

令和 6 年 5 月 1 日現在

機関番号：81303

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17068

研究課題名（和文）大腸癌における静止期癌幹細胞関連分子BEX2の解析

研究課題名（英文）Role of BEX2 as dormant cancer stem cell-related gene

研究代表者

虻江 誠（Abue, Makoto）

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・特任研究員

研究者番号：50599967

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）：近年、癌組織の中に「癌幹細胞」の存在が報告されている。癌幹細胞は静止期（G0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。従って、静止期に存在する癌幹細胞を通常の細胞周期に誘導できれば、効果的な癌治療に結びつく。しかし、固形癌幹細胞における静止期の維持に関しては、多くの点が未解明のままである。本課題でははじめ大腸癌におけるBEX2の解析をはじめたが、一定の結果が得られないことから、同じく消化管がんである胃癌における解析を行った。その結果、BEX2はCHRN2の上流で転写因子として機能し、がん幹細胞維持に働く分子であることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

私たちは胃癌におけるあらたながん幹細胞関連分子BEX2を同定した。治療抵抗性に密接に関わると考えられることから、今後はBEX2および周辺のシグナルを阻害する手段を開発することで、新しい胃癌治療に繋がる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In recent years, the presence of 'cancer stem cells' in cancerous tissue has been reported. Since cancer stem cells exist in the quiescent phase (G0 phase), they are highly resistant to anti-cancer drugs and radiation and are the main cause of treatment resistance. Therefore, induction of quiescent cancer stem cells into the normal cell cycle could lead to effective cancer therapy. However, many aspects of the maintenance of quiescence in solid tumour stem cells remain unresolved. In this project, we started by analysing BEX2, a quiescent cancer stem cell-associated molecule, in colorectal cancer, but as the results were not consistent, we analysed it in gastric cancer, which is also a gastrointestinal cancer. The results showed that BEX2 is a molecule that acts downstream of CHRN2 to maintain cancer stem cells.

研究分野：がん生物学

キーワード：BEX2

1. 研究開始当初の背景

近年、癌組織の中に「癌幹細胞」の存在が報告されている。癌幹細胞は静止期(G0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。従って、静止期に存在する癌幹細胞を通常の細胞周期に誘導できれば、効果的な癌治療に結びつく。血液癌においてはFbw7分子が静止期の維持に重要であることが示されている。しかし、固形癌幹細胞における静止期の維持に関しては、多くの点が未解明のままである。申請者らは胆管癌において静止期癌幹細胞に高発現している遺伝子BEX2を同定した。

BEX2(Brain-expressed X-linked gene 2)は、ヒトゲノムのXq22に存在し、およそ20kDaのタンパクをコードしている。これまでの研究から、BEX2はCUL2/FEM1Bと結合してプロテアソーム分解を受けることが分かっている。しかし、BEX2の正確な機能はホトンの点で不明であり、特にBEX2とがんとの関係は未知であった。

私たちの研究から、以下のようなことが判明した：BEX2はミトコンドリアタンパクと会合し、酸化リン酸化を抑制することで細胞を低エネルギー状態に遷移させ、静止期に移行させ、シスプラチンに対して抵抗性を持つ。また、BEX2高発現細胞は高い造腫瘍能を持っていた。以上のことからBEX2高発現細胞は静止期癌幹細胞であると考えられた。

申請者らはBEX2の機能解析を他癌種でも行うために、他臓器でのBEX2発現スクリーニングを行った。その結果、大腸においては正常上皮では発現が乏しいが、癌組織では不均一に高発現細胞が存在するを見いだした。このことから、大腸癌でもBEX2発現が重要であると考え、本申請課題を提案する。さらには、消化器がん一般にも適応するかどうか、胃癌等も含めて解析を広げることも検討する。

2. 研究の目的

本課題では、大腸癌におけるBEX2の役割を明らかにするため、細胞株および大腸癌発癌モデルマウスを用いてBEX2に由来する表現型を検討する。BEX2ノックアウトマウスは健康であることから、BEX2は(胆管癌と同様に)癌のみで機能する可能性があり、ユニークな分子機構が存在すると予想される。BEX2が私たちが既に明らかにした胆管癌と同様に静止期癌細胞の維持に関わっていれば、画期的な治療表記となることが期待される。BEX2の癌における検討は極めて限られており、またそのほとんどは分子機構不明のままであり、本申請課題は新規性も高い。

3. 研究の方法

細胞株および手術検体を用いた解析を行った。ヒト検体を用いた実験計画に関しては、すべて倫理審査委員会によって承認を受けている。動物実験移に関する実験計画は全て施設における委員会において承認を受けている。細胞株GC1Y, MKN1は理研バイオリソースセンターから分与された。

