

研究題目 腫瘍血管ニッチを構成する分子システム実体の解明

研究組織

研究代表者：木戸屋 浩康（大阪大学微生物病研究所）

共同研究者：竹本 龍也（徳島大学先端酵素学研究所）

研究分担者：林 弓美子（大阪大学微生物病研究所）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

腫瘍を構成する癌細胞が多様な細胞群から構成されることは古くから認識されているが、近年、一部の固形癌において幹細胞様の表現型を示す細胞群が存在することが明らかになりつつある。この「癌幹細胞」とも呼ばれる悪性の癌細胞群は、既存の抗癌剤や放射線療法に対して強い抵抗性を持つことが示されており、がん治療の障壁となっていることが示唆されている。そのため、癌幹細胞を標的とする薬剤の開発が望まれるが、この細胞の特性を考えると直接的な治療薬の開発は困難であると予想される。一方で、癌幹細胞においても、正常組織の幹細胞と同様に「ニッチ」と呼ばれる微小環境からの分子シグナルが幹細胞性の維持に重要な役割を果たすことが知られている。したがって、癌幹細胞ニッチを破壊させることにより、間接的に癌幹細胞を排除する治療法を開発できる可能性がある。

申請者は、癌幹細胞ニッチを構成する組織微小環境の中でも「血管ニッチ」に注目し、癌幹細胞に作用する制御因子としては Wnt 系に着目した。Wnt signal は造血幹細胞などの正常組織の血管ニッチにおいて重要性が示されているが、乳腺腫瘍の癌幹細胞でも働いていることが報告されている(Holland JD, et al. *Curr Opin Cell Biol.* 2013)。さらに、Wnt 系の分子群の中でも、血管内皮細胞にて発現するリガンド分子に焦点を絞り、CSC1(未公表データのため仮名)を選定した。CSC1 の遺伝子欠損マウスでは造血幹細胞の維持が出来なくなる事が報告されており、CSC1 はニッチ分子として幹細胞への制御に働いていることが示されている。

[1-2]研究の方法・経過

本研究では、腫瘍血管ニッチを標的した新規の癌治療法の確立のため、癌幹細胞の血管ニッチを構成する分子システムの解析を進める。候補分子として選定した CSC1 は、腫瘍組織において一部の血管内皮細胞に特異的に発現することが免疫染色と遺伝子発現解析から明らかになっている。さらに、CSC1 を発現する血管の近傍には、CD44 を発現する癌幹細胞が多数存在していることが組織学的な解析から確認できている。これらの結果は、腫瘍中にはニッチとなる血管が局所的に存在し、CSC1 を産生することで癌幹細胞の生存・維持に働いている可能性を示唆している。この仮説を検証するため、CSC1 遺伝子を欠損したマウスを作成し、癌の増殖や抗がん剤への治療抵抗性を調べ、さらには癌幹細胞への影響を解析する。

CSC1 の遺伝子を欠損するマウスは本共同利用研究の「ゲノム編集マウス作製」によって作成した。CSC1 遺伝子欠損マウスに培養腫瘍細胞を移植することによって担癌マウスを作成し、その腫瘍増殖に変化が起きるかを経時的に測定することで検討した。また、形成された腫瘍を回収して腫瘍組織切片を作成し、癌幹細胞マーカーと血管内皮マーカーや増殖マーカーでの染色を行い、血管ニッチや癌幹細胞の状況を確認した。また、腫瘍組織の細胞を回収してフローサイトメトリーにて解析することにより、癌幹細胞の数や分化・増殖への影響を解析した。これらの結果から、CSC1 が腫瘍血管ニッチ因子として癌幹細胞の維持にどのように働いているかを検討した。

