

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293290

研究課題名(和文) 消化器癌幹細胞の特性を制御するmicroRNAの同定と治療への応用

研究課題名(英文) The identification of novel microRNAs regulating cancer stem cell properties and the clinical application to therapeutic strategy in gastrointestinal cancer

研究代表者

馬場 秀夫 (BABA, Hideo)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・教授

研究者番号：20240905

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,300,000円

研究成果の概要(和文)：近年、抗がん剤抵抗性や再発に深く関わる癌幹細胞を標的にした治療法の確立が重要な目標として掲げられている。本研究では、癌幹細胞の特徴である治療抵抗性や高い浸潤能に注目し、microRNAによって制御される分子メカニズムの検討をおこなった。今回同定されたmicroRNAや明らかになった分子機構は、消化器癌治療における新たな分子標的薬創出のシーズとなり得る。

研究成果の概要(英文)：Increasing evidence has shown that tumor heterogeneity is a result of the hierarchical organization of cancer stem cells (CSCs), which are strongly associated with tumor relapse and metastasis. Our recent studies have revealed that particular microRNAs are deeply implicated in CSC properties in various types of gastrointestinal cancer. Moreover, we demonstrated that tumor-associated-macrophages and cancer-associated-fibroblasts in tumor microenvironment affect the expression of these microRNAs and promote cancer progression.

研究分野：外科学、腫瘍生物学

キーワード：癌幹細胞 microRNA 腫瘍微小環境

1. 研究開始当初の背景

癌は多様性のある不均一な細胞集団であり、階層性の頂点に位置する癌幹細胞は抗癌剤・放射線治療に対する抵抗性や再発に深く関わることが広く知られていた。しかしながら、癌幹細胞の特性を制御する機構はほとんど不明であった。一方で Non-coding RNA である microRNA は様々な生命現象(発生、分化、増殖など)を制御するが、癌幹細胞との関連性は明らかになっていなかった。

2. 研究の目的

消化器癌組織において癌幹細胞制御に関わる microRNA を同定し、癌幹細胞と腫瘍微小環境とのクロストークにおける役割を明らかにすることで、新たな治療標的を創出、癌幹細胞治療の礎を築くことを目的とした。

3. 研究の方法

I, 消化器癌細胞株を用いた miRNA PCR Array 解析をおこない、癌幹細胞特性に関わる CD44, Bmi-1 の発現を制御する microRNA を同定し機能解析をおこなった。

II, Harvard 大学との国際共同研究により、癌幹細胞の増加と深く関わるプロスタグランジン E2 と関連性のある microRNA の検索を多数例コホートの大腸癌切除検体を用いておこなった。

III, 新たに樹立した大腸癌幹細胞株 (PLR123) を用いて、抗がん剤抵抗性の分子メカニズムを明らかにするために候補遺伝子の機能解析をおこなった。

IV, 胃癌の癌幹細胞ニッチの候補細胞として Cancer associated fibroblasts (CAFs) に注目し、網羅的ゲノム解析をおこなった。

4. 研究成果

I, 網羅的な microRNA 解析の結果、CD44 発現を制御する miR-328、Bmi1 発現を制御する miR-30e* を同定し、腫瘍間質中の活性化マクロファージがこれらの microRNA 発現を低下させることで、CD44 並びに Bmi-1 発現上昇を引き起こされることを示した。

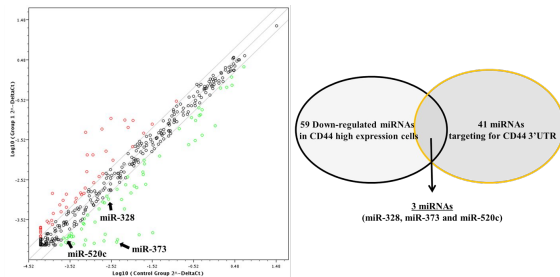


図1: miRNA PCR Array による CD44 発現を制御する microRNA の同定

II, 大腸癌進展の過程において miR-21 がプロスタグランジン E2 合成酵素の発現と局所の炎症を制御していること。ならびに miR-21 高発現大腸癌症例は腫瘍免疫寛容を介して予後不良となることを明らかにした。

