

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： スキルスがんにおける癌幹細胞悪性形質獲得機構に関する研究
2. 研究開発代表者： 土屋 輝一郎（東京医科歯科大学医学部附属病院 消化器内科）
3. 研究開発の成果：

代表者の土屋は、大腸癌細胞株における粘液産生獲得機構とスキルス性獲得機構の関連を明らかとする。粘液産生に必須である *Atoh1* 発現大腸癌細胞株を構築済みであり、遊走能が亢進することを確認した。さらにマイクロアレイにて遊走能亢進に関連する遺伝子群の抽出を行い、*ZEB1* が *Atoh1* 発現による遊走能亢進にて同時に発現上昇することを発見した。今後は、*siRNA* にて遊走能機能に関与するかを確認する予定である。また正常初代培養細胞を用いて、長期炎症暴露状態を体外で再現し、癌化過程の形質転換機構とスキルス性獲得の関連性を明らかとする。さらに幹細胞・癌幹細胞の可視化を試み、*Lgr5* プロモーター下 *GFP* 発現ベクターをレンチウイルスにて感染させ、幹細胞を可視化に成功している。

分担者の稲澤は当該年度に目標とした *EMT* 可視化システムの構築ならびに *EMT* 促進性 *miRNA* (*miR-544a*)の同定に成功した。これら研究成果は、がんの悪性化機序を解明しただけではなく、核酸医薬の発展にも資するものである。今後は *EMT* を基軸としたゲノム・エピゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム等のデータを統合し、多階層オミクス解析を施行する事により印環細胞癌を含む胃癌全体の浸潤・転移機構および幹細胞性を明らかにしていく予定である。

分担者の石川は複数のがんの *Xenograft* の組織を用いてトランスクリプトームシーケンシングを行い、がん細胞と間質細胞との発現プロファイルを行った、がん細胞と間質細胞との相互作用シグナルの特定を試みた。トランスクリプトの定量化の補正アルゴリズムの改良を加え、重要な相互作用を特定するいくつかの指標を導入することによりスキルス胃癌解析の体制を整えた。

分担者の田中・植竹・小嶋はスキルス胃癌マウスモデルおよびヒトスキルス胃癌 *PDX* の初代培養の生物学的特性に基づいた癌幹細胞の分子機構の解明を目指している。スキルス胃癌マウスから培養細胞系を樹立し、転写因子 *Twist1* の発現に関わる新規エピゲノム変化を明らかにして、英文論文として報告した。現在、スキルス胃癌マウスから樹立した癌幹細胞様形質をもつ培養細胞系を利用し、新規抗癌剤の開発を目指して解析している。またヒトスキルス胃癌 *PDX* から、スキルス胃癌幹細胞オルガノイド培養系を *R-Spondin1* 添加などにより樹立し、幹細胞機能を解析している。スキルス胃癌幹細胞の初代培養系を用いて、癌幹細胞で機能する情報伝達系を阻害剤処理により同定し、増殖抑制剤の有効性検証を進めている。

分担者の北川は *Minichromosome maintenance 2 (MCM2)* 分子による DNA 損傷誘発アポトーシス増強の作用機構を解明し、悪性形質を獲得した癌細胞に対して *MCM2* の作用を応用した治療戦略を開発するための基礎的な研究を行い、*MCM2* 分子を高発現している悪性度の高い癌細胞特異的に DNA 損傷誘発アポトーシスを誘導する実験系を開発した。

分担者の江石はピロリ菌感染と新規遺伝子 *CHAC1* 発現との関連を検討したところ、病理組織学的解析においてピロリ菌感染部位で *CHAC1* の発現増強が認められた。さらに壁細胞におけるピロリ菌感染および新規遺伝子 *CHAC1* の発現を確認したが、今後はスキルス胃癌発生母地を想定した壁細胞の前駆幹細胞についてもピロリ菌感染の有無やそれに関する *CHAC1* の発現について解析を行う予定である。

以上より、研究代表、各分担とも当初のマイルストーンを十分に遂行した成果が得られている。