

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：81303

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07132

研究課題名（和文）新規がん幹細胞関連遺伝子BEX2による静止期がん幹細胞の制御

研究課題名（英文）Identification of a dormant cancer stem cell-related gene

研究代表者

玉井 恵一（Tamai, Keiichi）

地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城県立がんセンター（研究所）・がん幹細胞研究部・部長

研究者番号：40509262

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,800,000円

研究成果の概要（和文）：私たちは胆管がんにおける癌幹細胞の維持機構を明らかにすることを目指した。研究の結果、癌幹細胞に重要な分子をいくつか同定することに成功した。これらの分子は、癌幹細胞の静止期維持に重要であることが示され、治療抵抗性に関わると考えられた。この分子を標的とすることで、癌幹細胞を治療感受性に変容させることが可能になることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は胆管癌の新たな治療標的を見いだした点で社会的意義が高い。

研究成果の概要（英文）：We tried to identify the molecular mechanisms of cancer stem cells in cholangiocarcinoma. We identified several molecules which required for the maintenance of cancer stem cells. Our data demonstrated the possible therapeutic approach which transform the cancer stem cells into the non-cancer stem cells.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：癌幹細胞

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、がん組織の中に「がん幹細胞」の存在が報告されている。がん幹細胞は静止期に存在するため、抗癌剤や放射線照射に対して強い耐性を持ち、治療抵抗性の主因を担っている。

これまで申請者は、胆道癌における新規がん幹細胞関連遺伝子のスクリーニングを行ってきた。その結果、CD274 低発現細胞は静止期に局在し、CD274 (PD-L1) ががん幹細胞に対して抑制的に働くことを見いだした。(Tamai, et al. Cancer Science, 2014) 更に、胆道癌症例の解析では、(これまで報告のある膵癌や肺癌での結果とは逆に) CD274 低発現症例は予後不良であることも明らかにした。従って、CD274 は胆道癌においては有効な治療ターゲットとはならないことが考えられた。そこで、申請者は CD274 低発現分画で高発現している機能性分子を探索することで、新たな治療ターゲットを見いだそうとした。マイクロアレイを用いたスクリーニングの結果、A 遺伝子の発現が CD274 低分画で高発現しており、ノックダウンすると造腫瘍能が著しく低下した。

A は、もともと胎児脳の cDNA ライブラリーからクローニングされた遺伝子であるが、機能解析はほとんどなされていない。最近、A ノックアウトマウスが作成され、肝や胃上皮における正常幹細胞マーカーとなり得ると報告されたが、その詳細な機能解析はなされていない。

興味深いことに、静止期において、CD274 は低発現であり、同時に A は高発現であった。A をノックダウンすると、静止期の細胞が著明に減少した。

これらの結果からは、A によって静止期の細胞分画が減少し、抗癌剤耐性を失うことが予想されたが、実際に、A をノックダウンすると gemcitabine に対する感受性は上昇した。

申請者は、この A の機能を明らかにするために、プロテオーム解析を行い、A と会合するタンパクの同定を試みた。その結果、意外なことに、ミトコンドリア関連タンパクが複数結合することが判明した。A がミトコンドリアに影響する可能性を明らかにするために、Flux Analyzer をもちいて酸素消費速度 (OCR)・酸性化速度 (ECAR) を測定したところ、A をノックダウンすることで高エネルギー状態に移ることが判明した。

以上のことから、A はミトコンドリア機能を抑制することで、代謝を低エネルギー状態へと導き、静止期がん幹細胞の形質を誘導することが考えられた。

A はこれまで、乳癌やグリオーマにおいて、増殖能や浸潤能への関与を示唆する報告がみられる。これらの表現型も、ミトコンドリアの代謝活性で説明可能と考えられる。また、先に述べた CD274 と A の排他的な発現は、18 種類のがん細胞株で確認したところ、全ての細胞株でその傾向が確認できた。従って、A は胆道癌以外の癌種においても重要な役割を担う可能性が極めて高い。

2. 研究の目的

本課題では、私たちが新たに見いだした癌幹細胞関連遺伝子の機能評価を目的とする。

3. 研究の方法

細胞は、胆管癌細胞株 HuCCT1 を用いた。

4. 研究成果

・胆管癌における A の機能解析

胆管癌において A をロックダウンすると、静止期集団の減少・抗癌剤感受性の上昇・造腫瘍能の低下がみられるが、この分子機序を明らかにすることを試みた。

1. 定常状態において、A は細胞周期の G₀ 期に高発現することを見いだした。また、血清飢餓状態によって G₀ 期を誘導すると、A 発現も誘導されることが判明した。

2. A はタンパク X と会合することが判明した。A・X いずれをロックダウンしてもミトコンドリア酸素消費量 OCR は上昇し、造腫瘍能は低下した。このことから、A と X は協調してミトコンドリア機能を阻害し、細胞を低エネルギー状態に誘導して、細胞周期を静止期に誘導している可能性が示唆された。

