

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 15 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460470

研究課題名(和文) 腫瘍幹細胞の観点からみた腫瘍の多様性を制御する機構の解明

研究課題名(英文) Regulation of heterogeneity of tumors from the viewpoint of cancer initiating cells

研究代表者

森井 英一 (Morii, Eiichi)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：10283772

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：腫瘍幹細胞は腫瘍集団の中でも治療抵抗性を示す。本研究では腫瘍幹細胞であるALDH陽性細胞を制御する因子としてNodalを同定し、さらにこの細胞で高発現するS100A4が細胞増殖、浸潤能に重要であることを明らかにした。S100A4を高発現する子宮内膜癌臨床検体はMELFという特殊な構造をもち特に浸潤能が高いことがわかった。さらにアミノ酸合成酵素の一種がALDH陽性分画で高発現することも明らかにし、mTOR complexの構成メンバーがこのアミノ酸合成酵素でepigeneticに制御されていることも見出した。本研究により種々の因子が腫瘍幹細胞を制御し、腫瘍の多様性に関与していることがわかった。

研究成果の概要(英文)：Cancer initiating cells are resistant to anti-tumor therapies. In this study, we showed that ALDH-hi cells, which are considered as cancer initiating cells, are regulated by Nodal, and that ALDH-hi cells expressed S100A4 strongly. S100A4 is related to proliferation and invasion ability of uterine endometrial carcinoma, and S100A4-hi cases possessed "MELF" pattern. In addition, arginine synthetic enzyme was also upregulated in ALDH-hi cells. This enzyme epigenetically controlled mTOR-complex member, DEPTOR. These results suggested that cancer initiating cells are controlled by various factors, which are related to yield of heterogenous populations of tumors.

研究分野：病理学

キーワード：腫瘍幹細胞 多様性 制御因子

1. 研究開始当初の背景

腫瘍は単一クローンで構成されているが、形態学的にも多様性がある。形態のみならず機能的にも多様性があり、治療抵抗性の少数の細胞集団と治療に反応する細胞集団に腫瘍がわかれることが知られている。この治療抵抗性の少数の腫瘍細胞は腫瘍幹細胞と呼ばれ、腫瘍幹細胞から治療反応性の大多数の腫瘍細胞が形成されることが知られている。腫瘍幹細胞のマーカーとして、いくつかのものが知られているが、中でもアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) は腫瘍幹細胞を効率よく描出できるマーカーとして知られている。

腫瘍幹細胞から非腫瘍幹細胞が生成されると一般には言われるが、腫瘍幹細胞と非腫瘍幹細胞の間の移行が知られており、状況によっては非腫瘍幹細胞から腫瘍幹細胞が生成することもある。ところが、腫瘍幹細胞がどのような因子により制御されているかについては不明なことが多かった。

2. 研究の目的

腫瘍の多様性の例として知られている腫瘍幹細胞 / 非腫瘍幹細胞を制御する因子を検討する。腫瘍幹細胞で高発現する因子を同定し、その意義を検討する。

3. 研究の方法

子宮内膜癌より ALDH 陽性細胞、陰性細胞を分画し、ALDH 陽性細胞に特徴的なタンパク質をショットガンプロテオミクスを用いて調べる。単離された候補タンパク質の発現をウエスタンブロットで検討すると同時に、臨床検体での発現様式を免疫染色を用いて確認する。腫瘍幹細胞として矛盾のない染色像を示したものについて、さらにその発現を制御する因子を検討する。また、細胞株において単離されたタンパク質をコードする遺伝子をゲノム編集技術を用いてノックアウトし、その細胞の挙動を調べることで単離タンパク質の役割を解析する。

4. 研究成果

ALDH 陽性の腫瘍幹細胞では、子宮内膜癌に特徴的なホルモンレセプターの発現がなく、上皮としての性格も間葉としての性格も両方有する未熟な性格をもつことがわかった。

