

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 次世代がん医療創生研究事業
(英語) Project for Cancer Research and Therapeutic Evolution

研究開発課題名： (日本語) がん幹細胞を標的とした分子標的薬の創製
(英語) Development of molecular targeted drugs against cancer stem cells.

研究開発担当者
所属 役職 氏名： (日本語) 国立大学法人東京大学分子細胞生物学研究所 教授 秋山 徹
(英語) Institute of Molecular and Cellular Biosciences
The University of Tokyo, Professor, Tetsu Akiyama

実施期間： 平成 28 年 5 月 25 日から平成 29 年 3 月 31 日

分担研究
開発課題名： (日本語) TET1、SIRT2阻害剤の開発及び課題全般の推進、統括
(英語) Development of TET1 and SIRT2 inhibitors. Project management..

研究開発代表者
所属 役職 氏名： (日本語) 国立大学法人東京大学分子細胞生物学研究所 教授 秋山 徹
(英語) Institute of Molecular and Cellular Biosciences
The University of Tokyo, Professor, Tetsu Akiyama

分担研究
開発課題名： (日本語) TET1、SIRT2阻害剤及びCRISPR/Cas9ライブラリーを用いたがん幹細胞の
造腫瘍能に必須な遺伝子の同定及び標的分子薬の開発
(英語) Development of TET1 and SIRT2 inhibitors. Identification of genes required for the
tumorigenicity of cancer stem cells.

研究開発分担者
所属 役職 氏名： (日本語) 国立大学法人東京大学分子細胞生物学研究所 助教 林 寛敦
(英語) Institute of Molecular and Cellular Biosciences
The University of Tokyo, Research associate, Tomoatsu Hayashi

分担研究 (日本語) 大腸がんの造腫瘍性に重要なRNA結合タンパク質D8の阻害剤の開発
開発課題名 : (英 語) Development of inhibitors targeting the RNA-binding protein D8

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学分子細胞生物学研究所 助教 山角 祐介
所属 役職 氏名 :

(英 語) Institute of Molecular and Cellular Biosciences
The University of Tokyo, Research associate, Yusuke Yamazumi

分担研究 (日本語) 膠芽腫幹細胞、大腸がん幹細胞で高発現し造腫瘍能に重要な役割を果たす
遺伝子の同定とその分子標的薬の開発

開発課題名 : (英 語) Identification of genes required for the tumorigenicity of glioblastoma stem cells
and colon cancer stem cells.

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学分子細胞生物学研究所 助教 谷上 賢瑞
所属 役職 氏名 :

(英 語) Institute of Molecular and Cellular Biosciences
The University of Tokyo, Research associate, Kenzui Taniue

II. 成果の概要（総括研究報告）

（和文）

様々な腫瘍で長鎖ノンコーディング RNA (lncRNA) の発現異常がみられる。我々は、大腸がんで発現の亢進している新規 lncRNA を複数見出し、それらが細胞タンパク質と複合体を形成して機能し、大腸がん細胞の増殖と造腫瘍性に重要な役割を果たしていることを見出した。例えば、それらの lncRNA の発現を抑制したがん細胞を免疫不全マウスに移植すると、造腫瘍能の著しい低下が観察された (*Oncogene*, 2017; *Cell Rep.* 2016, *PNAS*, 2016; *PNAS*, 2016)。これらの lncRNA を標的とする siRNA や antisense oligonucleotides のような核酸医薬は大腸がんの治療に有用である可能性がある。

がん幹細胞は、強い造腫瘍性と自己複製能をもち、がん化、再発、転移、制がん剤耐性などの元凶であると考えられている。したがって、がん幹細胞の増殖を阻止できる薬剤を開発することは極めて重要な課題である。膠芽腫は脳腫瘍の中で最も悪性度が高く、5年生存率も5%以下と難治性のがんである。私たちは、膠芽腫検体より未分化な状態を保持した膠芽腫幹細胞株を複数樹立している。本年度は、がん幹細胞を標的とした新規の治療標的遺伝子を探索するために、これらの細胞株を用いて CRISPR/Cas9 による KO スクリーニングを行った。その結果、膠芽腫幹細胞の増殖に必須な遺伝子を多数同定することに成功した。pathway 解析や GO 解析を行ったところ、ヒットした遺伝子の一部は、膠芽腫の増殖に重要であることが既に知られているシグナル伝達系で機能していると考えられたことから、私たちのスクリーニング系は機能していると判断された。しかし、大部分の遺伝子の産物は、そのような既知のシグナル伝達系で機能しているとは考えられなかった。したがって、ヒットした遺伝子の検証を進め、HTS 系を構築し阻害剤を取得することにより、膠芽腫に対する新たな分子標的薬が開発されることが期待される。

（英文）

Long non-coding RNAs (lncRNAs) are frequently dysregulated in a variety of human cancers. We identified novel lncRNAs upregulated in colon cancer and found that they interact cellular proteins and play critical roles in the proliferation and tumorigenicity of colon cancer cells. When colon cancer cells infected with a lentivirus expressing an shRNA targeting a lincRNA were transplanted into nude mice, the growth of these cells was significantly retarded compared with tumor cells infected with a control lentivirus (*Oncogene*, 2017; *Cell Rep.* 2016; *PNAS*, 2016). These results suggest that nucleic acid drugs such as small interfering RNA and antisense oligonucleotides targeting these lncRNAs could be useful for the therapy of colon cancer.

