

## 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」  
(グリオーマ及びスキルス胃がん幹細胞の制御による治療法の開発)
2. 研究開発代表者： 鯉沼 代造 (国立大学法人東京大学 大学院医学系研究科分子病理学)
3. 研究開発の成果

- (1) TGF- $\beta$  シグナル経路の修飾分子の制御についての検討 (東京大学 鯉沼代造)

TGF- $\beta$  の作用を調節する BMP (bone morphogenetic protein) がグリオーマ幹細胞に与える作用には内在性の負の調節機構や上皮間葉転換関連分子の誘導によるがん細胞の浸潤性獲得機構が存在して治療効果を妨げる可能性があることが明らかになった。このためグリオーマ幹細胞における BMP 新規標的遺伝子や、シグナル経路の修飾分子の新規変異を同定し解析した。

- 1-1 新規標的遺伝子の検討

BMP の新規標的遺伝子 X1 の発現をノックダウンしたグリオーマ幹細胞を用いると移植脳腫瘍形成が亢進しマウスの生存期間が短縮した。この遺伝子が BMP によるグリオーマ幹細胞の抑制作用の一翼を担うことが明らかになった。

- 1-2 新規変異遺伝子の検討

グリオーマ幹細胞で同定した新規変異遺伝子 X2 に正常細胞を形質転換させる作用があること、恒常活性化状態にあり、ある細胞内シグナルの亢進が見られることを明らかにした。

この変異遺伝子 X2 を発現するグリオーマ細胞を用いると移植脳腫瘍が増大した。この遺伝子に対する阻害剤の投与によりマウスの生存期間が延長した。以上よりこの変異遺伝子が腫瘍形成を促進していることが明らかになった。

- (2) 可溶性 TGF- $\beta$  受容体複合体等の検討 (東京大学 鯉沼代造)

細胞膜受容体複合体の 3 次元構造に着目し、リコンビナント可溶性 TGF- $\beta$  受容体複合体を創製し、in vitro で期待されるシグナル阻害活性を有することを確かめた。この可溶性 TGF- $\beta$  受容体複合体を悪性のトリプルネガティブ乳がん細胞に発現させて、in vivo 腫瘍形成能への影響の評価を行った。その結果、ヌードマウスの尾静脈注により形成させた転移性肺腫瘍の大きさが縮小することが分かった。

- (3) TGF- $\beta$  経路と下流因子を標的としたスキルス胃がん等制御についての検討 (東京大学 江幡正悟)

TGF- $\beta$  の下流因子 X3 の発現をノックダウンした肺腺がん細胞、トリプルネガティブ乳がん細胞を樹立した結果、in vitro において運動能・浸潤能・増殖能が低下した。さらに X3 が mTOR シグナルを増強することが明らかになった。

この X3 ノックダウン肺腺がん・乳がん細胞をそれぞれマウスに移植した結果、腫瘍形成能が低下した。またがん細胞パネルにおける X3 の発現と薬剤感受性に関連のある抗がん剤のスクリーニングを行い、既存抗がん剤 X4 を同定した。X4 は X3 発現抑制の場合と同一のシグナル経路を抑制することが分かった。

- (4) ESRP1/2 の悪性形質抑制機構の解明 (山梨大学 宮澤恵二)

ESRP1 および ESRP2 は EMT を抑制する機能をもつ RNA スプライシング因子であり、TGF- $\beta$  による EMT 誘導時に発現低下することがわかっている。このうち ESRP1 をノックダウンすると、ヒト頭頸部がん細胞の足場非依存性増殖が促進されることを見いだした。ESRP1 をノックダウンすると発現上昇する標的分子の一つとして X5v が知られている。X5v はタンパク質 X5 のアイソフォームであり、スプライシング変化により生成される。そこで ESRP1 と X5v を同時にノックダウンしたところ、足場非依存性増殖の促進は見られなくなった。一方、高悪性度の乳がん細胞株 MDA-MB-231 は ESRP1 の発現が低いことが知られている。そこで、X5v をノックダウンしたところ、足場非依存性増殖が低下した。以上のことから X5v が標的分子として適していることが明らかになった。