

令和 2 年 5 月 27 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16555

研究課題名(和文) RNA結合蛋白QKI5による大腸癌幹細胞の新規エピジェネティック制御機構の解明

研究課題名(英文) The regulation of colon cancer stem cell by QKI5

研究代表者

向山 順子 (MUKOHYAMA, JUNKO)

神戸大学・医学研究科・医学研究員

研究者番号：70734987

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：大腸癌手術検体を解析し、大腸癌幹細胞ではmiR-221の発現が選択的に上昇していることを明らかにした。miR-221の発現が高い大腸癌患者は予後が不良な傾向にあった。miR-221の過剰発現は大腸癌異種移植マウスのオルガノイド形成能を増強した。miR-221の標的遺伝子としてRNA結合蛋白QKI5を同定した。QKIの過剰発現は大腸癌異種移植マウスのオルガノイド形成能を抑制した。本研究によりmiR-221/QKI5経路による大腸癌幹細胞の新規制御機構が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、大腸癌組織中の大腸癌幹細胞のマイクロRNAプロファイルを世界に先駆け明らかにした。また、大腸癌幹細胞でマイクロRNA-221の発現が選択的に上昇していることを発見し、マイクロRNA-221が大腸癌の幹細胞性を制御する機能をもつことを解明した。さらに、マイクロRNA-221の標的遺伝子としてRNA結合蛋白QKI-5を同定した。本研究の成果は、マイクロRNA-221の抑制による癌幹細胞を標的とした治療薬の開発への応用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we identified miR-221 was highly expressed in cancer stem cell population in colon cancer tissue. High levels of miR-221 expression reduced survival in CRC patients. miR-221 enhanced organoid-forming capacity of both conventional CRC cell lines and patient-derived xenografts (PDXs) in vitro. Importantly, constitutive downregulation of miR-221 suppressed organoid-forming capacity in vitro and substantially reduced the tumorigenic capacity of CSC populations from PDX lines in vivo. Finally, QKI-5, was identified as a functional targets of miR-221. As expected, overexpression of QKI-5 suppressed organoid-forming capacity in vitro and tumorigenic capacity of CRC PDX cells in vivo. Our study reveals a mechanistic link between miR-221 and QKI, and highlights their key role in regulating CSC properties in human colorectal cancer.

研究分野：消化器癌

キーワード：大腸癌 マイクロRNA miR-221 RNA結合蛋白 QKI 癌幹細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大腸癌による死亡数は増加の一途にあり、死因の大半である転移や再発の克服が大腸癌の予後改善のための重要課題である。大腸癌幹細胞は少数の細胞集団であるが、治療抵抗性が高く転移や再発に深くかかわる。また、近年、癌幹細胞の中でも抗癌剤や放射線治療に対する抵抗性が高いサブグループが存在することが明らかになりつつあり、多様性を生み出す分子機構として癌幹細胞のエピジェネティック制御機構に注目が集まっている。

2. 研究の目的

私たちは、癌幹細胞を制御する機構の一つとして、マイクロ RNA に着目した研究を行ってきた。マイクロ RNA は、標的遺伝子の特異配列に結合して蛋白質への翻訳過程を阻害することで、癌幹細胞の機能制御において重要な役割を果たす。

私たちはこれまでに、ヒト癌細胞株の解析では生体内と異なるエピジェネティック修飾が加わることに着目し、培養や薬品による修飾の少ない手術検体由来の大腸癌幹細胞を直接的に解析することで、大腸癌幹細胞で極めて選択的に癌遺伝子 miR-221 の発現が上昇していること、miR-221 の発現抑制により大腸癌幹細胞の腫瘍形成能が低下することを明らかにしてきた。これらの研究成果をふまえ、本研究では miR-221 による大腸癌幹細胞の制御機構を解明する。本研究により大腸癌幹細胞の新たなエピジェネティック制御機構を明らかにすることは、大腸癌の制圧に向けた重要な知見となり、miR-221 を標的とした核酸創薬など新規治療戦略に応用できる可能性をもつ。