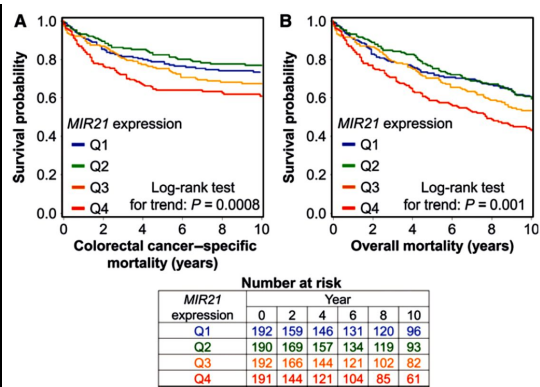


図2: 大腸癌における MIR21 発現と予後

III, 高い腫瘍形成能と自己複製能を有している癌幹細胞株が、細胞周期を制御し抗癌剤抵抗性を示すメカニズムとしてユビキチンリガーゼ FBXW7 を介した c-Myc 分解機構が存在する事を明らかにした。

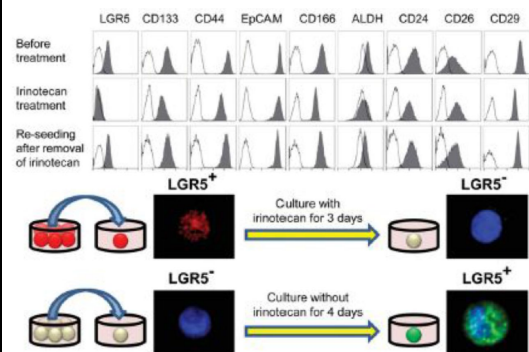


図3: 大腸癌幹細胞における癌幹細胞マーカーの発現変化

IV, 間質における TGF- signaling は rhomboid family member の一つである RHBDF2 により調節されていることを明らかにした。胃癌組織の間質中 CAFs に依存する新しい胃癌浸潤メカニズムを見出した。

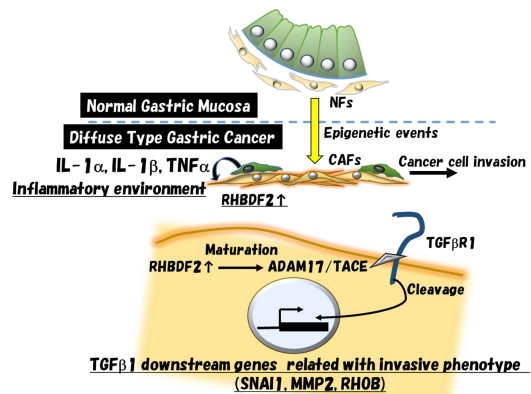


図4: CAFs に依存する胃癌浸潤メカニズム

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 15 件)

