



大腸がんの転移能と幹細胞性を制御するメカニズムを発見 ～がん幹細胞を標的とした新たな治療法開発への足がかり～

ハイライト

- 大腸がんを自然に発症して肝臓に転移する新しいマウスモデルを作り出しました。
- このマウスモデルの解析から、「がん幹細胞」の2つのマーカータンパクが単なる目印ではなく、大腸がんの転移能や幹細胞性に重要な働きを持つことを明らかにしました。
- 大腸がんの幹細胞性を制御するシグナル経路を同定し、治療標的となる可能性を示しました。

愛知県がんセンターの、がん病態生理学分野の青木正博分野長、藤下晃章主任研究員を中心とするグループは、同システム解析学分野の山口類分野長、消化器外科部の清水泰博部長、遺伝子病理診断部の細田和貴部長、京都大学医学部附属病院・先端医療研究開発機構・大腸がん新個別化治療プロジェクトの武藤誠プロジェクトリーダーらと共同で、大腸がんの転移能と幹細胞性を制御するメカニズムを明らかにしました。

早期発見と治療の進歩により、大腸がんは比較的予後の良いがんとなりましたが、他臓器への転移を伴う大腸がん患者の5年生存率は20%程度と低いままです。大腸がんが転移すると、手術しても再発する可能性が増え、薬物療法に対しても抵抗性を示しやすくなり、治療が困難になります。がんの転移・再発・治療抵抗性には、がん組織中に存在する「がん幹細胞」と呼ばれる特別な細胞が重要な役割を果たすと考えられていますが、大腸がんの「がん幹細胞」がどのようなメカニズムで維持され、転移に関与するのかはほとんど明らかになっていませんでした。

本研究では、大腸がんを自然発症して肝臓に転移に至る、転移性大腸がんの新しいマウスモデルの作出に成功しました。そしてこのモデルの解析から、非転移性大腸がんと比較して、転移性大腸がんでは「がん幹細胞」のマーカー分子として知られるALCAM (CD166) とPROM1 (CD133) の発現が上昇していること、ALCAM とPROM1 は単なる目印ではなく大腸がんの幹細胞性、転移能に重要であることを示しました。さらに、ALCAM とPROM1 の発現を正負に制御する二つのシグナル経路を同定し、正に制御する経路を遮断すると大腸がん細胞の転移能が減弱することも見出しました。これらの成果は、大腸がん幹細胞を標的とした新しい治療戦略に結びつく可能性が期待されます。

本研究成果の詳細は、令和4年9月6日(日本時間)に米国癌学会が発行するがん研究専門誌「Cancer Research」(IF = 13.312) オンライン版で公開されています。

研究の背景

大腸がんは本邦において罹患数第一位のがんとなりましたが、内視鏡技術の進歩による早期発見、手術療法や薬物療法等の発展により、肝臓や肺などに転移していない大腸がん患者の5年生存率は80%を超えています。一方で、肝臓や肺など他臓器への転移を伴う大腸がん患者の5年生存率は20%程度と極端に低下します。大腸がんが他臓器に転移するようになると、手術で取りきれなかったがんが拡大して再発する可能性が増え、また薬物療法に対しても抵抗性を示しやすくなり、治療が困難になります。そのため、転移のメカニズムを解明して治療標的を見つけ出すことは、大腸がん研究において喫緊の課題の一つになっています。一方、近年の研究から、がんの組織には「がん幹細胞」と呼ばれる特殊ながん細胞が存在すること、「がん幹細胞」が再発や転移、治療抵抗性に重要な役割を果たすことが分かってきました(用語解説1参照)。しかしながら、大腸がんの「がん幹細胞」がどのようなメカニズムで維持され、転移に関与するのかはほとんど明らかになっていませんでした。

