

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2011

課題番号：23650601

研究課題名（和文） 前転移ニッチの性状解析に基づく癌転移抑制戦略の考案

研究課題名（英文） Development of anti-metastatic strategy based on analysis of premetastatic niche

研究代表者：

佐谷 秀行（SAYA HIDEYUKI）

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：80264282

研究成果の概要（和文）：癌細胞が遠隔臓器で転移巣を形成するステップは癌細胞の生存能力や癌細胞到着地の微小環境に依存している。本研究は、癌細胞と前転移ニッチの相互作用の分子メカニズムを明らかにすることを目的として実施した。具体的には、標識したヒトの乳癌細胞をマウスの心臓から注入し、脳に転移する際の環境について次世代シーケンサーを用いて RNA-seq を行い、ホスト側の環境変化（マウス細胞の遺伝子発現変化）とドナー側の遺伝子発現変化を同時に調べた。その結果、癌細胞の脳への生着に関与するホスト側とドナー側の双方の遺伝子群を同定することに成功した。

研究成果の概要（英文）：The step which cancer cells establish their metastatic lesions in other remote organs is dependent on the survival activity of cancer cells and the microenvironment of the secondary lesion. This project was conducted to clarify the molecular mechanism of the interaction between cancer cells and the premetastatic niche. We injected human breast cancer cells into mouse heart and obtained the brain metastasis lesions followed by the RNA-seq analysis of mRNA derived from both mouse cells and human cells. This experiments allowed us to identify the specific gene sets which may play a role in colonization of cancer cells in the secondary lesion.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2011 年度	3,100,000	930,000	4,030,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：腫瘍学・腫瘍生物学

キーワード：癌、遺伝子、細胞・組織、病理学、シグナル伝達

1. 研究開始当初の背景

上皮系腫瘍の遠隔臓器への転移は、複数のステップによって成立することが知られている。原発巣からの離脱、周囲組織への浸潤、血管への侵入、血管内での生存、血管から脱出、遠隔臓器での成着、血管新生など、様々な分子が関わるイベントが生じることによって転移は完成する。特に最初のステップは、上皮細胞がその上皮としての性質を喪失し、線維芽細胞など間葉系細胞のような振る舞いを呈する、いわゆる上皮間葉転換 (EMT) と呼ばれる現象によって誘導されることが分かってきた。これまで申請者の研究室では、この EMT を誘導する要因や分子機構について解析を行い (Cancer Res 68: 5104-5112, 2008; J Biol Chem 285: 4060-4073, 2010) それらを阻害することによって癌の浸潤・転移を防ぐアプローチを長年に渡って行ってきた。EMT 阻害の研究に関しては、アッセイ系の樹立、化合物スクリーニング、有望化合物の同定、特許化という過程をすでに経て、現在モデル動物を用いた前臨床試験にまで進展している。しかし、転移を更に効率よく抑制するためには、原発巣からの離脱・浸潤という最初のステップのみならず、それ以降のステップを阻害する必要がある。

癌細胞が遠隔臓器に到達しそこで転移巣を形成するプロセス (colonization) は癌転移の最終段階であり、腫瘍塊成立の有無は、癌細胞そのものの生存能力や癌細胞到着地の微小環境に大きく依存している。癌細胞と到着地の双方のいかなるシグナルが引き合うことが転移の成立に必要なのか明確になっていない。

2. 研究の目的

本研究は、癌細胞と前転移ニッチ (premetastatic niche) の相互作用の分子メカニズムを明らかにし、それを阻害することで転移を抑制する戦略を立案するための基礎的データを得ることを目的として実施した。

