

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：32644

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25640070

研究課題名(和文)人工スーパー癌細胞を用いた革新的治療法開発に向けて

研究課題名(英文)Development of novel therapy using artificial super cancer cells

研究代表者

幸谷 愛 (KOTANI, Ai)

東海大学・医学部・准教授

研究者番号：00517477

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)：癌が“一人勝ちを望む”性質、癌細胞のクローン間での生存競争を治療に応用できないかと考え、人工的に悪性度の高い“スーパー癌細胞”を作成し、“普通癌細胞”と生存競争させることによって後者の増殖を抑制する試みを提案しました。“癌が一人勝ちを望む”メカニズムの解析を行いました。両細胞の接触のない臓器間においても、スーパー癌細胞が離れたところに存在する普通癌細胞の増殖を抑制している所見がイメージングで認められ、液性因子の関与も示唆されました。

研究成果の概要(英文)：The clonal competition between tumor clones has been reported. In this study, we tried to apply it to the novel cancer therapy.

First we established the model system for studying it. Next the mechanism of the phenomenon was investigated. We found that the phenomenon seemed prominent in the mouse model mediated by the soluble factor. Then we tried to identify the factor; several candidate molecules were studied now.

研究分野：血液内科学

キーワード：腫瘍

1. 研究開始当初の背景

高度先進医療が発達した現在、がんは初発で転移がなければ大抵根治を望める。しかし尚、再発したり初発時に既に大規模な転移を認める場合、有効な治療が極めて少ない。高齢者が発症するがんは、根治が望めなくても一般的に進行が遅い。よって、がんとの共存状態である程度の生存期間が望めるため、人生の整理をする時間がある。しかし、若年者に発症する進行がんは、手術で病巣を取りきることができなければ、再発し生存期間も短い場合が多い。そのため、人生の整理を行うにはあまりにも短い時間しか与えられず、無念な思いを胸に多くの働き盛りが亡くなっている。

これら若年者の再発がんに対して、革新的な治療法、それが不可能なら、高いQOLを維持しながらの生存期間の延長する方法を開発するのが申請者の夢である。申請者が専門としている造血悪性疾患は若年者に多い。最新治療、特に造血幹細胞移植の進歩によって、再発腫瘍といえども根治するケースが増えてきている。しかしながら、それでも尚、臓器障害、化学療法抵抗性により移植適応にならず、緩和ケアを宣告せざる得ないケースが多々あるのが現状である。この臨床経験から、このようなケースに対する新規治療、根治が困難であるのであれば、がんと共にしながら高いQOLで延命が図れる治療法を開発するのが前述のとおり申請者の夢となった。延命が可能となれば、移植のドナーがない場合や、移植後短時間に再発し臓器障害から移植不適応の場合、新しいドナーコーディネート、臓器回復の時間が稼げるかもしれない。

2. 研究の目的

そこで、がん細胞がクローン間で生存競争する現象に着目し、人工的に悪性度の高い“スーパー白血病細胞”を作成し、白血病細胞と生存競争させることによって後者の増殖を抑制させる試みを行った。

3. 研究の方法

“スーパー癌細胞”として、強力な白血病遺伝子 bcr-abl を、“普通癌細胞”として、bcr-abl の下流に存在し、bcr-abl より弱い形質転換能を持つがん遺伝子 Stat5 を、それぞれマウスB細胞株BaF3細胞に導入した安定株を作成しました。これらをマウス生体内で、共接種、単独接種した時、スーパー癌細胞が普通癌細胞の増殖を抑制し、“癌が一人勝ちを望む”現象を再現できるシステム構築に成功しました。更に、マウス生体内においては“癌の一人勝ち”性質が、試験管内よりも著明に表われたため、癌細胞のみならず、生体内のがん微小環境が、“癌の一人勝ち”メカニズムに大きな影響を及ぼす事が明らかになりました。

4. 研究成果

そこで、このシステムを用いて“癌が一人勝ちを望む”メカニズムの解析を行いました。

まず、普通癌細胞単独、スーパー癌細胞とのMIXを接種したマウスに発生した普通癌細胞を分離し、両者の遺伝子プロファイルと比較し、性質の違いを調べました。2倍以上の発現差を認めたものが3671プロンプ、5倍以上が820プロンプ、10倍以上が248プロンプも存在しました。よって、元来同じ細胞であった普通癌細胞が、スーパー癌細胞と生体内で共存することによって、遺伝子発現上は全く異なる細胞ほどの大きな変化を示すことが明らかになりました。この劇的な遺伝子発現変化を引き起こす重要な因子の一つは、細胞間接触であることが病理所見から示唆されましたが、両細胞の接触のない臓器間においても、スーパー癌細胞が離れたところに存在する普通癌細胞の増殖を抑制している所見がイメージングで認められ、液性因子の関与も示唆されました。そこで、2チャンバ

ーを用いて、スーパー癌細胞と普通癌細胞

を分離培養したところ、スーパー癌細胞由来の液性因子による普通細胞の増殖抑制を認めました。

また、この作用は試験管内よりもマウス生体内において顕著に認め

られたため、マウスを用いて液性因子の同定を行いました。スーパー癌細胞と普通癌細胞を MIX 接種したマウスと、普通癌細胞を単独接種したマウスからそれぞれ血清を採取して、二次元タンパク泳動を行い、5つのスポットを特異的に認め、タンパク解析により、Mix 接種マウス特異的血清タンパクとして、SSA1/2, Protease serine1, ハプトグロビン, Histone H4, Ubiquitin-60S ribosomal protein L40 を同定しました。

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9件)

1. Kotani A.: Genomic mutator Activation-induced cytidine deaminase(AID) as a therapeutic target., *Rinsho Ketsueki* 2014 Jul;55(7):780-4.1.