3. 研究の方法

大腸癌大規模臨床検体データベースの解析を行い、miR-221 の発現が大腸癌患者の予後に与える影響について明らかにする。ヒト大腸癌細胞株やヒト大腸癌異種移植マウスを用いたルシフェラーゼアッセイ、ウエスタンブロット解析により miR-221 の新規標的遺伝子を見出す。また、標的遺伝子による癌幹細胞性の制御を解析するために、標的遺伝子を発現させたレンチウイルスをヒト大腸癌細胞株に感染させ、オルガノイド培養系とマウスへの移植実験を行い腫瘍原性の変化を解析する。

4. 研究成果

本研究では、大腸癌組織中の大腸癌幹細胞のマイクロ RNA プロファイルを世界に先駆け明らかにし、大腸癌幹細胞でマイクロ RNA-221 の発現が選択的に上昇していることを発見した。また、オルガノイド培養系とマウスへの移植実験によりマイクロ RNA-221 が大腸癌の幹細胞性を制御する機能をもつことを解明した。さらに、大腸癌大規模臨床検体データベースの解析により、miR-221 の発現が高い大腸癌患者は予後が不良であることを明らかにした。

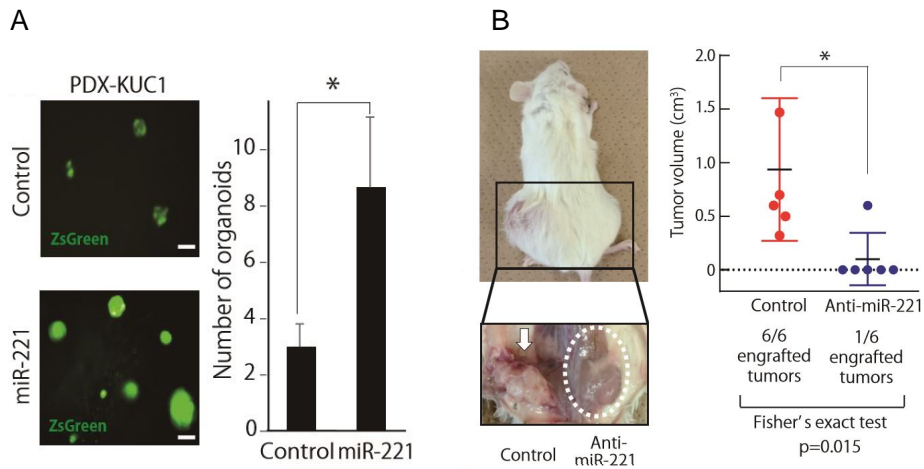


図 miR-221 発現量の違いによる大腸がん細胞の幹細胞性の変化

- (A)miRNA-221 の発現を増強すると大腸がん細胞の増殖能は増強する。
 (B)miRNA-221 の発現を抑制すると大腸がん細胞の腫瘍形成能は抑制される。

