

令和元年6月3日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16571

研究課題名(和文)大腸癌幹細胞における抗がん剤耐性獲得メカニズムの解明と治療標的因子の同定

研究課題名(英文)The mechanisms of acquiring chemo-resistance and identification of therapeutic targets in colorectal cancer stem cells.

研究代表者

泉 大輔 (IZUMI, Daisuke)

熊本大学・医学部附属病院・非常勤診療医師

研究者番号：60594877

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：大腸癌幹細胞株において、抗がん剤投与後に発現が低下したc-Mycを制御する上流の因子として抗がん剤投与後に上昇したFBXW7に注目した。抗がん剤投与後の癌幹細胞株でFBXW7を低下させたところ、抗がん剤耐性が改善した。分化誘導した癌幹細胞株では腫瘍形成能が低下し、抗がん剤投与後にFBXW7の上昇は見られなかった。大腸癌切除検体及び大腸癌肝転移巣切除検体を用いて発現解析を行い、予後データとの相関解析にて臨床的意義を検証した。化学療法後の大腸癌検体において残存病変のFBXW7の発現は上昇していた。今回大腸癌幹細胞特異的なFBXW7調整メカニズムは抗がん剤耐性に強くかかわっていることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究で大腸癌幹細胞特異的なFBXW7調整メカニズムは抗がん剤耐性に強くかかわっていることが分かった。このメカニズムをターゲットとすることで大腸癌幹細胞の新たな治療戦略に寄与することができる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The cancer stem cell (CSC) paradigm suggests that tumors are organized hierarchically. We performed this study to elucidate the molecular mechanisms responsible for evading cell death in colorectal CSCs mediated by anticancer agents. During the cell cycle arrest caused by anticancer agents, c-Myc expression was substantially decreased in colorectal CSCs. The c-Myc expression alterations were mediated by upregulation of F-box/WD repeat-containing protein 7 (FBXW7). Differentiated CSCs treated with anticancer agents did not show upregulation of FBXW7 and were more sensitive to irinotecan (CPT-11), highlighting the potential CSC-specific nature of our data. The FBXW7 over-expression was further validated in resected liver metastatic sites in CRC patients after chemotherapy. In conclusion, our study revealed that a CSC-specific FBXW7-regulatory mechanism is strongly associated with resistance to chemotherapeutic agents.

研究分野：消化器外科

キーワード：大腸癌幹細胞 抗がん剤耐性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

癌幹細胞は、自己複製能と多分化能によって階層性を持った腫瘍を形成する能力を持ち、治療抵抗性や腫瘍進展に關与する治療ターゲットとして提唱されてきた。癌幹細胞は ABC トランスポーターや DNA 修復機構、アポトーシス抵抗性によって抗がん剤抵抗性を獲得していると考えられているが、固形癌における抗がん剤に対するアポトーシス抵抗性のメカニズムは不明な点が多い。大腸癌においては、様々な分子標的薬が実用化されているが、抗がん剤抵抗性に關わる分子を治療標的とした薬剤は未だ開発されておらず、そのメカニズムを解明することで新たな治療戦略につながる可能性がある。

2. 研究の目的

大腸癌幹細胞における抗がん剤抵抗性獲得の分子メカニズムを解明し、新たな治療標的因子を同定すること

3. 研究の方法

本研究の目的は大腸癌幹細胞株を用いて、大腸癌における癌幹細胞を介した抗がん剤耐性のメカニズムを解明し、最終的に治療標的となりえる抗がん剤耐性に關わる因子を同定する。以下に研究計画を具体的なステップ毎に記載する。

- i. 大腸癌幹細胞株を用いた、抗がん剤投与時の c-Myc を制御する因子の同定と機能解析
- ii. c-Myc を介した抗がん剤耐性獲得機序の、癌幹細胞特異性の証明
- iii. LGR5 陽性/陰性/分化誘導大腸癌幹細胞を用いたマイクロ RNA アレイ
- iv. 大腸癌組織を用いた候補因子の発現解析及び臨床病理学的因子との検討成果

4. 研究の成果

大腸癌幹細胞株において、抗がん剤投与後に発現が低下した c-Myc を制御する上流の因子として FBXW7 に着目した。FBXW7 はイマチニブを投与された白血病幹細胞において細胞を G0 期に導入し抗癌剤耐性を獲得するメカニズムに寄与していると報告されている。抗癌剤投与後に c-Myc が低下した大腸癌幹細胞において、FBXW7 の発現は上昇していた(図 1)。そこで FBXW7 を抗癌剤投与後の PLR123 細胞で siRNA を用いてノックダウンしたところ、抗癌剤耐性が改善するという結果が得られた(図 2)。一方で通常の大腸癌細胞株においては、抗癌剤投与後に FBXW7 の上昇は見られなかった。

