

課題番号 15

## がん幹細胞の分裂制御機構の解明

### [1] 組織

代表者：薛 香淑

(Asan Medical Center)

対応者：田中 耕三

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

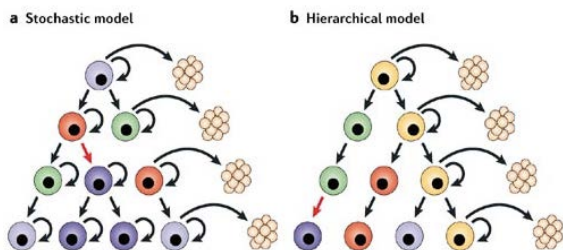
家村 顕自 (東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 30 万 8 千 132 円，旅費 9 万 1 千 868 円

### [2] 研究経過

#### 研究目的

がん幹細胞は既存の幹細胞に様々な要因で突然変異などの遺伝的変化が生じることによって発生し、その他大多数のがん細胞と異なり無限の増殖能をもつ細胞である (図1)。



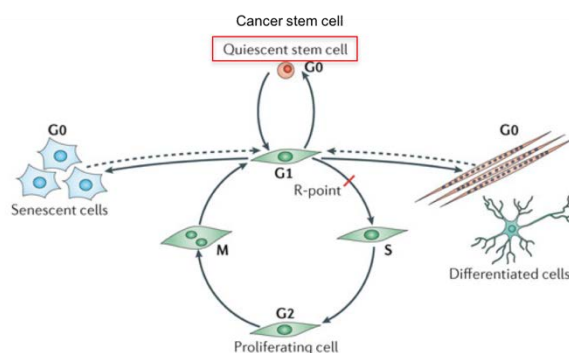
Nature Reviews Cancer 6.

図1. 腫瘍発生と形成

がん幹細胞は他のがん細胞に比べてより強い自己保護機構をもっており、既存の抗がん剤に対して抵抗性を示すことが多い。そのため体内のがん組織を手術や抗がん剤などで大部分除去できたとしても、がん幹細胞が生き残ることにより再発につながると考えられている。そこでがん幹細胞に対して有効な遺伝子治療や分子標的治療の開発が進められているが、その効果は未だに明確ではない。例えばがん幹細胞に特異的なマーカーを標的とした様々な治療法の研究が進行中であるが、同じ腫瘍でも種々のがん幹細胞

マーカーが存在するなどの困難が付きまといっている。

本研究ではがん幹細胞の性質を十分に理解し、これを除去する方法としてがん幹細胞を分化させて抗がん剤に対して感受性にするを目的として、がん幹細胞の分化に関与する因子の究明やその機能解析を目指す (図2)。



Nature Reviews Molecular Cell Biology 14

図2. 幹細胞停止の分子的な制御。

#### 研究概要

##### 1. がん幹細胞の培養および分離

特定がん幹細胞マーカーを利用して、がん幹細胞と非がん幹細胞を分離する。分離したがん幹細胞を種々の条件下で培養し、その増殖過程を加齢医学研究所分子腫瘍学研究分野の蛍光顕微鏡あるいは共通危機管理室の共焦点顕微鏡で観察する。

##### 2. がん幹細胞と非がん幹細胞において細胞分裂や分化に関わる遺伝子の発現比較

がん幹細胞において増加または低下する細胞分裂関連遺伝子をマイクロアレイ解析により同定する。同定された遺伝子産物を発現抑制あるいは過剰発現させた場合のがん幹細胞の増殖過程を観察し、増殖や分化に関与する因子を同定する。

以下、研究活動状況の概要を記す。

代表者の薛は6月29日から30日まで対応者の田中の研究室を訪問し、分担者の家村を交えて研究の打ち合わせを行った。その後薛は打ち合わせの内容をふまえてがん幹細胞を分化させる方法の検討を行った。一方田中と家村は sphere assay の手法を確立

し、休止期の細胞を検出するための細胞解析装置の操作法を習得して、がん幹細胞の解析を行った。薛は3月1日から3日まで田中の研究室を訪問し、これまでの成果を検討すると共に今後の方針について議論した。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

1. ヒト肝臓がん細胞株の非がん幹細胞とがん幹細胞を sphere assay によって分離し、両細胞群において、mRNA array 分析を行った。分析結果から、がん幹細胞で有意的に低下している細胞周期に影響する遺伝子が見つかった。これらの遺伝子はG0からG1への以降に関与することが知られている遺伝子であった。
2. この遺伝子の mRNA array 分析の結果に基づいて、Hep3B, HepG2, Huh7 といった肝臓がん細胞株における発現を q-RT-PCR で検定した。非がん幹細胞とがん幹細胞での比較を行ったところ、その遺伝子の発現は肝臓幹がん細胞で低くなることが確かめられた。またウェスタンブロッティングによる検討で、この遺伝子産物の発現低下がタンパク質レベルでも確認された。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究によって、がん幹細胞に特徴的に見られる遺伝子発現の変化が明らかになり、その中でがん幹細胞を休止期にとどめておく機構に関連する可能性のあるものが見出された。平成29年度は、この遺伝子を過剰発現する細胞株を作成し、sphere 形成能を比較する。また FACS 解析によって細胞周期の分布を観察する。これに加えて生細胞観察によって細胞増殖能を検討する。さらにマウスモデルによって腫瘍形成能を分析する。

がん幹細胞で発現が低下している細胞周期関連遺伝子を過剰発現させることで、休止期にとどまっているがん幹細胞を活発的な細胞周期を持つがん細胞へと変換させ、抗がん剤または放射線に効きやすくさせることが可能だと考えられる。

### [4] 成果資料

(1) Seol HS, Lee SE et al., Complement proteins C7 and CFH control the stemness of liver cancer cells via LSF-1. *Cancer Lett* (2016) 372(1).

(2) Seol HS, Lee SE et al., Glutamate release inhibitor, Riluzole, inhibited proliferation of human hepatocellular carcinoma cells by elevated ROS production. *Cancer Lett* (2016) 382(2).

(3) Tanaka, K, and Hirota, T. Chromosomal Instability: A common feature and a therapeutic target of cancer. *Biochim Biophys Acta* (2016) 1866, 64-75.