1. Ishimoto T, Miyake K, Nandi T, Yashiro M, Onishi N, Huang KK, Joyce LN, Kalpana R, Tay ST, Suzuki Y, Cho BC, Kuroda D, Arima K, Izumi D, Iwatsuki M, Baba Y, Oki E, Watanabe M, Saya H, Hirakawa K, Baba H, Tan P. Activation of Transforming Growth Factor Beta 1 Signaling in Gastric Cancer-associated Fibroblasts Increases Their Motility, via Expression of Rhomboid 5 Homolog 2, and Ability to Induce Invasiveness of Gastric Cancer Cells. *Gastroenterology* 2017 Apr 5. pii: S0016-5085(17)35398-2. DOI: 10.1053/j.gastro.2017.03.046. [Epub ahead of print] 査読有り、オープンアクセス無し、謝辞無し
2. Mima K, Nishihara R, Yang J, Dou R, Masugi Y, Shi Y, da Silva A, Cao Y, Song M, Nowak J, Gu M, Li W, Morikawa T, Zhang X, Wu K, Baba H, Giovannucci EL, Meyerhardt JA, Chan AT, Fuchs CS, Qian ZR, Ogino S. MicroRNA MIR21 (miR-21) and PTGS2 Expression in Colorectal Cancer and Patient Survival. *Clin Cancer Res*. 2016 Aug 1;22(15):3841-8. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2173. 査読有り、オープンアクセス無し、謝辞無し
3. Mima K, Nishihara R, Nowak JA, Kim SA, Song M, Inamura K, Sukawa Y, Masuda A, Yang J, Dou R, Noshio K, Baba H, Giovannucci EL, Bowden M, Loda M, Giannakis M, Bass AJ, Dranoff G, Freeman GJ, Chan AT, Fuchs CS, Qian ZR, Ogino S. MicroRNA MIR21 and T Cells in Colorectal Cancer. *Cancer Immunol Res*. 2016 Jan;4(1):33-40. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0084. 査読有り、オープンアクセス無し、謝辞無し
4. Ishimoto T, Baba H, Izumi D, Sugihara H, Kurashige J, Iwatsuki M, Tan P. Current perspectives towards the identification of key players in gastric cancer microRNA dysregulation. *Int J Cancer*. 2016 15;138(6):1337-49. DOI: 10.1002/ijc.29627. 査読有り、オープンアクセス無し、謝辞無し
5. Harada K, Baba Y, Ishimoto T, Shigaki H, Kosumi K, Yoshida N, Watanabe M, Baba H. The role of microRNA in esophageal squamous cell carcinoma. *J Gastroenterol*. 2016 51(6):520-30. DOI: 10.1007/s00535-016-1161-9. 査読有り、オープンアクセス無し、謝辞無し
6. Tokunaga R, Imamura Y, Nakamura K, Ishimoto T, Nakagawa S, Miyake K, Nakaji Y, Tsuda Y, Iwatsuki M, Baba Y, Sakamoto Y, Miyamoto Y, Saeki H, Yoshida N, Oki E, Watanabe M, Oda Y, Bass AJ, Maehara Y, Baba H: Fibroblast growth factor receptor 2 expression, but not its genetic amplification, is associated with tumor growth and worse survival in esophagogastric junction adenocarcinoma. *Oncotarget* 7(15):19748-61, 2016. DOI: 10.18632/oncotarget.7782. 査読有り、オープンアクセス有り、謝辞無し
7. Sugihara H, Ishimoto T, Miyake K, Izumi D, Baba Y, Yoshida N, Watanabe M, Baba H. Noncoding RNA Expression Aberration Is Associated with Cancer Progression and Is a Potential Biomarker in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2015 Nov 24;16(11):27824-34. DOI: 10.3390/ijms161126060. 査読有り、オープンアクセス有り、謝辞無し
8. Hayashi H, Higashi T, Yokoyama N, Kaida T, Sakamoto K, Fukushima Y, Ishimoto T, Kuroki H, Nitta H, Hashimoto D, Chikamoto A, Oki E, Beppu T, Baba H: An imbalance in TAZ and YAP expression in hepatocellular carcinoma confers cancer stem cell-like behaviors contributing to disease progression. *Cancer Res* 75(22):4985-97, 2015 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-0291. 査読有り、オープンアクセス無し、謝辞無し
9. Higashi T, Hayashi H, Ishimoto T, Takeyama H, Kaida T, Arima K, Taki K, Sakamoto K, Kuroki H, Okabe H, Nitta H, Hashimoto D, Chikamoto A, Beppu T, Baba H: miR-9-3p plays a tumour-suppressor role by targeting TAZ (WWTR1) in hepatocellular carcinoma cells. *Br J Cancer* 113(2):252-8, 2015 DOI: 10.1038/bjc.2015.170. 査読有り、オープンアクセス無し、謝辞無し