3. A は E3 複合体である Y-Z と会合することが判明した。実際、A はユビキチン化され、プロテアソーム阻害剤 MG132 によって分解が抑制され、Y-Z によって分解を受けることを明らかにした。このことから、A による静止期がん幹細胞の表現型は、Y-Z による分解によって制御されている可能性が示唆された。

4. A の転写制御を調べたところ、A 上流の部分が転写活性に必要であり、同部位には転写因子 W が結合することが予測され、実際 W によって A promoter 活性は上昇した。A の転写制御の一端を明らかにした。

5. 組織免疫染色をおこない、ヒト胆管癌 xenograft において、A と Ki67 の発現が排他的であることが分かった。実際のヒト検体で、A 陽性細胞が非増殖細胞であることを明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7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 Shiroki Takeharu, Yokoyama Misa, Tanuma Nobuhiro, Maejima Ryuhei, Tamai Keiichi, Yamaguchi Kazunori, Oikawa Tomoyuki, Noguchi Tetsuya, Miura Koh, Fujiya Tsuneaki, Shima Hiroshi, Sato Ikuro, Murata-Kamiya Naoko, Hatakeyama Masanori, Iijima Katsunori, Shimosegawa Tooru, Satoh Kennichi	4. 巻 108
2. 論文標題 Enhanced expression of the M2 isoform of pyruvate kinase is involved in gastric cancer development by regulating cancer-specific metabolism	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 931 ~ 940
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13211	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 Nasu Kentaro, Yamaguchi Kazunori, Takanashi Tomoka, Tamai Keiichi, Sato Ikuro, Ine Shoji, Sasaki Osamu, Satoh Kennichi, Tanaka Nobuyuki, Tanaka Yuetsu, Fukushima Takuya, Harigae Hideo, Sugamura Kazuo	4. 巻 108
2. 論文標題 Crucial role of carbonic anhydrase IX in tumorigenicity of xenotransplanted adult T-cell leukemia-derived cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 435 ~ 443
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13163	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 Katayama Hiromichi, Tamai Keiichi, Shibuya Rie, Nakamura Mao, Mochizuki Mai, Yamaguchi Kazunori, Kawamura Sadafumi, Tochigi Tatsuo, Sato Ikuro, Okanishi Takamasa, Sakurai Kunie, Fujibuchi Wataru, Arai Yoichi, Satoh Kennichi	4. 巻 7
2. 論文標題 Long non-coding RNA HOTAIR promotes cell migration by upregulating insulin growth factor binding protein 2 in renal cell carcinoma	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12016
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-12191-z	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 Fujisaka Yasuyuki, Iwata Tomoaki, Tamai Keiichi, Nakamura Mao, Mochizuki Mai, Shibuya Rie, Yamaguchi Kazunori, Shimosegawa Tooru, Satoh Kennichi	4. 巻 15
2. 論文標題 Long non-coding RNA HOTAIR up-regulates chemokine (C2C motif) ligand 2 and promotes proliferation of macrophages and myeloid-derived suppressor cells in hepatocellular carcinoma cell lines	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 509-514
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2017.7322	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 Okazaki Toshimasa, Tamai Keiichi, Shibuya Rie, Nakamura Mao, Mochizuki Mai, Yamaguchi Kazunori, Abe Jiro, Takahashi Satomi, Sato Ikuro, Kudo Akira, Okada Yoshinori, Satoh Kennichi	4. 巻 9
2. 論文標題 Periostin is a negative prognostic factor and promotes cancer cell proliferation in non-small cell lung cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 31187 ~ 31199
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.25435	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 Shimoyama Yusuke, Tamai Keiichi, Shibuya Rie, Nakamura Mao, Mochizuki Mai, Yamaguchi Kazunori, Kakuta Yoichi, Kinouchi Yoshitaka, Sato Ikuro, Kudo Akira, Shimosegawa Tooru, Satoh Kennichi	4. 巻 9
2. 論文標題 Periostin attenuates tumor growth by inducing apoptosis in colitis-related colorectal cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 20008 ~ 20017
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.25026	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 Yokoyama Misa, Tanuma Nobuhiro, Shibuya Rie, Shiroki Takeharu, Abue Makoto, Yamamoto Kuniharu, Miura Koh, Yamaguchi Kazunori, Sato Ikuro, Tamai Keiichi, Satoh Kennichi	4. 巻 52
2. 論文標題 Pyruvate kinase type M2 contributes to the development of pancreatic ductal adenocarcinoma by regulating the production of metabolites and reactive oxygen species	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 881-891
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2018.4258	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0件

〔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	三浦 康 (Miura Koh) (40282074)	地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城県立がんセンター (研究所)・がん薬物療法研究部・特任研究員 (81303)	