3. 研究の方法

(1) マウス乳癌の同所性モデルを用いた解析

マウスの両側乳腺にそれぞれルシフェラーゼ標識癌細胞 (ドナー細胞) と、各種非標識細胞 (レシピエント細胞) を移植し、レシピエント内にドナーが移動する頻度を測定することで癌細胞と前転移ニッチの相互作用を量的、質的に評価を行った。ドナーとしては CD44 スプライスバリエーション陽性 (CD44v+) の乳癌細胞を用い、その前転移ニッチを具体的な分子として抽出し、転移抑制のための標的として適切であるかについて評価を行った。その結果、ドナー細胞はレシピエント細胞内に転移していることは確認できたものの、極めて少数のため、到着地の環境変化を捉えることができるだけの遺伝子の発現変化をみることはできなかった。そのため、2) のようにヒト乳癌細胞のマウス脳転移系を用いて解析することとした。

(2) ヒト乳癌の脳転移モデルを用いた解析

ルシフェラーゼ標識したヒトの乳癌細胞 MDA-MD-231-Luc をマウスの心臓から注入し、脳に転移するモデルを用いた。イメージングによって骨髄及び脳への転移が確認できたマウスから転移部の組織を回収し、RNA を抽出して RNA-seq 解析を次世代シーケ

ンサーを用いて実施した。得られたデータを解析して、ドナー由来（ヒト遺伝子）とマウス由来（マウス遺伝子）の遺伝子発現プロファイルの解析を行った。

4. 研究成果

ヒト乳癌の脳転移モデルにおいて、全てのマウスにおいて骨髄への転移が、そして60%のマウスにおいて脳への転移がイメージングによって確認できた（図1）。

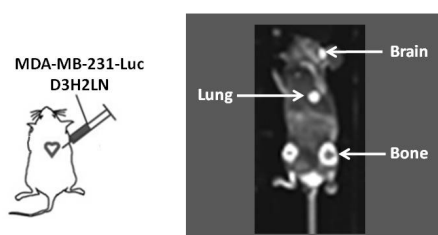


図1. 遠隔転移モデル(心臓への癌細胞移植)

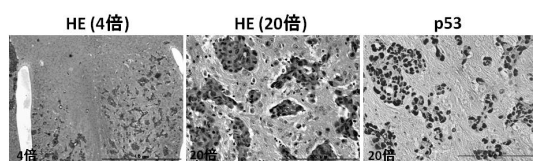


図2. マウス脳転移巣のHE染色およびp53染色像

骨髄及び脳（図2）の転移巣を周辺組織とともに採取し、そのRNA-seqを行ったところ、複数の脳転移箇所において、乳腺に注入して作製した腫瘍の発現プロファイルと異なるヒトの遺伝子の発現、転移のない脳の発現プロファイルと異なるマウスの遺伝子の発現、が観察できた。現在、数理解析を共同研究者とともに実施しており、 によって転移に必要な癌細胞由来の gene set、 によって前転移ニッチ形成に必要な宿主由来の gene set の絞り込みを実施している。

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)

Yoshimi Arima, Hidemi Hayashi, Mikako Sasaki, Mari Hosonaga, Takaaki M. Goto, Tatsuyuki Chiyoda, Shinji Kuninaka, Tatsuhiro Shibata, Hirokazu Ohata, Hitoshi Nakagama, Yoichi Taya, Hideyuki Saya: Induction of ZEB Proteins by Inactivation of RB Protein Is Key Determinant of Mesenchymal Phenotype of Breast Cancer. *J Biol Chem* 287:7896-7906, 2012

Arima Y, Naoki Hayashi, Hidemi Hayashi, Mikako Sasaki, Kazuharu Kai, Eiji Sugihara, Eriko Abe, Atsushi Yoshida, Shuji Mikami, Seigo Nakamura, Hideyuki Saya: Loss of p16 expression is associated with the stem cell characteristics of surface markers and therapeutic resistance in estrogen receptor – negative breast cancer. *Int J Cancer* 130:2568-2579, 2011

〔学会発表〕(計1件)

Saya H, Role of CD44 in cancer stem cells and metastasis. Prenary Lecture 5, 8th International Symposium on Residual Cancer. 9/23/2011, Osaka

〔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

<http://www.genereg.jp>

6．研究組織

(1)研究代表者

佐谷 秀行 (SAYA HIDEYUKI)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：80264282

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし