

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「がん幹細胞を標的とした根治療法の開発」
(幹細胞ストレス応答シグナル制御によるがん根治療法の開発)
2. 研究開発代表者：平尾敦
(国立大学法人金沢大学 がん進展制御研究所 遺伝子・染色体構築研究分野)
3. 研究開発の成果

本研究では、がん幹細胞特異的分子あるいはその特性を規定する分子の同定を進めるとともに、これらを標的とした薬剤候補の探索・創出により、新規がん根治療法を創出することを目標とした。金沢大学では、FOXO/mTOR経路を中心とした幹細胞ストレス応答シグナル制御による新規治療法の開発に取り組んだ。また、肝がん治療耐性機序を明らかにし、その克服に向けた新規治療法の開発を行った。国立長寿医療研究センター、椛山女学園大学では、幹細胞ストレス応答シグナル制御によるがん根治療法の開発を目指した新規治療法の開発における分担業務として、FOXO活性調節制御機構の解明により新たな標的分子の探索を行った。

1) FOXO 阻害剤候補化合物の探索、薬効評価および作用機序の解明

FOXO 転写活性を指標としたスクリーニング系の構築を行い、合成化合物、天然物、既存薬などを評価した。選択された化合物の中には、FOXO ファミリーの下流遺伝子群の変動とともに、明らかな白血病細胞分化誘導効果を示すものが存在するを見いだした。また、化合物の中には、免疫不全マウスの皮下に移植した白血病細胞株の細胞増殖の抑制と分化誘導効果を示すものもあり、FOXO 活性阻害を指標とした化合物探索が、白血病幹細胞を標的とした新規治療法の開発に有用であることが判明した。

2) mTOR 活性化腫瘍に有効性を示す化合物探索

マウス腫瘍モデル（白血病および脳腫瘍）を用いて、腫瘍の悪性化と mTOR シグナルの関連を検討した。その結果、mTOR 複合体 1 の活性化は、リンパ系白血病の発症に必須であることを見いだした。また、脳腫瘍モデルを用いて、mTOR 複合体 1 活性化状態特異的に強い抗腫瘍効果を示す化合物のスクリーニングを行った。選択された化合物の中には、特定の疾患の治療薬（既存薬）が複数含まれており、今後、臨床的な治療応用の可能性が示唆された。以上の結果より、本腫瘍モデルを用いた化合物スクリーニングは、新規の脳腫瘍治療薬を選択できる有用な方法であることが判明した。

3) EpCAM を指標とした肝がん治療耐性機序解明

肝がん治療耐性機序の解明を目的として、免疫組織化学にて EpCAM の発現が評価された肝臓がん症例について予後を前向きに調査した。その結果、EpCAM の発現を示す「幹細胞様肝がん」は術後早期に再発をきたし死亡に至る悪性度の高い肝細胞がんサブタイプであることが確認された。さらに、EpCAM 陽性 AFP 陽性肝細胞がん細胞株である HuH7、HuH1 および新鮮外科切除標本から単一浮遊細胞液を調製し作成した EpCAM 陽性 AFP 陽性肝がん細胞を用いた検討の結果、5-FU 処理に対して抵抗性を有する細胞では肝がん幹細胞マーカー、幹細胞マーカー、上皮間葉転換マーカーの遺伝子発現が亢進する傾向が認められた。さらに、ヒストン脱アセチル化酵素活性の制御が、EpCAM 陽性肝がんの維持に寄与していること、クロマチンリモデリング酵素が EpCAM 陽性肝がんを高発現し予後不良因子であることを見出した。これらの知見から、幹細胞マーカーである EpCAM を指標としたアプローチは、肝がん治療向上のための新規治療法の開発に有用であることを明らかとなった。

4) FOXO 活性調節制御機構の解明

FOXO 活性調節制御機構の解明に取り組み、MST1 が FOXO リン酸化（ヒト Ser209 およびマウス Ser208）を介して、酸化ストレスに応答した FOXO3 の活性化に重要であることを見いだした。このような新規の FOXO 活性調節制御機構の解明が、治療応用につながる可能性を見いだした。

5) プログラムの総合的推進

代表者会議や個別課題についての打ち合わせを実施し、チーム全体の研究の進捗を把握し、効率のよい研究を推進した。