【2】研究成果

[2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

CSC1 遺伝子欠損マウスに LLC 肺がん細胞および MC38 大腸癌細胞を皮下移植したところ、野生型と比較して顕著な増殖低下が確認された。特に特徴的であったのは、腫瘍移植後の初期(10 日目)には腫瘍増殖には差がないのに対して、後期になるにつれて増殖が低下していた点である。その原因について解析するため、腫瘍組織の細胞を回収してフローサイトメトリーにて解析したところ、CSC1 遺伝子欠損マウスでは腫瘍移植後の初期には癌幹細胞(CD44+、CD133+)の割合が増殖していたものの、その後には一転して減少するという結果が確認された。さらに、細胞周期について検討するため各種制御因子の発現を解析すると、CSC1 遺伝子欠損マウスから回収した癌幹細胞では細胞周期の促進分子の発現が亢進していることが明らかとなった。これらの結果は、CSC1 を欠損することで、癌幹細胞の休止状態を維持することができず、増殖が亢進して癌幹細胞が尽きてしまっていることを示唆している。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

一般的に行われている化学療法による癌治療においては、抗がん剤は癌細胞の多数を死滅させるが、癌幹細胞は休眠状態にあるために抗がん剤による効果から逃れ、再発や治療抵抗性の獲得に関与することが報告されている。そのため、癌の根治を達成するためには癌幹細胞を標的とした治療法の開発が必要とされている。本研究では、癌幹細胞の休眠状態の維持に CSC1 が働いている可能性を示し、その抑制が癌幹細胞の細胞増殖を誘導する事を明らかにした。この結果は、CSC1 の阻害が癌幹細胞を休眠状態から逸脱させて、抗がん剤が作用しやすい状況へと変化させる可能性を示唆している。今後、CSC1 遺伝子欠損マウスの胆癌モデルに対して抗がん剤を投与して治療効果についても検討することで、この仮説の検証を進める予定である。癌幹細胞の治療標的としての CSC1 の有効性が示されれば、画期的な癌治療薬の開発に繋がるとして期待される。

【3】主な発表論文等

[3-1] 論文発表

1) Tsukada Y, Muramatsu F, Hayashi Y, Inagaki C, Su H, Iba T, Kidoya H, Takakura N. An in vivo model allowing continuous observation of human

vascular formation in the same animal over time. Sci Rep. 11(1):745. 2021

2) Hsieh HY, Jia W, Jin ZC, Kidoya H, Takakura N. High expression of PSF1 promotes drug resistance and cell cycle transit in leukemia cells. Cancer Sci. 111(7):2400-2412. 2020.

[3-2] 学会発表

1) 木戸屋 浩康、骨髄血管のアンジオクラインファクターが統制する造血系の正常と異常、第 19 回日本再生医療学会総会、Web 開催、2020 年 5 月 18 日～29 日、2020

2) Hiroyasu Kidoya、Structural and functional dynamics of vascular network formation、第 42 回日本血栓止血学会学術集会、Web 開催、7 月 1 日～31 日、2020 年

3) Hiroyasu Kidoya、Identification of novel ribonuclease regulating self-renewal and quiescence of hematopoietic stem cells、Web 開催、September 9 - October 10, 2020

4) 木戸屋 浩康、空間的生体内イメージング解析が示す真の腫瘍血管形成過程、第 93 回日本生化学会大会、Web 開催、9 月 16 日、2020 年

5) 木戸屋 浩康、微小環境変化への適応を生み出す腫瘍血管のダイナミズム、第 4 回 Neurovascular meeting、Web 開催、3 月 19 日、2021 年

【4】今後の課題等

本研究にて CSC1 が癌幹細胞の休眠状態の制御に働くことが示されたが、その分子機構については明らかになっていない。CSC1 を標的としたがん治療薬の開発に向けては、CSC1 が正常幹細胞を含めてどのような選択性を持って作用しているかを詳細に解明する必要がある。今後は CSC1 による癌幹細胞の生存維持の分子機構についての解析を進める。CSC1 は Wnt シグナル経路に作用することが示唆されているため、 β -カテニン経路、PCP 経路、Ca²⁺経路といった経路の活性化について解析を進める予定である。