図 1

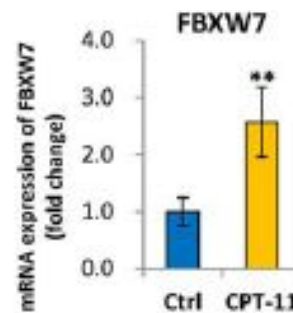
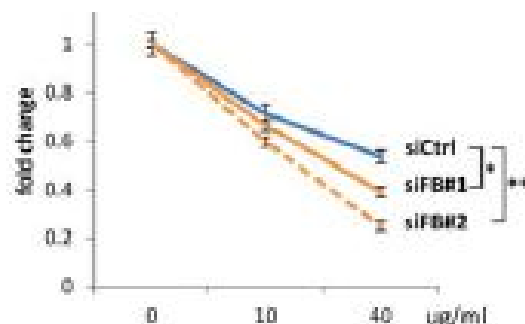
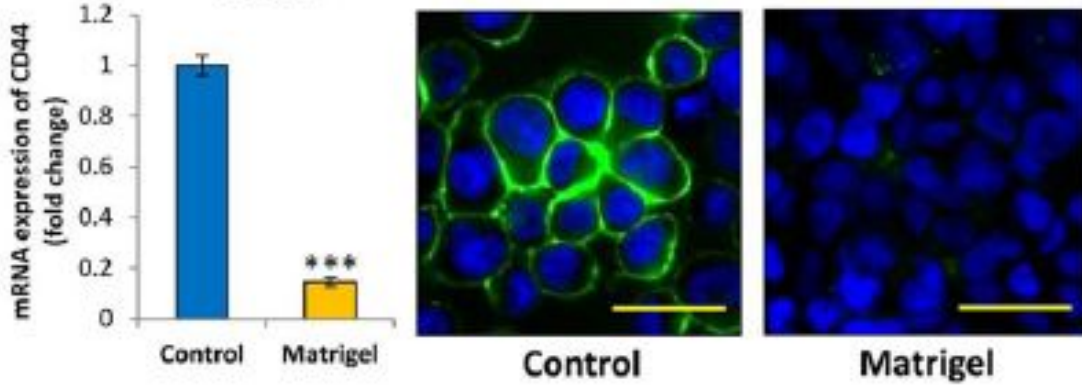


図 2



続いて癌幹細胞株である PLR123 をマトリゲルにて処理することにより分化を誘導することに成功した。マトリゲルを含む培地にて培養することで癌幹細胞マーカーの発現は低下し(図 3)、分化マーカーの上昇がみられた。分化誘導した PLR123 では xenograft における腫瘍形成能が低下していた(図 4)。分化誘導された PLR123 では抗癌剤投与後に FBXW7 の上昇は見られず、また抗癌

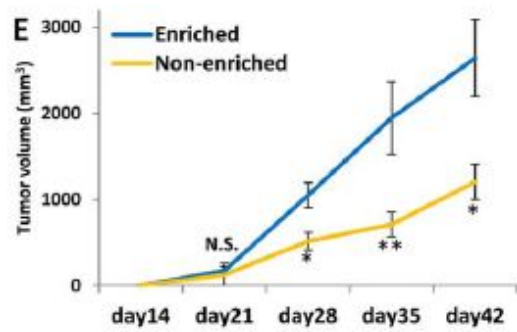
図 3



剤に対する耐性が低下していた(図 5)。

平成 17 年より保存されている 600 例以上の大腸癌切除検体及び 100 例以上の大腸癌肝転移巣切除検体を用いて候補分子の免疫染色、RT-qPCR による発現解析を行い、蓄積された治療成績、予後データとの相関解析にて基礎的知見の臨床的意義を検証した。化学療法後の大腸癌検体において残存病変の FBXW7 の発現は上昇していた。FBXW7 の発現が高い大腸癌組織では低い組織に比べ、c-Myc 及び Ki67 の発現が上昇していることが分かった(図 6)。

図 4



今回の研究で大腸癌幹細胞特異的な FBXW7 調整メカニズムは抗癌剤耐性に強くかかわっていることが分かった。このメカニズムをターゲットとすることで大腸癌幹細胞の新たな治療戦略に寄与することができる可能性がある。