2. Natsuko Yamakawa, Kazuki Okuyama, Jun Ogata, et al. *Ai Kotani (著者15人中15番目): "Novel functional small RNAs are selectively loaded onto mammalian Ago1.", *Nucleic Acids Research* 2014 April;42(8):5289-5301 (査読有)

3. Okuyama K, Ogata J, Yamakawa N, Chanda B, et al. *Kotani Ai (著者5人中5番目): Small RNA as a regulator of hematopoietic development immune response in infection and tumorigenesis, *Into J Hamatol.* 2014 in press(査読有)

4. *Kotani A.: Guest editorial: noncoding RNA in RNA hematopoietic system, *Into J hamatol.* 2014 May;99(5):529-30(査読有)

5. 緒方 洵、保科 貴宏、山本 春菜、幸谷 愛

RNA-RNA 相互作用の新概念, *実験医学*9月号 in press 羊土社(査読有)

6. 奥山一生、幸谷 愛: マイクロ RNA による血液細胞分化制御, *血液内科* vol 68 No6 p725-p729 科学評論社

7. Kazuaki Yokoyama, Nozomi Yokoyama, Kiyoko Izawa, Kotani A (et al. **著者7人中4番目**) 7番目 *Arinobu Tojo: "In vivo leukemogenic potential of an interleukin-7 receptor chain mutant in hematopoietic stem and progenitor cells": *BLOOD* 2013 Dec 19;122(26):4259-63 査読有 (IF10)

8. Kazuki Okuyama, Tomokatsu Ikawa, Bernhard, et al. *Ai Kotani (著者18人中18番目): miR-126-mediated control of cell fate in B cell-myeloid progenitors as a potential alternative to transcriptional factors, : *Proc Natl Acad Sci U. S.A.*

2013 Aug 13;110(33):13410-5. 査読有 (IF10)

9. 横山和明、幸谷 愛: 血液疾患・免疫疾患におけるエクソソーム, *細胞工学* 2013年1月号 学研秀潤社 査読なし

[学会発表](計11件)

1. Ai Kotani: The Tumor Derived Exosome-Mediated control of Macrophage Is Critical for EBV Lymphomagenesis", ASH Meeting on Lymphoma Biology 2014 Aug 10-13, Colorado Springs

2. Ai Kotani: "A single micro-RNA can completely rescue B-cell differentiation arrest due to EBF1 deficiency—Can micro-RNA control cell fate as a potential alternative of transcriptional factor?", Cold Springs Harbor laboratory the seventh Cold Spring Harbor meeting; Gene Expression & Signaling in the Immune System 2014 Apr 22 - 26

3. 幸谷 愛: EBV 感染リンパ腫細胞より分泌される小分子 RNA の機能, 第35回日本炎症・再生医学会 2014年7月1-3日 万国津梁館(沖縄県・名護市)

4. 幸谷 愛: 哺乳類における小分子 RNA, さきがけ国際シンポジウム 2014年2月21日 JST 東京本部 (東京都・千代田区)

5. Ai Kotani: "Tumor derived small RNA regulates " inflammatory niche " ".
The 72th Annual Meeting of JCA2013(Annual meeting of Japan Cancer Association) 2014Oct4 Yokohama. パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

6. Ai Kotani: " small RNAs in hematopoietic system " ,US-Japan Hematological Meeting Hawaii 2013

7. Yokoyama K, Jun L, Imadome K, Toyoshima T, Katsuto H, Yahata T, Ando, K, Nakamura N, Kotani A. : " EBV-Specific Micro-RNA Via Exosome A Key Inter-Cellular machinery between EBV+ Tumor and Tumor-Surrounding Immune Cells? " , 2nd annual meeting of International Secretary exosomal Vesicle (ISEV) Boston 2013

8. Ai Kotani : " Lesson from a Trial for Cooperation of Medicine and Engineer ing " , MJIT-JUC 2013 Joint International Symposium

9. 幸谷 愛: " miRNA は細胞運命制御において転写因子をレスキューできる " , 第36回分子生物学会年会, 2013年12月5日 神戸国際会議場 (兵庫県・神戸市)

10. 幸谷 愛: " EBV 関連リンパ腫から放出される分泌性 EBV コード小分子 RNA の炎症性ニッチ形成における役割 " , 第61回日本ウイルス学会, 2013年11月10日 神戸国際会議場 (兵庫県・神戸市)

11. 幸谷 愛 : " 治療標的としての AID " , The 75th Annual Meeting of JSH (Japanese Society of Hematology) Oct 13, 2013 at Sapporo

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

幸谷 愛 (KOTANI Ai)
東海大学・医学部・准教授
研究者番号: 00517477