miR-221 の標的遺伝子として、ルシフェラーゼアッセイ、ウエスタンブロット解析により RNA 結合蛋白質 QKI-5 を同定した。オルガノイド培養系を用いた解析にて、miR-221 が QKI5 依存性に大腸癌幹細胞の腫瘍形成能を制御することを明らかにした。本研究の成果は、マイクロ RNA-221 の抑制による癌幹細胞を標的とした治療薬の開発への応用が期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamashita Kimihiro, Matsuda Takeru, Hasegawa Hiroshi, Mukohyama Junko, Arimoto Akira, Tanaka Tomoko, Yamamoto Masashi, Matsuda Yoshiko, Kanaji Shingo, Nakamura Tetsu, Sumi Yasuo, Suzuki Satoshi, Kakeji Yoshihiro	4. 巻 3
2. 論文標題 Recent advances of neoadjuvant chemoradiotherapy in rectal cancer: Future treatment perspectives	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of Gastroenterological Surgery	6. 最初と最後の頁 24 ~ 33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1002/ags3.12213	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 Junko Mukohyama, Yohei Shimono, Hironobu Minami, Yoshihiro Kakeji, Akira Suzuki	4. 巻 9
2. 論文標題 Roles of microRNAs and RNA-Binding Proteins in the Regulation of Colorectal Cancer Stem Cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cancers (Basel)	6. 最初と最後の頁 143
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers9100143.	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 Hiroki Kondo, Yohei Shimono, Junko Mukohyama, Yasuteru Tanaka, Naoki Shibuya, Hironobu Minami, Yoshihiro Kakeji, Akira Suzuki	4. 巻 37
2. 論文標題 Discordance of MCM7 mRNA and Its Intronic MicroRNA Levels under Hypoxia	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 3885-3890
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 下野 洋平, 渋谷 尚樹, 向山 順子, 西村 建徳, 後藤 典子, 南 博信, 掛地 吉弘, 鈴木 聡	4. 巻 27
2. 論文標題 マイクロRNA による原発巣および転移巣のがん幹細胞制御機構	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cytometry Research	6. 最初と最後の頁 33-39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.18947/cytometryresearch.27.1_33	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 Mukohyama J, Isobe T, Hu Q, Hayashi T, Watanabe T, Maeda M, Yanagi H, Qian X, Yamashita K, Minami H, Mimori K, Sahoo D, Kakeji Y, Suzuki A, Dalerba P, Shimono Y.	4. 巻 79
2. 論文標題 miR-221 targets QKI to enhance the tumorigenic capacity of human colorectal cancer stem cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 5151-5158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-18-3544	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 該当する

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Junko Mukohyama, Yohei Shimono, Piero Dalerba, Taichi Isobe, Qingjiang Hu, Debashis Sahoo, Hironobu Minami, Koshi Mimori, Yoshihiro Kakeji, Akira Suzuki
2. 発表標題 miR-221 enhances functional behaviors of cancer stem cells in human colorectal cancers
3. 学会等名 11th AACR-JCA joint conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Junko Mukohyama, Yohei Shimono, Piero Dalerba, Taichi Isobe, Qingjiang Hu, Debashis Sahoo, Naoki Shibuya, Hironobu Minami, Koshi Mimori, Yoshihiro Kakeji, Akira Suzuki.
2. 発表標題 Epigenetic regulation of colorectal cancer stem cells by the miR-221/QKI5 axis
3. 学会等名 AACR Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Junko Mukohyama, Yohei Shimono, Piero Dalerba, Taichi Isobe, Qingjiang Hu, Debashis Sahoo, Naoki Shibuya, Hironobu Minami, Koshi Mimori, Yoshihiro Kakeji, Akira Suzuki
2. 発表標題 Epigenetic regulation of colorectal cancer stem cells by the miR-221/QKI5 axis
3. 学会等名 AACR Annual Meeting 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Junko Mukohyama, Dai Iwakiri, Yoh Zen, Toru Mukohara, Hironobu Minami, Yoshihiro Kakeji, Yohei Shimono
2. 発表標題 Detection of EBV BamHI W region in surgical cancer specimen is a useful method to evaluate the risk of lymphomagenesis in patient-derived tumor xenografts
3. 学会等名 ACR Annual Meeting 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yohei Shimono, Taichi Isobe, Andrei Turtoi, Junko Mukohyama, Toru Mukohara, Akira Suzuki, Vincent Castronovo, Hironobu Minami
2. 発表標題 MicroRNA-mediated upregulation of the WNT signaling activities in human breast cancer stem cells
3. 学会等名 ACR Annual Meeting 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Junko Mukohyama, Yohei Shimono, Taichi Isobe, Qingjiang Hu, Naoki Shibuya, Kimihiro Yamashita, Koshi Mimori, Hironobu Minami, Yoshihiro Kakeji, Akira Suzuki
2. 発表標題 miR-221-QKI5 axis regulates tumorigenicity of human colorectal cancer stem cells
3. 学会等名 The 76th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association
4. 発表年 2017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
---------	---------------------------	-----------------------	----