研究内容と成果

大腸がんが発生して肝転移に至る過程を再現するマウスモデルを開発しました。

がんの研究には遺伝子改変によりがんを発症するマウスモデル(用語解説2参照)が重要な役割を果たしてきましたが、大腸がんの転移に関する研究のほとんどは、体外で培養した大腸がん細胞株やオルガノイド(ゲル状の培養液中で立体的に生育する細胞塊)をマウスに移植するモデルを利用して行われてきました。大腸がんを自然発症する遺伝子改変マウスは、多くの腫瘍を発症するため転移を生じるまで生き延びないものが殆どで、これまでに大腸がんを発症して転移すると報告された遺伝子改変マウスは、活性型がん遺伝子を過剰に発現させたものや、薬剤を使って人為的に激しい大腸炎を引き起こさせたものなど、人間の体では起こりえない特殊な操作を行ったマウスに限られていました。我々は今回、大腸がん患者で見つかる4つの遺伝子変異(*Ctnnb1/Kras/Tp53/Smad4*)を、非常に低い頻度で腸上皮細胞に導入することによって、100%の個体が悪性度の高い腺がんを発症して約20%の個体が肝転移を生じる、転移性大腸がんのマウスモデル(CKPSマウス)を作出することに成功しました(図1)。このCKPSマウスは、大腸がんの発生から肝転移までの行程を再現するため、局所浸潤から他臓器への転移に至る過程や分子メカニズムを理解する上で重要な疾患モデルになると期待されます。

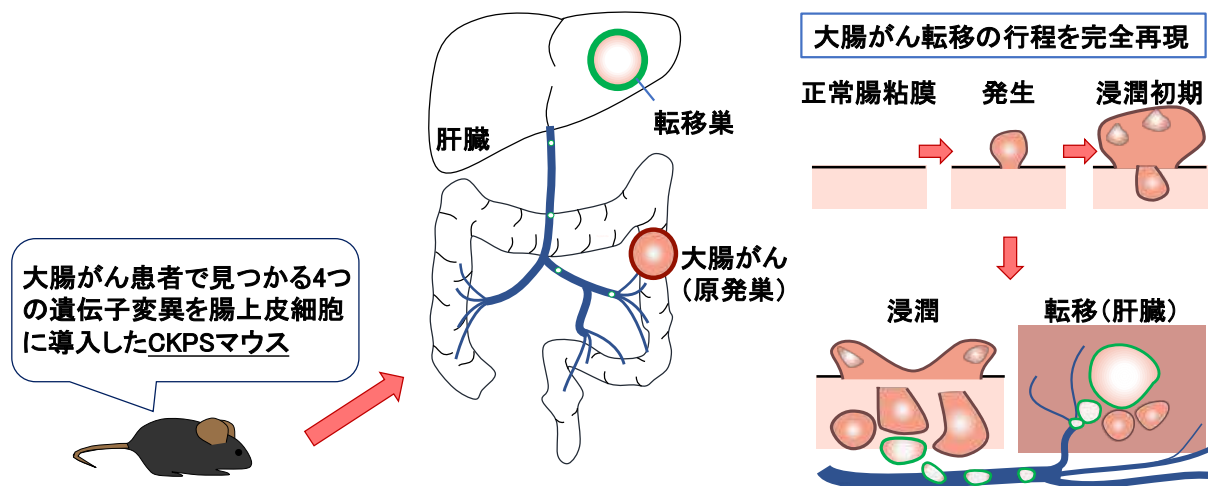


図1 CKPSマウス:大腸がんの発生から浸潤、転移に至る過程を再現するマウスモデル

がん幹細胞の性質を獲得することで大腸がんの転移が促進する。

次に大腸がんが転移するメカニズムを解明する目的で、質量分析装置を用いたプロテオーム解析(用語解説 3 参照)を実施したところ、CKPS マウスの転移性大腸がんでは、非転移性大腸がんと比較して、ALCAM (CD166)や PROM1 (CD133)と呼ばれるがん幹細胞マーカータンパクの発現が増加していることを見つけました。また、CKPS マウス由来の大腸がん細胞株(CKPS 細胞)は、高いスフェロイド形成能(幹細胞性の指標の一つ、用語解説1参照)と転移能を示しましたが、これらの ALCAM や PROM1 をノックアウトすると、スフェロイド形成能および転移能が強く抑制されたことから、がん幹細胞が転移に重要であること、そして ALCAM、PROM1 は単なるマーカータンパクではなく、大腸がんの幹細胞性と転移に機能的に必要であることが分かりました(図2)。