また、ALDH 陽性細胞は Smad2/3 の活性化を抑制すると増加し、逆に Smad2/3 を活性化すれば減少することを見出した。腫瘍臨床検体において、ALDH 陽性細胞と Nodal 陽性細胞とは相反的な局在を示すことを明らかにし、Nodal による Smad2/3 活性化が ALDH 陽性細胞を陰性化することを見出した。

さらに ALDH 陽性細胞で高発現する S100A4 が細胞増殖、浸潤能に重要であることを明ら

かにした。S100A4 を高発現する子宮内膜癌臨床検体は MELF という特殊な構造をもち特に浸潤能が高いことがわかった。さらにアミノ酸合成酵素の一種である Argininosuccinate synthase 1 (ASS1) が ALDH 陽性分画で高発現することも明らかにした。ASS1 ノックアウト細胞はアルギニン枯渇に対する反応性が亢進し、アルギニン枯渇後にアルギニン添加した時の運動能が正常細胞と比較して亢進していた。この理由として mTOR complex の構成メンバーの中で唯一 Negative regulator として知られている DEPTOR の発現が ASS1 ノックアウト細胞では低下していること、ASS1 が DEPTOR の発現を epigenetic に制御していることを明らかにした。

また、リンパ腫においても腫瘍の多様性を検討した。Lymphoplasmacytic lymphoma (LPL) は、B 細胞と形質細胞の両者の性格をもつリンパ腫である。LPL 細胞株を検討したところ、B 細胞の性格も形質細胞の性格も持たない未熟な細胞群が少数存在し、この細胞群はアポトーシス耐性、活性酸素除去能の亢進を示すことがわかった。そこで、この細胞群で高発現する因子を検討したところ、ケモカインである CXCL12 のレセプターである CXCR7 の発現が亢進していることがわかった。低酸素状態では CXCL12 の発現が亢進し、CXCR7 を活性化して B 細胞マーカー陰性、形質細胞マーカー陰性の分画が増加した。このことはケモカインを介する腫瘍幹細胞制御システムがリンパ腫にはあることを示唆する。

本研究により種々の因子が腫瘍幹細胞を制御し、腫瘍の多様性に関与していることがわかった。

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12件)

Wang Y, Jiang Y, Tian T, Hori Y, Wada N, Ikeda J, Morii E. Inhibitory effect of Nodal on the expression of aldehyde dehydrogenase 1 in endometrioid adenocarcinoma of uterus. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Nov 1;440(4):731-6. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.09.139. Epub 2013 Oct 8. PubMed PMID: 24120944. 査読あり

Wada N, Zhan M, Hori Y, Honma K, Ikeda J, Morii E. Characterization of subpopulation lacking both B-cell and plasma cell markers in Waldenstrom macroglobulinemia cell line. *Lab Invest*. 2014 Jan;94(1):79-88. doi: 10.1038/labinvest.2013.129. Epub 2013 Nov 4. PubMed PMID: 24189269. 査読あり

Wang Y, Jiang Y, Ikeda J, Tian T, Sato A, Ohtsu H, Morii E. Roles of histamine on the expression of aldehyde dehydrogenase

1 in endometrioid adenocarcinoma cell line. *Cancer Med.* 2014 Oct;3(5):1126-35. doi: 10.1002/cam4.296. Epub 2014 Jul 10. PubMed PMID: 25045085; PubMed Central PMCID: PMC4302664. 査読あり

Zhan M, Hori Y, Wada N, Ikeda J, Hata Y, Osuga K, Morii E. Angiogenic Factor with G-patch and FHA Domain 1 (AGGF1) Expression in Human Vascular Lesions. *Acta Histochem Cytochem.* 2016 Apr 28;49(2):75-81. doi: 10.1267/ahc.15035. Epub 2016 Apr 5. PubMed PMID: 27222614; PubMed Central PMCID: PMC4858542. 査読あり

Wada N, Ikeda J, Nojima S, Tahara S, Ohshima K, Okuzaki D, Morii E. Requirement of CXCL12-CXCR7 signaling for CD20(-) CD138(-) double-negative population in lymphoplasmacytic lymphoma. *Lab Invest.* 2016 May;96(5):517-25. doi: 10.1038/labinvest.2016.28. Epub 2016 Feb 15. PubMed PMID: 26878134. 査読あり

