

課題番号 9

静止期がん幹細胞を制御する BEX2 の会合タンパク同定と機能解析

[1] 組織

代表者：玉井 恵一
(宮城県立がんセンター研究所)
対応者：安井 明
(東北大学加齢医学研究所)
分担者：
佐藤 賢一
(宮城県立がんセンター研究所)
中村 真央
(宮城県立がんセンター研究所)

研究費：物件費 30 万円

[2] 研究経過

現在広く使用されている抗癌剤は、一定の効果は得られるものの、ほとんどの場合はがんの根治にはつながらない。それは、抗癌剤は主に増殖の盛んながん細胞をターゲットととしているため、残存する「がん幹細胞」から再発を引き起こすからだと考えられる。

これまで申請者は、新規がん幹細胞マーカーのスクリーニングを行ってきた。免疫不全マウスにおける造腫瘍能を指標として、多数の表面分子をスクリーニングした結果、頭頸部癌においては CD271 が (*PLoS One*, 2013)、胆管癌においては CD274 が (*Cancer Science*, 2014) マーカーとなることを報告してきた。

CD274 はがん幹細胞の表現型を抑制していたため、再度治療標的分子を探索するために、CD274 低発現細胞の中で高発現している分子を造腫瘍能を指標にスクリーニングした結果、BEX2 遺伝子が候補として挙げられた。

BEX2 は現在までその詳細な機能は不明であった。申請者は、胆管癌細胞において BEX2 発現をノックダウンすると、細胞周期が G₀ 期から離脱することを見いだした。この他にも、造腫瘍能の低下・抗癌剤感受性の増大・ALDH 活性の低下もみられ、BEX2 の発現によって静止期がん幹細胞形質が維持されることを突き止めた。

本共同研究は、BEX2 会合分子を同定することで、静止期がん幹細胞における BEX2 の役割を明らかにすることを目的として、遂行した。

研究活動状況の概要：

平成 28 年度に 1 回、宮城県立がんセンターにおいて研究打ち合わせを行った。また、電子メールによる打ち合わせを頻繁に行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

平成 28 年度の共同研究においては、プロテオーム解析を安井教授・菅野講師に依頼し、複数の BEX2 会合タンパクを同定することに成功した。そのなかで、2 種類の E3 複合体が結合することが判明した。また、ドキシサイクリンによる BEX2 発現誘導細胞を樹立し、解析を行ったところ、BEX2 の分解速度は極めて速いことが判明した。Ki67 との 2 重染色を行うと、BEX2 の発現は細胞周期に応じてダイナミックに変化することが判明した。これらのことから、BEX2 のタンパクレベルでの制御と細胞周期には密接な関わりがあると考え、現在詳細な解析を進めている。

また、個別の実験系に関する技術的な問題に関して、電子メールを介して頻繁に討議を行った。タンパク実験に不慣れな私たちに対して的確な助言を対応者から得ることができ、技術向上に大いに役立った。

(3-2) 波及効果と発展性など

本課題の成果から、がん幹細胞維持に関する分子機構が明らかになると期待される。これまで、がん幹細胞の表面マーカーに関しては数多く研究されてきたが、維持機構に関しては不明な点が多い。本共同研究によって明らかになった会合タンパクの機能解析を進め、分子機構を明らかにし、最終的にはそれを標的とした創薬につなげる。

[4] 成果資料

- [1] T. Shiroki, M. Yokoyama, N. Tanuma, R. Maejima, K. Tamai, K. Yamaguchi, T. Oikawa, T. Noguchi, K. Miura, T. Fujiya, H. Shima, I. Sato, N. Murata-Kamiya, M. Hatakeyama, K. Iijima, T. Shimosegawa, K. Satoh, The enhanced expression of PKM2 is involved in the gastric cancer development via regulating cancer specific metabolism, *Cancer Sci*, 2017, *in press*
- [2] K. Nasu, K. Yamaguchi, T. Takanashi, K. Tamai, I. Sato, S. Ine, O. Sasaki, K. Satoh, N. Tanaka, Y. Tanaka, T. Fukushima, H. Harigae, K. Sugamura, Crucial role of carbonic anhydrase IX in tumorigenicity of xenotransplanted adult T-cell leukemia-derived cells, *Cancer Sci*, 2017, *in press*
- [3] K. Yamaguchi, T. Takanashi, K. Nasu, K. Tamai, M. Mochizuki, I. Satoh, S. Ine, O. Sasaki, K. Satoh, N. Tanaka, H. Harigae, K. Sugamura, Xenotransplantation elicits salient tumorigenicity of adult T-cell leukemia-derived cells via aberrant AKT activation, *Cancer Sci* (107) 638-643, 2016
- [4] R. Oshima, T. Hasegawa, K. Tamai, N. Sugeno, S. Yoshida, J. Kobayashi, A. Kikuchi, T. Baba, A. Futatsugi, I. Sato, K. Satoh, A. Takeda, M. Aoki, N. Tanaka, ESCRT-0 dysfunction compromises autophagic degradation of protein aggregates and facilitates ER stress-mediated neurodegeneration via apoptotic and necroptotic pathways, *Sci Rep* (6) 24997, 2016
- [5] M. Mochizuki, K. Tamai*, T. Imai, S. Sugawara, N. Ogama, M. Nakamura, K. Matsuura, K. Yamaguchi, K. Satoh, I. Sato, H. Motohashi, K. Sugamura, N. Tanaka, CD271 regulates the proliferation and motility of hypopharyngeal cancer cells, *Sci Rep* (6) 30707, 2016
- [6] R. Maejima, K. Tamai, T. Shiroki, M. Yokoyama, R. Shibuya, M. Nakamura, K. Yamaguchi, M. Abue, T. Oikawa, T. Noguchi, K. Miura, T. Fujiya, I. Sato, K. Iijima, T. Shimosegawa, N. Tanaka, K. Satoh, Enhanced expression of semaphorin 3E is involved in the gastric cancer development, *Int J Oncol* (49) 887-894, 2016
- [7] S. Aoki, M. Mizuma, Y. Takahashi, Y. Haji, R. Okada, T. Abe, H. Karasawa, K. Tamai, T. Okada, T. Morikawa, H. Hayashi, K. Nakagawa, F. Motoi, T. Naitoh, Y. Katayose, M. Unno, Aberrant activation of Notch signaling in extrahepatic cholangiocarcinoma: clinicopathological features and therapeutic potential for cancer stem cell-like properties, *BMC Cancer* (16) 854, 2016