

平成30年6月15日現在

機関番号：82606

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15436

研究課題名(和文)大腸がん幹細胞性制御カリウムチャネルの同定

研究課題名(英文)Identification of functional potassium channels in colon cancer stem cells

研究代表者

大畑 広和 (Ohata, Hirokazu)

国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・研究員

研究者番号：40570057

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：がんの発生や再発の根源である「がん幹細胞」において機能的に必須な新規分子を同定する事は極めて重要である。そこで本研究は、大腸がん幹細胞に特異的に発現するカリウムチャネルを同定し、新たな抗がん剤としての治療標的を探索することを目的とした。アメリカ食品医薬品局で癌以外の治療薬として承認されているカリウムチャネルブロッカーのうち、数種類の化合物が大腸がん幹細胞の増殖を顕著に抑制することが明らかとなった。マウス移植腫瘍を用いた今後の検討により、抗腫瘍効果を示したカリウムチャネルブロッカーは速やかに抗がん剤としての適用拡大が可能であり、臨床現場での貢献が大いに期待できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：It has been proposed that cancer stem cells (CSCs) are responsible for tumor development and recurrence via the self-renewal and differentiation capacity. Elucidating the essential pathways for the maintenance and proliferation of CSCs is crucial to devise an innovative anti-cancer therapy. Here, we investigated CSC spheroids derived from surgical specimen of colon cancer to identify CSC-specific potassium channels. Among the U.S. Food and Drug Administration (FDA) approved potassium channel blockers as therapeutic agents against arrhythmia but not cancer, several drugs markedly inhibited the proliferation of colon CSC spheroids. Therefore, these potassium channel blockers can expand its application range and might easily be used as anti-cancer drugs.

研究分野：分子腫瘍学

キーワード：がん幹細胞 カリウムチャネル

1. 研究開始当初の背景

大腸がんなど種々の難治固形がん組織は、造腫瘍性や治療抵抗性の根源である「がん幹細胞」を含む不均一で多様性のある組織である。がん幹細胞は治療抵抗性が高く、自己複製能や多分化能を有する事により、がんの発生や再発に深く関与していると考えられていた。それ故、難治がんの治療抵抗性を克服する方法として、がん幹細胞を標的とした治療法の開発が強く望まれており、幹細胞性の維持に必須な新規分子を発見する事は極めて重要であると考えられた。カリウムチャンネルは神経細胞や心筋細胞等、種々の細胞の細胞膜に存在し、活動電位を調節する普遍的なイオンチャンネルであるが、がん幹細胞における発現、及び機能的な役割に関しては報告がなかった。

また、本研究課題の申請時において、下記のような学術的背景が存在した。

(1) 文部科学省がん特定領域研究が支援する化合物ライブラリー (SCADS) に含まれるカリウムチャンネル阻害剤が大腸がん幹細胞の増殖を顕著に抑制した。

(2) マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析により、分化がん細胞分画に比してがん幹細胞分画において発現上昇するカリウムチャンネルが存在した。

(3) 細胞膜の脱分極がリン脂質の動態を変化させ、K-Ras シグナルを活性化する事が2015年に報告された (Zhou et al., Science 2015)

以上の事より、「大腸がん幹細胞において、がん幹細胞性の維持に必須であるカリウムチャンネルが存在する」という仮説を立てた。

<引用文献>

Zhou Y, Wong CO, Cho KJ, van der Hoeven D, Liang H, Thakur DP, Luo J, Babic M, Zinsmaier KE, Zhu MX, Hu H, Venkatachalam K, Hancock JF

Membrane potential modulated plasma membrane phospholipid dynamics and K-Ras signaling.

Science, vol.349, 2015, pp.873-876

2. 研究の目的

本研究課題の目的は、大腸がん幹細胞に特異

的に発現するカリウムチャンネルを同定し、幹細胞性制御に機能的に必須である事を明らかにする事である。すなわち、がん幹細胞特異的に発現するカリウムチャンネルを同定し、幹細胞性の維持に必須である事を明らかにできれば、がん幹細胞を撲滅するための革新的な治療法の分子標的と成り得ると考えられた。

また、カリウムチャンネルは細胞膜に局在しているため、低分子化合物や抗体医薬のターゲットとして極めて有用であり、製薬会社等との共同研究に発展する事も期待できる。更に、カリウムチャンネル阻害剤は脳疾患や心疾患等のがん以外の病気の治療薬として既に承認されている。従って、既存のカリウムチャンネル阻害剤が本研究で同定したカリウムチャンネルにも有効である事を証明できれば、がんの治療薬として適用を拡大する事が可能である。以上の事より、本研究はがん幹細胞特異的に発現するカリウムチャンネルを標的とした世界で初めてのがん治療薬の開発へと発展する事が期待できる。

