

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) 乳がんのがん幹細胞様細胞の維持機構を標的とした革新的治療法の開発  
(英語) Development of innovative cancer therapy targeting the mechanisms of maintenance of breast cancer stem cells
- 研究開発担当者 (日本語) 後藤 典子  
国立大学法人金沢大学がん進展制御研究所 教授
- 所属 役職 氏名： (英語) Noriko Gotoh  
Professor, Cancer Research Institute, Kanazawa University
- 実施期間： 平成28年 9月 1日 ～ 平成29年 3月31日
- 分担研究 (日本語) 1細胞解析  
開発課題名： (英語) Single cell analysis
- 研究開発分担者 (日本語) 岡本 康司  
国立研究開発法人国立がん研究センター研究所 がん分化制御解析分野  
分野長
- 所属 役職 氏名： (英語) Koji Okamoto  
Chief, Division of Cancer Differentiation, National Cancer Center  
Research Institute
- 分担研究 (日本語) 1細胞解析と乳がんのスフィア培養とPDXモデルの構築  
開発課題名： (英語) Single cell analysis and Sphere culture and construction of PDX models  
by using human breast cancer tissues
- 研究開発分担者 (日本語) 東條 有伸  
国立大学法人東京大学 医科学研究所 教授

所属 役職 氏名： (英 語) Arinobu Tojo

Professor, Institute of Medical Science, The University of Tokyo

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

がん細胞の細胞内分子連携 (シグナル) 異常によって、幹細胞様のがん細胞が維持されるしくみを標的とした革新的治療薬の開発を目指す。

まず、MICAL3 阻害剤の研究開発を継続する。研究開発代表者の後藤典子教授 (金沢大学・がん進展制御研究所) は、研究支援班の吉田稔主任研究員 (理化学研究所) らのグループとともに、MICAL3 の monooxygenase 活性を阻害する低分子化合物のスクリーニングを開始するための条件検討を行った。現在、吉田主任研究員らのグループにより、HTS を開始する最終の段階にある。

ミトコンドリア 1 炭素代謝酵素に関しては、本年度は分子 X と分子 Y に焦点を絞って解析を行った。研究開発代表者が解析を進めたところ、分子 X と分子 Y とともに、がん幹細胞において重要な代謝酵素であることが明らかになった。特に、薬剤耐性の肺がんにおいて、分子 X の発現が薬剤抵抗性をもたらすことが明らかになった。

研究開発代表者は、研究開発分担者の岡本康司分野長 (国立がん研究センター研究所)、東條有伸教授 (東京大学医科学研究所) らのグループと共同で、乳がん patient-derived xenograft (PDX) モデル由来のがん細胞を用いて Neuropilin (NP) 陽性分画と NP 陰性分画を分離する条件検討を行った。1 細胞に分離して次世代シーケンサーを用いて RNA シーケンスを解析することにより、がん幹細胞の仕組みを 1 細胞レベルで解明することを目的とする。

乳がん臨床検体は、太田哲生教授 (金沢大学附属病院)、多田敬一郎准教授 (東京大学附属病院) らのグループの協力を得て収集し、初代培養ののちスフェロイド培養を行うとともに、PDX の構築を行った。

The aim of this study is to develop novel innovative therapy against cancer stem-like cells by analyzing the molecular mechanisms how cancer stem-like cells are maintained in the cancer tissues.

The group of Noriko Gotoh (Professor, Cancer Research Institute, Kanazawa University), the principal investigator (PI) continued the development of novel inhibitors against MICAL3. By collaboration with the group of Minoru Yoshida (Principal investigator, RIKEN), they set up the condition of high throughput screening (HTS) and have started it.

The group of Noriko Gotoh continued the analysis of one-carbon metabolism and found that two enzymes molecule X and molecule Y play critical roles for maintenance of cancer stem-like cells and drug resistance.

The group of Noriko Gotoh, Koji Okamoto (Chief, National Cancer Center Research Institute, a member of this project) and Arinobu Tojo (Professor, Institute of Medical Science, The University of Tokyo, a member of this project) performed collaborative study to analyze Neuropilin (NP) positive cancer cells derived from breast cancer patient-derived xenograft (PDX) model at single cell level. They set up condition to analyze these cells at single cell for performing RNA sequencing.

The group of Noriko Gotoh collected breast cancer samples in collaboration with Tetsuo Ota (Professor, Kanazawa University Hospital) and Kei-ichiro Tada (Associate professor, Tokyo University Hospital), cultured the cancer cells and constructed PDX.