Cancer stem cells (CSCs) are subsets of tumor cells that possess the capability of self-renewal and exhibit extensive tumorigenicity. Accumulating evidence suggests that CSCs are largely responsible for tumor initiation, relapse, metastasis and chemo-resistance. It is therefore important to develop drugs that are able to target and eliminate CSCs. Glioblastoma is the most malignant type of brain tumor, which has an overall 5-year survival rate of less than 5%. To identify genes essential for the proliferation of GSCs, we performed genome-wide CRISPR/Cas9 knockout screens using glioblastoma stem-like cells (GSCs) established in our laboratory. Here we identify genes that negatively regulate the proliferation of GSCs, but not of neural stem cells. Pathway analysis revealed that some of these genes encoded components of signaling pathways that are already known to be important for the proliferation of GSCs, validating our screens. Interestingly, however, the majority of the candidate genes did not encode proteins belonging to well-known glioblastoma pathways. These results suggest that these candidate genes could be promising novel targets for the therapy of glioblastoma.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 1 件、国際誌 7 件）

1. Matumura K., Kawasaki Y., Miyamoto M., Kamoshida Y., Nakamura J., Negishi L., Suda S., Akiyama T. The Novel G-quadruplex-Containing Long non-coding RNA GSEC Antagonizes DHX36 and Modulates Colon Cancer Cell Migration. *Oncogene*, 36(9):1191-1199 (2017).
2. Taniue K., Kurimoto A., Takeda Y., Nagashima T., Okada-Hatakeyama M., Kato Y., Shirahige K., Akiyama T. ASBEL-TCF3 complex is required for the tumorigenicity of colorectal cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 113:12739–12744 (2016).
3. Tanaka M, Sotta N, Yamazumi Y., Yamashita Y, Miwa K, Murota K, Chiba Y, Hirai MY, Akiyama T., Onouchi H, Naito S, Fujiwara T. The Minimum Open Reading Frame, AUG-Stop, Induces Boron-Dependent Ribosome Stalling and mRNA Degradation. *Plant Cell*, 28(11):2830-2849 (2016)
4. Kawasaki Y., Komiya M., Matsumura K., Negishi L., Suda S., Okuno M., Yokota N., Osada T., Nagashima T., Hiyoshi M., Okada-Hatakeyama M., Kitayama J., Shirahige K., Akiyama T. MYU, a novel target lncRNA for Wnt/c-Myc signaling, mediates induction of CDK6 to promote cell cycle progression. *Cell Rep.*, 16:2554-2564 (2016).
5. Yamazumi Y., Sasaki O., Imamura M., Oda T., Ohno Y., Shiozaki-Sato Y., Nagai S., Suyama S., Kamoshida Y., Funato K., Yasui T., Kikutani H., Yamamoto K., Dohi M., Koyasu S., Akiyama T. The RNA-binding protein Mex-3B is required for IL-33 induction in the development of allergic airway inflammation. *Cell Rep.*, 16:2456-2471 (2016).
6. Izumi K, Brett M, Nishi E, Drunat S, Tan ES, Fujiki K, Lebon S, Cham B, Masuda K, Arakawa M, Jacquinet A, Yamazumi Y. Chen ST, Verloes A, Okada Y, Katou Y, Nakamura T, Akiyama T. Gressens P, Foo R, Passemard S, Tan EC, El Ghouzzi V, Shirahige K. ARCN1 Mutations Cause a Recognizable Craniofacial Syndrome Due to COPI-Mediated Transport Defects. *Am J Hum Genet.*, 99(2):451-459 (2016).
7. Chaboub LS, Manalo JM, Lee HK, Glasgow SM, Chen F, Kawasaki Y, Akiyama T. Kuo CT, Creighton CJ, Mohila CA, Deneen B. Temporal Profiling of Astrocyte Precursors Reveals Parallel Roles for Asef during Development and After Injury. *J. Neurosci.*, 36(47):11904-11917 (2016).
8. 山角祐介、秋山 徹：Mex-3B はアレルギー性気道炎症における IL33 の誘導に必要である。臨床免疫・アレルギー科 67, 261-268 (2017).

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. The RNA-binding protein Mex-3B is required for IL-33 induction in the development allergic airway inflammation, 山角祐介, 秋山徹, International Congress of Immunology 2016/8/22, 海外
2. Long non-coding RNA UPAT promotes colon tumorigenesis by inhibiting degradation of UHRF1, 口頭, 谷上 賢瑞, 秋山 徹, 第75回日本癌学会学術総会, 2016/10/7, 国内
3. The Novel G-quadruplex-Containing Long non-coding RNA GSEC Antagonizes DHX36 and Modulates Colon Cancer Cell Migration, 口頭, 川崎 善博, 秋山徹, 第75回日本癌学会学術総会, 2016/10/6, 国内
4. Wnt/c-Myc経路の新規標的lncRNA: MYUはCDK6の発現を誘導して細胞周期を進める, ポスター, 川崎 善博, 秋山徹他, 第39回日本分子生物学会年会, 2016/12/1, 国内
5. 卵巣明細胞癌および卵巣表層上皮のオルガノイド培養法の確立, ポスター, Cona Brandon, 秋山徹, 第39回日本分子生物学会年会, 2016/12/1, 国内
6. β -cateninによるASBEL-TCF3複合体の発現亢進が、大腸がんの腫瘍形成能に必須である, ポスター, 谷上 賢瑞, 秋山 徹, 第39回日本分子生物学会年会, 2016/11/30, 国内
7. The ASBEL-TCF3 complex is required for the tumorigenicity of colorectal cancer cells, ポスター, 谷上 賢瑞, 武田 泰子, 秋山 徹, The American Society for Cell Biology annual meeting 2016, 2016/12/4, 海外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 先輩のお話を聴く会（芝高等学校）, 山角祐介, 2017/1/14, 国内

(4) 特許出願

なし