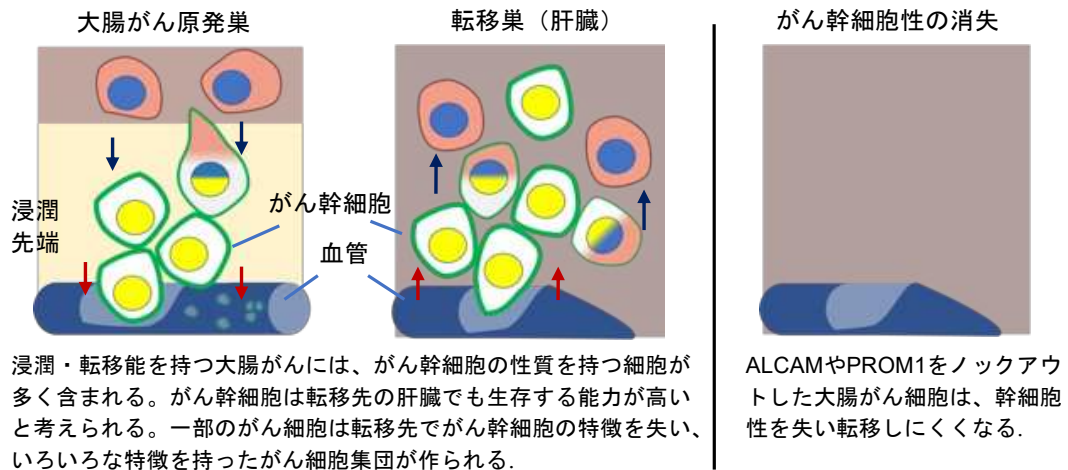


図2 大腸がんの浸潤・転移におけるがん幹細胞

大腸がんの幹細胞性を制御する二つのシグナル経路を同定しました。

さらに我々は、大腸がんの幹細胞性の維持に二つのシグナル経路が関与することを見つけました。一つは TGF- β から SMAD4 につながる経路です。このシグナル経路が活性化すると幹細胞性が抑制されます(幹細胞性を負に制御)。大腸がん患者ではしばしばこの TGF- β /SMAD4 経路を不活化する遺伝子変異が見つかることから、変異のないがん細胞より幹細胞性を維持しやすい(=転移しやすい)可能性が考えられます。もう一つは、cAMP(cyclic AMP, サイクリック AMP)から PKA (protein kinase A, A キナーゼ)、そして転写因子 CREB につながるシグナル経路で、この cAMP/PKA/CREB 経路が活性化すると幹細胞性が亢進することが分かりました(幹細胞性を正に制御)(図3)。cAMP/PKA/CREB 経路の構成分子のノックアウト、あるいはシグナルを阻害する薬剤の投与によって、CKPS 細胞のスフェロイド形成能や転移能が抑制されたことから、この経路が転移性大腸がんの治療標的となる可能性が示されました。

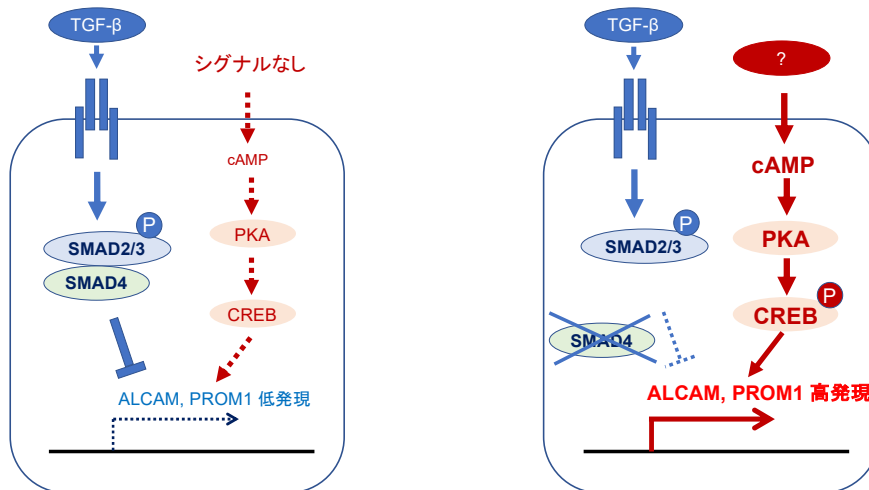


図3 大腸がんの幹細胞性を制御する二つのシグナル経路. 左: TGF- β /SMAD4経路が活性化し、cAMP/PKA/CREB経路が不活化していると幹細胞性は抑制される. 右: SMAD4の変異などでTGF- β /SMAD4経路が不活化し、未解明の刺激によってcAMP/PKA/CREB経路が活性化すると、ALCAMやPROM1の発現が上昇し、幹細胞性が亢進する.