3. 研究の方法

(1) 大腸がん幹細胞特異的に発現するカリウムチャンネルを同定するため、DNA マイクロアレイを用いた網羅的な遺伝子発現解析により、大腸がん幹細胞におけるカリウムチャンネルの発現の有無を確認した。

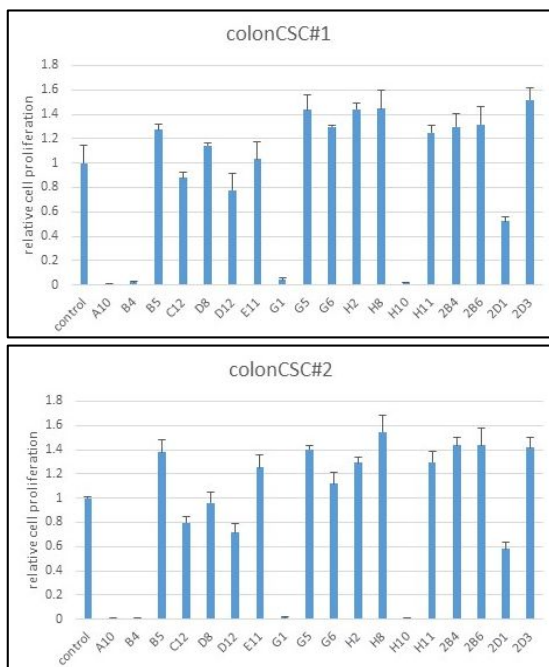
(2) 大腸がん幹細胞において発現している事が確認されたカリウムチャンネルと大腸がん幹細胞、及び分化細胞に特徴的な遺伝子に関して、シングルセル遺伝子発現解析用のプライマーを設計し、バリデーションを行った。

(3) 大腸がん幹細胞由来マウス皮下腫瘍よりフローサイトメトリーを用いて単一腫瘍細胞を単離した。次に、がん幹細胞、及び分化細胞に特徴的な遺伝子とカリウムチャンネル遺伝子の定量 PCR を、シングルセルレベルで検討しているところである。

(4) アメリカ食品医薬品局 (FDA) で既に癌以外の疾患の治療薬として承認されている入手可能なカリウムチャンネルブロッカーによる大腸がん幹細胞の増殖に対する効果を検討した。

4. 研究成果

入手可能なカリウムチャンネルブロッカーの大腸がん幹細胞 (colonCSC#1, colonCSC#2) の増殖に対する効果を検討した。その結果、



18 種類のカリウムチャンネルブロッカーのうち、4 種類の化合物が大腸がん幹細胞の増殖を顕著に抑制することが明らかとなった。今後は、大腸がん幹細胞由来マウス皮下腫瘍を用いて、4 種類のカリウムチャンネルブロッカーによる抗腫瘍効果を検討する予定である。

今回使用したカリウムチャンネルブロッカーはアメリカ食品医薬品局 (FDA) で既に癌以外の疾患の治療薬として承認されている医薬品であるため、ヒトに対する安全性は保証されている。その為、マウス皮下腫瘍に対する抗腫瘍効果が認められたカリウムチャンネルブロッカーは速やかに抗がん剤として適用を拡大することが可能であり、新規の抗がん剤として臨床現場での貢献が大いに期待できると考えられる。

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 2 件)

Ishiguro Tatsuya, Ohata Hirokazu, Sato Ai, Yamawaki Kaoru, Enomoto Takayuki, Okamoto Koji

Tumor-derived spheroids: Relevance to cancer stem cells and clinical applications.

Cancer Science, 査読有, vol.108, 2017, pp.283-289
DOI: 10.1111/cas.13155

Shiokawa Daisuke, Sato Ai, Ohata Hirokazu, Mutoh Michihiro, Sekine Shigeki, Kato Mamoru, Shibata Tatsuhiro, Nakagama Hitoshi, Okamoto Koji
The induction of selected Wnt target genes by Tcf1 mediates generation of tumorigenic colon stem cells.

Cell Reports, 査読有, vol.19, 2017, pp.981-994
DOI: 10.1016/j.celrep.2017.04.017

[学会発表](計 0 件)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等
特になし

6. 研究組織

(1)研究代表者
大畑 広和 (OHATA, Hirokazu)
国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・研究員
研究者番号: 40570057

(2)研究分担者
無し

(3)連携研究者
無し

(4)研究協力者
無し