Zhan M, Ikeda JI, Wada N, Hori Y, Nojima S, Tahara S, Ueda Y, Yoshino K, Kimura T, Morii E. Prognostic significance of a component of the Hippo pathway, TAZ, in human uterine endometrioid adenocarcinoma. *Oncol Lett.* 2016 Jun;11(6):3611-3616. Epub 2016 Apr 20. PubMed PMID: 27284362; PubMed Central PMCID: PMC4887927. 査読あり

Tahara S, Nojima S, Ohshima K, Hori Y, Kurashige M, Wada N, Ikeda J, Morii E. S100A4 accelerates the proliferation and invasion of endometrioid carcinoma and is associated with the "MELF" pattern. *Cancer Sci.* 2016 Sep;107(9):1345-52. doi: 10.1111/cas.12999. Epub 2016 Aug 12. PubMed PMID: 27348205; PubMed Central PMCID: PMC5021035. 査読あり

Ikeda JI, Wada N, Nojima S, Tahara S, Tsuruta Y, Oya K, Morii E. ID1 upregulation and FoxO3a downregulation by Epstein-Barr virus-encoded LMP1 in Hodgkin's Lymphoma. *Mol Clin Oncol.* 2016 Nov;5(5):562-566. Epub 2016 Sep 8. PubMed PMID: 27900085; PubMed Central PMCID: PMC5103872. 査読あり

Morii E. Heterogeneity of tumor cells in terms of cancer-initiating cells. *J Toxicol Pathol.* 2017 Jan;30(1):1-6. doi: 10.1293/tox.2016-0056. Epub 2016 Sep 25. Review. PubMed PMID: 28190919; PubMed Central PMCID: PMC5293686. 査読あり

Ikeda JI, Kohara M, Tsuruta Y, Nojima S, Tahara S, Ohshima K, Kurashige M, Wada N, Morii E. Immunohistochemical analysis of the novel marginal zone B-cell marker IRTA1 in malignant lymphoma. *Hum Pathol.* 2017 Jan;59:70-79. doi:

10.1016/j.humpath.2016.09.011. Epub 2016 Sep 22. PubMed PMID: 27666766. 査読あり
11) Kusumoto H, Shintani Y, Kanzaki R, Kawamura T, Funaki S, Minami M, Nagatomo I, Morii E., Okumura M. Podocalyxin influences malignant potential by controlling epithelial-mesenchymal transition in lung adenocarcinoma. *Cancer Sci.* 2017 Mar;108(3):528-535. doi: 10.1111/cas.13142. PubMed PMID: 28004467; PubMed Central PMCID: PMC5378270. 査読あり

12) Ohshima K, Nojima S, Tahara S, Kurashige M, Hori Y, Hagiwara K, Okuzaki D, Oki S, Wada N, Ikeda JI, Kanai Y, Morii E. Argininosuccinate Synthase 1-Deficiency Enhances the Cell Sensitivity to Arginine through Decreased DEPTOR Expression in Endometrial Cancer. *Sci Rep.* 2017 Mar 30;7:45504. doi: 10.1038/srep45504. PubMed PMID: 28358054; PubMed Central PMCID: PMC5371991. 査読あり

〔学会発表〕(計3件)

森井英一 「腫瘍の多様性を組織でみる」第56回日本組織細胞化学会 招待講演 2015年10月4日 関西医科大学

森井英一 「腫瘍幹細胞とニッチ」第16回日本毒性病理学会教育セミナー招待講演 2015年11月14日 大阪市立大学

森井英一 「腫瘍の多様性について、リンパ腫を中心に」北摂血液疾患談話会特別講演 2015年11月14日 阪急エコルテホール

〔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 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.med.osaka-u.ac.jp/introduction/research/pathology/histopathology>

6. 研究組織

(1)研究代表者

森井 英一 (MORII Eiichi)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：10283772

(2)研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3)連携研究者

なし ()

研究者番号：

(4)研究協力者

なし ()