity of Glioma Stem Cells	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancer Research Communications	6. 最初と最後の頁 148 ~ 159
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1158/2767-9764.CRC-22-0243	査読の有無 無
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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木 紅音、深澤 和也、堀江 哲寛、村田 美怜、小林 正輝、檜井 栄一
2. 発表標題 ERK5はSTAT3シグナルを介してグリオーマ幹細胞の幹細胞性および腫瘍形成能を制御する
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木 紅音、深澤 和也、堀江 哲寛、村田 美怜、小林 正輝、檜井 栄一
2. 発表標題 ERK5 regulates stemness and tumorigenicity of glioma stem cells by controlling the STAT3 signaling.
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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