4. 研究成果

まず、大腸癌症例を用いてBEX2の免疫染色を行った。その結果、がん細胞も染まるが、間質も多く染まり、またがん組織の染まりムラが激しく、特異的に染色されていないと判断した。臨床的な評価が困難であると考えられたため、同じ消化器がんである胃癌を用いて同様の検討を行った。その結果、癌部に強く染色される症例が散見されたため、胃癌での検討を行うこととした。胃癌細胞株を用いてBEX2ノックダウン細胞を作成した。Real-time PCRで確認したところ、ノックダウン効率は充分であった。BEX2ノックダウン細胞ではスフェア形成能が低下していることが分かった。また、スフェアを形成した細胞ではBEX2発現が増加することも分かった。またがん幹細胞のマーカーとして知られるALDH1A3の発現がBEX2ノックダウン細胞では低下し、aldefluor活性も低下していた。BEX2の下流をマイクロアレイを用いて網羅的に探索したところCHRN2が候補としてあがった。BEX2強制発現させるとCHRN2プロモーター活性が増加した。またCHRN2をノックダウンするとaldefluor活性が低下した。臨床検体を用いてBEX2発現量と予後の関係を免疫染色を用いて検討すると、BEX2高発現症例は有意に予後不良であった。

以上のことから、胃癌においてBEX2は転写因子として機能し、CHRN2の発現を亢進させることが分かった。また、CHRN2は、その下流でALDH活性を制御することから、がん幹細胞シグナルを亢進させる可能性が示唆された。臨床検体の解析からも、BEX2は胃癌の予後に関わるものが

示唆された。従って、BEX2 は胃癌における新しい治療標的になることが示唆された。

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 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tamai Keiichi, Nakamura-Shima Mao, Shibuya-Takahashi Rie, Kanno Shin-Ichiro, Yasui Akira, Mochizuki Mai, Iwai Wataru, Wakui Yuta, Abue Makoto, Yamamoto Kuniharu, Miura Koh, Mizuma Masamichi, Unno Michiaki, Kawamura Sadafumi, Sato Ikuro, Yasuda Jun, Yamaguchi Kazunori, Sugamura Kazuo, Satoh Kennichi	4. 巻 10
2. 論文標題 BEX2 suppresses mitochondrial activity and is required for dormant cancer stem cell maintenance in intrahepatic cholangiocarcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 21592
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-78539-0	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 Hatsuzawa Yuuri, Yamaguchi Kazunori, Takanashi Tomoka, Sato Ikuro, Tamai Keiichi, Mochizuki Mai, Iwai Wataru, Wakui Yuta, Abue Makoto, Yamamoto Kuniharu, Yasuda Jun, Mizuma Masamichi, Unno Michiaki, Sugamura Kazuo	4. 巻 20
2. 論文標題 CD109 promotes the tumorigenic ability and metastatic motility of pancreatic ductal adenocarcinoma cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pancreatology	6. 最初と最後の頁 493 ~ 500
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pan.2020.01.013	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 Yasumoto Akihiro, Fujimori Haruna, Mochizuki Mai, Shibuya-Takahashi Rie, Nakamura-Shima Mao, Shindo Norihisa, Yamaguchi Kazunori, Fukushi Daisuke, Wakui Yuta, Sugai Takahiro, Iwai Wataru, Abue Makoto, Sato Ikuro, Satoh Kennichi, Katayose Yu, Yasuda Jun, Shibata Chikashi, Tamai Keiichi	4. 巻 655
2. 論文標題 BEX2 is poor prognostic factor and required for cancer stemness in gastric cancer	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 59 ~ 67
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2023.03.025	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 Miyabe Shingo, Ito Shin, Sato Ikuro, Abe Jiro, Tamai Keiichi, Mochizuki Mai, Fujimori Haruna, Yamaguchi Kazunori, Shindo Norihisa, Shima Hiroshi, Yamazaki Tomoko, Abue Makoto, Okada Yoshinori, Yasuda Jun	4. 巻 14
2. 論文標題 Clinical and genomic features of non small cell lung cancer occurring in families	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Thoracic Cancer	6. 最初と最後の頁 940 ~ 952
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1759-7714.14825	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 Fukushi Daisuke, Shibuya Takahashi Rie, Mochizuki Mai, Fujimori Haruna, Kogure Takayuki, Sugai Takahiro, Iwai Wataru, Wakui Yuta, Abue Makoto, Murakami Kazuhiro, Nakamura Yasuhiro, Yasuda Jun, Yamaguchi Kazunori, Sugamura Kazuo, Shibata Chikashi, Katayose Yu, Satoh Kennichi, Tamai Keiichi	4. 巻 112
2. 論文標題 BEX2 is required for maintaining dormant cancer stem cell in hepatocellular carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4580 ~ 4592
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15115	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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------