図 5

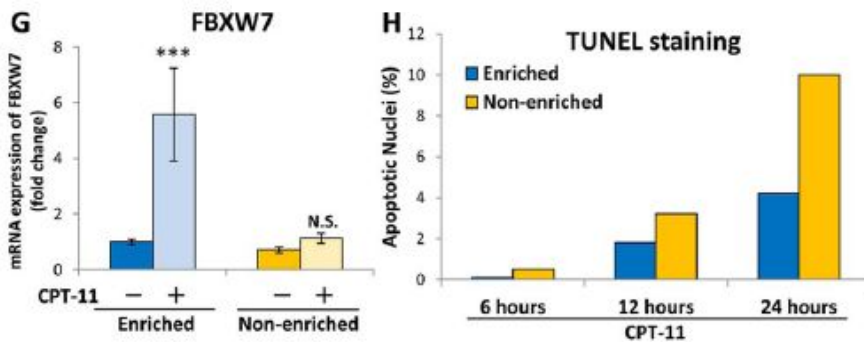
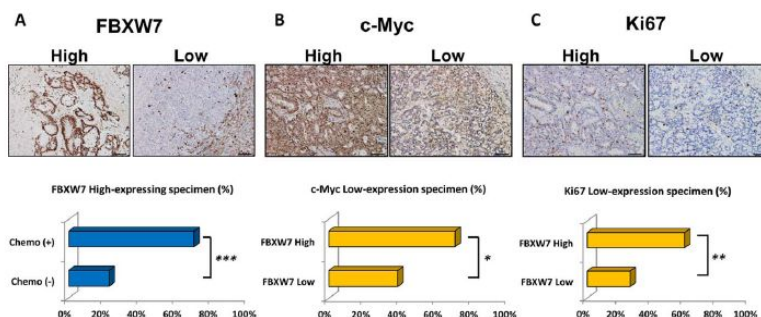


図 6



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計4件)

Izumi D, Ishimoto T, Miyake K, Eto T, Arima K, Kiyozumi Y, Uchihara T, Kurashige J, Iwatsuki M, Baba Y, Sakamoto Y, Miyamoto Y, Yoshida N, Watanabe M, Goel A, Tan P, Baba H: Colorectal Cancer Stem Cells Acquire Chemoresistance Through the Upregulation of F-Box/WD Repeat-Containing Protein 7 and the Consequent Degradation of c-Myc.. Stem Cells. 2017 Sep;35(9):2027-2036. doi: 10.1002/stem.2668. Epub 2017 Jul 31. 査読あり

Eto T, Miyake K, Nosho K, Ohmuraya M, Imamura Y, Arima K, Kanno S, Fu L, Kiyozumi Y, Izumi D, Sugihara H, Hiyoshi Y, Miyamoto Y, Sawayama H, Iwatsuki M, Baba Y, Yoshida N, Furukawa T, Araki K, Baba H, Ishimoto T: Impact of loss-of-function mutations at the RNF43 locus on colorectal cancer development and Progression. The Journal of Pathology. 2018 Aug;245(4):445-455. doi: 10.1002/path.5098 査読あり

Arima Kota, Ohmuraya Masaki, Miyake Keisuke, Koiwa Mayu, Uchihara Tomoyuki, Izumi Daisuke, Gao Feng, Yonemura Atsuko, Bu Luke, Okabe Hirohisa, Imai Katsunori, Hashimoto Daisuke, Baba Yoshifumi, Chikamoto Akira, Yamashita Yo-ichi, Furukawa Toru, Araki Kimi, Baba Hideo, Ishimoto Takatsugu: Inhibition of 15-PGDH causes Kras-driven tumor expansion through prostaglandin E2-ALDH1 signaling in the pancreas. Oncogene. 2019 Feb;38(8):1211-1224. doi: 10.1038/s41388-018-0510-y 査読あり

Izumi Daisuke, Gao Feng, Toden Shusuke, Sonohara Fuminori, Kanda Mitsuro, Ishimoto Takatsugu, Kodera Yasuhiro, Wang Xin, Baba Hideo, Goel Ajay: A genomewide transcriptomic approach identifies a novel gene expression signature for the detection of lymph node metastasis in patients with early stage gastric cancer. EBioMedicine. 2019 Mar;41:268-275. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.01.057 査読あり

〔学会発表〕(計0件)

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：なし

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：なし

ローマ字氏名：

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。