### 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 9 件)

1. Yamamoto M, Sakane K, Tominaga K, Gotoh N, Niwa T, Kikuchi Y, Tada K, Goshima N, Semba K, Inoue J-I.: Intratumoral bidirectional transitions between epithelial and mesenchymal cells in triple-negative breast cancer. *Cancer Sci*, in press.
2. Kitajima K, Yoshida A, Kohno S, Suzuki S, Nagatani N, Li F, Nishimoto Y, Sasaki N, Muranaka H, Wan Y, Thai T, Okahashi N, Matsuda F, Shimizu H, Nishiuchi T, Suzuki Y, Tominaga K, Gotoh N, Suzuki M, Ewen M, Barbie D, Hirose O, Tanaka T, Takahashi C.: The RB-IL-6 axis controls self-renewal and endocrine therapy resistance by fine-tuning mitochondrial activity. *Oncogene*, in press.
3. Sasahara A, Tominaga K, Nishimura T, Yano M, Kiyokawa E, Noguchi Miki, Noguchi Masakuni, Kanauchi H, Ogawa T, Minato H, Tada K, Seto Y, Tojo A, Gotoh N.: An autocrine/paracrine circuit of growth differentiation factor (GDF) 15 has a role for maintenance of breast cancer stem-like cells. *Oncotarget*, on line publication 11 February 2017. doi: 10.18632/oncotarget.15276.
4. Miyo M, Konno M, Nishida N, Sueda T, Noguchi K, Matsui H, Colvin H, Kawamoto K, Koseki J, Haraguchi N, Nishimura J, Hata T, Gotoh N, Matsuda F, Satoh T, Mizushima T, Shimizu H, Doki Y, Mori M, Ishii H.: Metabolic Adaptation to Nutritional Stress in Human Colorectal Cancer. *Sci Rep*, 6, 38415. 2016. doi: 10.1038/srep38415.
5. Sagara A, Igarashi K, Otsuka M, Karasawa T, Gotoh N, Narita M, Kuzumaki N, Narita M, Kato Y.: Intrinsic resistance to 5-Fluorouracil in a brain metastatic variant of human breast cancer cell line, MDA-MB-231BR. *PLoS One*, on line publication 10 October 2016.
6. Hibiya S, Tsuchiya K, Hayashi R, Fukushima K, Horita N, Nishimura T, Gotoh N, Okamoto R, Nakamura T and Watanabe M.: Long-term inflammation transforms intestinal epithelial cells of colonic organoids. *J Crohns Colitis*, on line publication 11 October 2016.
7. Yamawaki K, Ishiguro T, Mori Y, Yoshihara K, Suda K, Tamura R, Yamaguchi M, Sekine M, Kashima K, Higuchi M, Fujii M, Okamoto K, Enomoto T. Sox2-dependent inhibition of p21 is associated with poor prognosis of endometrial cancer. *Cancer Sci*. 2017, doi: 10.1111/cas.13196.
8. Ishiguro T, Ohata H, Sato A, Yamawaki K, Enomoto T, Okamoto K. Tumor-derived spheroids: Relevance to cancer stem cells and clinical applications. *Cancer Sci*. 2017, doi: 10.1111/cas.13155.

9. Investigations in the possibility of early detection of colorectal cancer by gas chromatography/triple-quadrupole mass spectrometry. Nishiumi S, Kobayashi T, Kawana S, Unno Y, Sakai T, Okamoto K, Yamada Y, Sudo K, Yamaji T, Saito Y, Kanemitsu Y, Okita NT, Saito H, Tsugane S, Azuma T, Ojima N, Yoshida M. *Oncotarget* 2017, doi: 10.18632/oncotarget.15081.
10. 岡本康司. 「卵巣がん幹細胞の鍵シグナル」, 月刊「細胞」 3月号特集: がん幹細胞の鍵シグナル、ニューサイエンス社、2017, 49(3), 108-111

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. セリン・グリシン代謝経路 MTHFD2 による肺がん幹細胞の維持、口頭、後藤典子、第 12 回 TR ワークショップ、2017/1、国内
2. Cancer stem-like cells derived from breast cancer or lung cancer、口頭、後藤典子、第 33 回日本毒性病理学会総会、2017/1、国内
3. Dependence on the mitochondrial MTHFD2-mediated purine synthetic pathway in lung cancer.、口頭、後藤典子、第 39 回日本分子生物学会年会シンポジウム、2016/12/2、国内
4. セリン・グリシン代謝経路 MTHFD2 による肺がん幹細胞の維持、口頭、後藤典子、第 10 回メタボロームシンポジウム: 疾患マルチオミクス、2016/10/21、国内
5. A serine-glycine metabolic enzyme MTHFD2 is a novel molecular target for overcoming resistance in lung cancer、口頭、後藤典子、第 75 回日本癌学会学術総会シンポジウム: 「代謝を標的としたがんの制御」、2016/10/6、国内
6. スフェロイド形成による難治がん由来がん幹細胞の培養と特性解析、口頭、岡本 康司、第 39 回日本分子生物学会年会シンポジウム、2016/12/2、国内
7. NADPH oxidase による卵巣がん幹細胞の制御機構、ポスター発表、内野 瑠衣、佐藤 愛、石黒 竜也、大畑 宏和、高松信彦、恩田 貴志、加藤 友康、榎本 隆行、岡本 康司、第 39 回日本分子生物学会年会シンポジウム、2016/12/1、国内
8. Large scale single-cell gene expression analysis for understanding the heterogeneity of colon cancer tissue.、ポスター発表、ニガム ヌプル、塩川 大介、岡本 康司、The 10th International Conference on Single Cell Research、2016/11/17、国内
9. NADPH oxidase と mTOR Complex 1 のフィードバックループ制御は大腸がん幹細胞性の維持に寄与する、口頭、大畑 広和、塩川 大介、岡本 康司、第 75 回日本癌学会、2016/11/6、国内
10. シングルセル遺伝子発現解析により示された Lgr5 陽性大腸がん幹細胞の多様性と Wnt ターゲット遺伝子の発現変化、口頭、塩川 大介、大畑 広和、岡本 康司、第 75 回日本癌学会、2016/11/6、国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
該当なし

(4) 特許出願  
該当なし