10. Igarashi H, Kurihara H, Mitsuhashi K, Ito M, Okuda H, Kanno S, Naito T, Yoshii S, Takahashi H, Kusumi T, Hasegawa T, Sukawa Y, Adachi Y, Okita K, Hirata K, Imamura Y, Baba Y, Imai K, Suzuki H, Yamamoto H, Noshio K, Shinomura Y: Association of microRNA-31-5p with clinical efficacy of anti-EGFR therapy in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 22(8):2640-8, 2015
DOI: 10.1245/s10434-014-4264-7.
査読有り、オープンアクセス無し、謝辞無し
11. Sugihara H, Ishimoto T, Miyake K, Izumi D, Baba Y, Yoshida N, Watanabe M, Baba H: Noncoding RNA Expression Aberration Is Associated with Cancer Progression and Is a Potential Biomarker in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Int J Mol Sci* 16(11):27824-34, 2015
DOI: 10.3390/ijms161126060.
査読有り、オープンアクセス無し、謝辞無し
12. Toyoshima K, Hayashi A, Kashiwagi M, Hayashi N, Iwatsuki M, Ishimoto T, Baba Y, Baba H, Ohta Y: Analysis of circulating tumor cells derived from advanced gastric cancer. *Int J Cancer* 137(4):991-8, 2015
DOI: 10.1002/ijc.29455.
査読有り、オープンアクセス無し、謝辞無し
13. Ishimoto T, Sugihara H, Watanabe M, Sawayama H, Iwatsuki M, Baba Y, Okabe H, Hidaka K, Yokoyama N, Miyake K, Yoshikawa M, Nagano O, Komohara Y, Takeya M, Saya H, Baba H: Macrophage-derived reactive oxygen species suppress miR-328 targeting CD44 in cancer cells and promote redox adaptation. *Carcinogenesis* 35(5):1003-11, 2014.
DOI: 10.1093/carcin/bgt402.
査読有り、オープンアクセス無し、謝辞無し
14. Ishimoto T, Izumi D, Watanabe M, Yoshida N, Hidaka K, Miyake K, Sugihara H, Sawayama H, Imamura Y, Iwatsuki M, Iwagami S, Baba Y, Horlaid H, Komohara Y, Takeya M, Baba H: Chronic inflammation with *Helicobacter pylori* infection is implicated in CD44 overexpression through miR-328 suppression in the gastric mucosa. *J Gastroenterol* 2015 Jul; 50 (7):751-7.
DOI: 10.1007/s00535-014-1019-y.
査読有り、オープンアクセス無し、謝辞無し
15. Eto K, Iwatsuki M, Watanabe M, Ishimoto T, Ida S, Imamura Y, Iwagami S, Baba Y, Sakamoto Y, Miyamoto Y, Yoshida N, Baba H: The sensitivity of gastric cancer to trastuzumab is regulated by the miR-223/FBXW7 pathway. *Int J Cancer* 136(7):1537-45, 2015.
DOI: 10.1002/ijc.29168.
査読有り、オープンアクセス無し、謝辞無し
- 〔学会発表〕(計 10 件)
1. Arima K, Ishimoto T, Ohmuraya M, Miyake K, Eto T, Okabe H, Kitano Y, Yamamura K, Kaida T, Imai K, Hashimoto D, Chikamoto A, Baba H “Prostaglandin E2 accumulation enhances the expansion of ALDH1-positive cells and Kras-driven tumorigenesis in the pancreas.”
AACR Annual Meeting 2017 2017年4月3日 Walter E. Washington Convention Center (アメリカ)
2. Ishimoto T, Miyake K, Yashiro M, Eto T, Izumi D, Arima K, Baba Y, Watanabe M, Hirakawa K, Baba H “RHBDF2 in stromal fibroblasts mediates TGF-signaling and enhances gastric cancer cell invasion via intercellular crosstalk.”
AACR Annual Meeting 2017 2017年4月4日 Walter E. Washington Convention Center (アメリカ)
3. 石本崇胤、三宅慧輔、八代正和、江藤二男、有馬浩太、泉大輔、岩槻政晃、馬場祥史、渡邊雅之、平川弘聖、Patrick Tan、馬場秀夫 「腫瘍間質ゲノム解析に基づいた胃癌浸潤を制御する新規分子機構の解明」
第89回日本胃癌学会総会 2017年3月9日 広島国際会議場(広島県)
4. Ishimoto T, Miyake K, Nandi T, Yashiro M, Huang K, Arima K, Izumi D, Baba Y, Baba H, Tan P “Identification of the novel molecules mediating gastric cancer invasion based on genomic analysis of cancer-associated fibroblasts.”
ESMO-ASIA 2016 2016年12月17日 Suntec Singapore Convention

