

## 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」  
(Hes1, Dcamk11 を標的としたがん幹細胞特異的治療法の開発)
2. 研究開発代表者： 国立大学法人京都大学 大学院総合生存学館 特定教授 千葉 勉
3. 研究開発の成果：

本研究では、Hes1 と Dcamk11 の二つのシーズに対して、これらを直接の標的とする核酸医薬、抗体等の開発を提唱した。そのために、難治性消化器がんのモデルマウス、及び簡便なスクリーニング系であるスフェロイド培養系の確立を経て、以下の成果を得た。

#### ①Hes1 特異的 siRNA または Hes1 特異的阻害化合物の検証

Hes3、5 と重複しない Hes1 特異的な siRNA を作成した。そのうえで、同 siRNA が大腸がん、膵がんなどの消化器がん細胞において、幹細胞性を低下させるとともに、細胞分化を誘導することを確認した。また、siRNA デリバリーのための高分子ナノミセル開発を行い、その高い伝達、持続効率を確認した。しかし、消化器がんモデル動物に対する核酸医薬デリバリーの試みは、有効性を確認できなかった。さらに、Hes3、5 と重複せずに Hes1 のみを特異的に阻害する小分子化合物のスクリーニングを研究支援基盤の支援により行ったが、ヒット化合物の同定に至らなかった。一方、既存の Hes1 特異的阻害効果をもつ小分子化合物は、消化器がん細胞株において、細胞の増殖を抑制し、幹細胞性を減少させることを確認したものの、マウス消化器がんモデルを用いた検討では、有意な消化器腫瘍の退縮、増殖抑制を確認できなかった。ただし、腸上皮細胞における Hes1 特異的な欠失により、ApcMin/+マウス腸腫瘍数が減少することを確認した。そのため、核酸医薬、化合物の開発へ向けた課題が残るものの、Hes1 特異的阻害が、将来的な抗がん治療へ向けた方策として可能性を有すると考えられた。

#### ②Dcamk11 陽性がん幹細胞に対する抗体療法へ向けた検討

Dcamk11 タンパク C 末端領域を合成し、それに対する 42 クローンのハイブリドーマを樹立した。その後、Dcamk11 タンパクに対する抗 Dcamk11 モノクローナル抗体の親和性を検討し、15 クローンまでモノクローナル抗体候補を絞り込んだ。しかし、それら抗体はマウス腸腫瘍組織、ヒト大腸がん組織中の Dcamk11 陽性細胞に対して、既存の抗体を上回る親和性を示さなかった。その原因として、精製した Dcamk11 タンパクよりも組織中の Dcamk11 タンパクへの抗体到達が困難である可能性が考えられた。

#### ③Dcamk11 陽性がん幹細胞特異的因子の同定とそれを利用した治療法の探求

効率的な Dcamk11 陽性がん幹細胞傷害のために、ApcMin/+マウス腸腫瘍から Dcamk11 陽性腫瘍幹細胞を単離し、Dcamk11 陽性細胞に特異的に発現する新規のキナーゼ、膜タンパク等をマイクロアレイ法により同定した。その結果、創薬標的となりやすいキナーゼ類を 2 種 (X、Y)、細胞表面タンパク質を 2 種同定した。免疫染色法で、それら因子が ApcMin/+マウス腸腫瘍中の Dcamk11 陽性腫瘍細胞に発現することを確認した。そのうえで、ApcMin/+マウスに対して、キナーゼ X または Y の阻害剤を投与したところ、キナーゼ X 阻害によってマウス腸腫瘍が減少することを確認した。したがって、Dcamk11 陽性がん幹細胞を標的とする抗がん治療の可能性が示された。

以上の研究を通じて、Hes1 を標的とするがん幹細胞標的治療実現の可能性を示すとともに、Dcamk11 に着目したがん幹細胞標的治療に関して具体的な創薬への道筋をつけることができた。