

対象研究テーマ：in vitro がん幹細胞モデル系の開発に関する研究

研究期間：2012年4月1日～2013年3月31日

研究題目：がん幹細胞と非がん幹細胞間の細胞競合

研究代表者：北海道大学遺伝子病制御研究所 教授 藤田恭之

研究成果の概要：

がん幹細胞・非がん幹細胞の関係を細胞競合の観点から考察するため、遺伝学的背景のできるだけ似通ったがん幹細胞・非がん幹細胞モデルの樹立を試みた。本年度は特に、Rb 遺伝子のステータスの異なるがん細胞株群を樹立し、未分化性、浸潤・転移能、代謝等の面から、がん幹細胞を特徴付けると予想された表現型に差違が観察されるかを検討した。細胞競合の測定のためには、一定期間がん幹細胞様の表現型が維持される必要がある。本年度は、2週間程度がん幹細胞様の表現型を安定的に示す細胞集団を濃縮・維持することに成功し、細胞競合測定の準備が整った。

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：がん幹細胞、細胞競合

1. 研究開始当初の背景

1980年頃に最初の癌遺伝子 *Src* が発見されて以来、数多くの癌遺伝子あるいは癌抑制遺伝子が同定されてきた。そして、それらの変異がどのように細胞のシグナル伝達や性状に影響を与えるかについて多くのことが明らかにされてきた。しかし、ヒトの正常細胞層に癌が生じた際に、癌細胞と直接それを取り囲む正常細胞の間で何が起こるかについては明らかでなく、癌研究のブラックボックスとなっている。ショウジョウバエにおいては、正常上皮細胞と変異細胞が共存した時に、両者の境界でさまざまな現象が起こることが複数報告されている。特に、正常細胞と変異細胞が生存を争う細胞競合と呼ばれる現象は現在非常にホットなトピックとなっている。しかし、脊椎動物でも同様の現象が起こるかについては明らかでなかった。我々は、テトラサイクリン依存性に癌タンパク質 (Ras、Src など) の発現あるいは癌抑制タンパク質 (Scribble など) の shRNA の発現を誘導できる上皮培養細胞系を確立し、哺乳類でも正常上皮細胞と変異細胞間で様々な現象が起こることを世界で初めて明らかにしてきた (Hogan et al., 2009, Nature Cell Biology; Tamori et al., 2010, PLoS Biology など)。また最近の研究で、変異細胞と正常細胞間の細胞競合関係を制御するシグナル伝達経路が少しずつ明らかになってきた。

2. 研究の目的

がん幹細胞仮説は、腫瘍が一樣な細胞の集まりではなく、クローン (腫瘍原性) 維持を担保し、組織幹細胞様の役割を担うがん幹細胞と、この細胞から恐らくは非対称性分裂を経て産み出され、腫瘍の大半を形成する、分化した非がん幹細胞に分かれると主張する。この仮説は、がんの再発や転移あるいは薬剤耐性を説明する上で大変役立つ。がん幹細胞は、専ら、細胞周期静止を誘導あるいは分化を阻害するニッチを提供する周辺正常細胞との関係において研究されている。しかし、腫瘍の大半を占めるとされる非がん幹細胞とがん幹細胞の間にも生物学的に重要な相互関係が存在する可能性がある。この観点からなされた研究は申請者の知るところ皆無である。我々は、主として細胞競合という視点から、腫瘍内不均一性の意義の解明に挑戦することを目指す。

3. 研究の方法

高橋らは、Rb-p53 欠損マウス由来の細胞から、そのがん幹細胞様の挙動が、p53 アレルの変化に依存して、劇的に変化する細胞系を樹立している。p53 アレル数の異なる2群の細胞を様々な条件で混合し、細胞競合を観察することができる。2群の細胞間で、顕著な細胞競合関係が観察されるならば、我々が従来見出してきた細胞競合

シグナルを測定してみる。この実験系においては、2群の細胞間において観察される様々な相互関係を p53 アレルへの依存性という点において整理することができるので、観察された現象の分子メカニズムに切り込むことが容易である。また、不均一な腫瘍細胞集団におけるがん幹細胞様細胞群のダイナミックな挙動を解析することによって、がん転移の新しい機序の解明に繋がる可能性も秘める。

4. 研究成果

平成 24 年度の高橋らとの共同研究において、いくつかの p53 欠損マウスに独立に発生した soft tissue sarcoma を基盤に、Rb のみの追加的不活性化によって、がん幹細胞らしい様々な表現型を誘導することの出来る系を作製した。がん幹細胞らしい表現型とは、分化マーカーの消失、EGF-bFGF 培地における自己複製能亢進、血清含有培地における BrdU 取り込み低下、浸潤・転移能亢進、解糖・脂肪酸合成経路等の変化、ペントースリン酸経路の抑制等であった。これらの表現型は Rb の再構成によって顕著に抑制される。また、Rb の再構成は、このような細胞の正常培地における増殖にはほとんど影響を与えなかった。また、細胞競合の測定のためには、一定期間がん幹細胞様の表現型が維持される必要がある。本年度は、2 週間程度がん幹細胞様の表現型を安定的に示す細胞集団を濃縮・維持することに成功した。この系を利用し、Rb の活性と幹細胞様の挙動が異なる 2 群の細胞に異なるラベルを施し細胞競合測定する準備に入っている。さらに、高橋らは、乳腺上皮初期培養と mammosphere を利用し、上記と似通った実験系を上皮細胞においても確立しつつある。細胞競合は、正常・変異上皮細胞をもととの観察対象としてきたため、好適である。来年度も共同研究を継続する予定であるので、この系の完成を待って、細胞競合を測定する。

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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[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]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北海道大学遺伝子病制御研究所・教授
藤田恭之

(2) 研究分担者

北海道大学遺伝子病制御研究所・助教
梶田美穂子

北海道大学遺伝子病制御研究所・助教
加藤洋人

北海道大学遺伝子病制御研究所・
博士研究員 山内 肇

北海道大学遺伝子病制御研究所・
修士 2 年 大岡敦子

(3) 本研究所担当者

腫瘍分子生物学・教授 高橋智聡