Exhibition Centre (シンガポール)

5. Arima K, Ishimoto T, Ohmuraya M, Okabe H, Kitano Y, Yamamura K, Kaida T, Nakagawa S, Imai K, Hashimoto D, Chikamoto A, Yamashita Y, Baba H “Verification of mechanism that CSC markers are implicated in poor prognosis for pancreatic ductal adenocarcinoma.”
ESMO-ASIA 2016 2016年12月17日
Suntec Singapore Convention Exhibition Centre (シンガポール)
6. 石本崇胤、三宅慧輔、八代正和、有馬浩太、泉大輔、澤山浩、岩槻政晃、馬場祥史、坂本快郎、吉田直矢、平川弘聖、馬場秀夫、Patrick Tan「Cancer Associated Fibroblasts (CAFs)ゲノム解析に基づいた胃癌浸潤を制御する新規遺伝子の同定」
第75回日本癌学会学術総会 2016年10月7日 パシフィコ横浜(神奈川県)
7. 有馬浩太、石本崇胤、大村谷昌樹、三宅慧輔、江藤二男、甲斐田剛圭、東孝暁、岡部弘尚、新田英利、橋本大輔、近本亮、山下洋市、馬場秀夫「がん幹細胞マーカーが膀胱癌進展を引き起こすメカニズムの解明」
第75回日本癌学会学術総会 2016年10月6日 パシフィコ横浜(神奈川県)
8. 岩槻政晃、藏重淳二、江藤弘二郎、糸山明莉、黒田大介、江藤二男、小澄敬祐、馬場祥史、坂本快郎、吉田直矢、馬場秀夫、「胃癌におけるトラスツズマブ二次耐性に関するmicroRNAの同定」
第26回日本消化器癌発生学会、2015年11月20日、米子全日空ホテル(鳥取県)
9. 藏重淳二、美馬浩介、岩上志朗、江藤弘二郎、杉原栄孝、泉大輔、小澄敬祐、徳永竜馬、日吉幸晴、宮本裕士、坂本快郎、馬場祥史、吉田直矢、杉町圭史、三森功士、馬場秀夫、「microRNAを標的とした胃癌腹膜播治療標的の探索」
第115回日本外科学会定期学術集会
2015年4月17日 名古屋国際会議場(愛知県)
10. Kazuto Harada, Yoshifumi Baba, Keisuke Kosumi, Ryuma Tokunaga, Daisuke Izumi, Mayuko Ouchi, Kennichi Nakamura, Yuki Kiyozumi, Junji Kurashige, Yukiharu Hiyoshi, Shiro Iwagami, Yuji Miyamoto, Yasuo Sakamoto, Naoya Yoshida, Masayuki Watanabe, Hideo Baba. “Suppressor microRNA-145 is epigenetically regulated by promoter

hypermethylation in esophageal squamous cell carcinoma”

AACR Annual Meeting 2015 2015年
4月21日 Philadelphia (アメリカ)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

馬場 秀夫 (BABA, Hideo)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・教授
研究者番号: 20240905

(2)研究分担者

石本 崇胤 (ISHIMOTO, Takatsugu)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・特任
講師

研究者番号: 00594889

馬場 祥史 (BABA, Yoshifumi)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・講師
研究者番号: 20599708

岩槻 政晃 (IWATSUKI, Masaaki)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・助教
研究者番号: 50452777

今村 裕 (IMAMURA, Yu)

公益財団法人がん研究会・その他部局・医員
研究者番号: 70583045

渡邊 雅之 (WATANABE, Masayuki)

公益財団法人がん研究会・その他部局・部長
研究者番号: 80254639

(3)連携研究者

無し

(4)研究協力者

無し