今後の展望

本研究では、自然発症して肝転移を生ずる転移性大腸がんの新しいマウスモデルを確立し、大腸がんの幹細胞性を制御することで転移にも重要な役割を果たす分子・シグナル経路を同定しました。今回見つかった分子・シグナル経路を治療標的とすることで、大腸がんの転移・再発・治療抵抗性に関する幹細胞性を制御する、新しい治療戦略の開発につながる可能性が期待されます。

研究支援

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 次世代がん医療創生研究事業「大腸がん幹細胞の可塑性・転移形成能に関するシグナル経路を標的とした再発・転移・治療抵抗性克服戦略の開発」(研究開発代表者: 青木正博、21cm0106282h0001)、日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究 (B)「転移性大腸がんの幹細胞性を維持する分子機構の解明」(研究代表者: 青木正博、22H02909)、基盤研究 (B)「マウスモデルを用いた大腸がん転移の分子機序解明と予防・治療標的の同定」(研究代表者: 青木正博、18H02686)、基盤研究 (C)「大腸がん自然転移モデルを利用した転移関連遺伝子の探索」(研究代表者: 藤下晃章、20K07440)、武田科学振興財団特定研究助成「大腸がんの転移・治療抵抗性における腫瘍微小環境の役割の解明」(研究代表者: 青木正博)の一環として行われました。

用語解説

1 がん幹細胞

臓器・組織を構成する種々の細胞は、組織幹細胞と呼ばれる細胞が分化することで生じます。近年の研究から、がんにおいても女王蜂のような大元となるがん幹細胞が存在すると考えられています。組織幹細胞と同様に、がん幹細胞も自己を複製する能力があり、試験管内では、3次元での浮遊培養でスフェロイド(細胞が凝集してできた塊)を形成する能力を持ち、生体では少数の細胞からでも元の腫瘍と同じ腫瘍を形成する能力(腫瘍開始能)を持つことが知られています。転移、再発、薬剤抵抗性などにも重要な役割を果たすことから治療標的としても非常に重要ですが、その制御機構の詳細はまだ謎に包まれています。

2 遺伝子改変によりがんを発症するマウスモデル

がんの主な疾患モデルには、がん患者由来の腫瘍組織、オルガノイド、細胞株を免疫不全マウスに移植する系、マウス由来の細胞株やオルガノイドを移植する系の他に、遺伝子改変を導入することによって生体で腫瘍を発生させる系があります。それぞれのモデルに長所・短所がありますが、遺伝子改変によるモデルの長所として、生体内で1個の上皮細胞から腫瘍が生じて悪性化進展する過程を再現できること、免疫を含む腫瘍微小環境がヒトのがんの微小環境により近いと考えられることなどが挙げられます。

3 プロテオーム解析

組織や血液サンプル中のタンパク質の構造や機能を網羅的に解析する手法のこと。サンプルから調製したタンパク質を酵素で分解した後に標識し、質量分析装置を用いて質量を測定することで、サンプル中に含まれるタンパク質を網羅的に同定して定量することができます。

掲載論文

【タイトル】

The cAMP/PKA/CREB and TGF- β /SMAD4 pathways regulate stemness and metastatic potential in colorectal cancer cells

【著者】

Teruaki Fujishita^{1*}, Yasushi Kojima¹, Rie Kajino-Sakamoto¹, Emi Mishiro-Sato¹, Yasuhiro Shimizu², Waki Hosoda³, Rui Yamaguchi⁴, Makoto Mark Taketo⁵, Masahiro Aoki^{1, 6*}

*Co-corresponding authors

- 1 愛知県がんセンター研究所・がん病態生理学分野
- 2 愛知県がんセンター病院・消化器外科部
- 3 愛知県がんセンター病院・遺伝子病理診断部
- 4 愛知県がんセンター研究所・システム解析学分野
- 5 京都大学医学部附属病院・先端医療研究開発機構・大腸がん新個別化治療プロジェクト
- 6 名古屋大学大学院医学系研究科・がん病態生理学分野

【掲載誌】（省略不可）

Cancer Research（米国癌学会の機関誌）

問合せ先

<研究に関すること>

愛知県がんセンター

（職名）副所長 兼 がん病態生理学分野長

（氏名）青木 正博

〒464-8681 名古屋市千種区鹿子殿 1-1

Tel : 052-762-6111（内線 7050）

E-mail : msaoki@aichi-cc.jp

<広報に関すること>

愛知県がんセンター

運用部経営戦略課

虫鹿 友規

Tel : 052-762-6111 (内線 2521)

Fax : 052-764-2963

E-mail : tmushika@aichi-cc.jp