

## 194. がん幹細胞を標的とする新規抗がん療法の開発

崎谷 康佑

朝日生命成人病研究所附属医院 消化器内科

Key words : 胃がん, 幹細胞, 微小環境, ケモカイン

### 緒 言

がんは1981年より継続して日本人の死因の第一位であり、増加傾向にある。現在の治療では、Stageの進んだ胃、大腸がん患者の生存期間は1年程度にとどまる。抗がん治療の標的として、幹細胞が注目され、その同定が熾烈な競争となっているが、我々は胃がん幹細胞としてMist1陽性細胞を同定し、治療標的となることをCancer Cell誌 [1] に報告した。さらに、Mist1を標的とする抗がん剤治療は効果を示すが、別の胃前庭部のがん幹細胞マーカーCCK2R [2] が代償的に増加することを発見した。これらのことから、代償的増殖幹細胞を含めた複数のがん幹細胞を同時に標的とする新規抗がん療法の有用性が期待できると考えた。この仮説を検証することが本研究の目的である。

身体を構成する臓器は、臓器ごとに異なる正常体性幹細胞により恒常性が保たれる。幹細胞は自己複製能と多分化能を有する。がん組織中にも、周辺のがん細胞を生み出すがん幹細胞があり、転移を含む腫瘍の悪性化、治療抵抗性などに重要であると示されつつある。幹細胞は単一ではなく、rapid growing、slow growingなものなど複数存在し、外部刺激に対し幹細胞が相互作用し、応答すると報告されている。脳腫瘍においてslow growingの幹細胞が腫瘍増大を促進する、肺ではslow growingのAT2細胞の幹細胞機能が、AT1細胞障害時に活性化される、小腸でもslow growingのBmi1陽性幹細胞が放射線障害時にrapid growingのLgr5陽性細胞の機能を代償する、胃においてslow growingのTroy陽性幹細胞が、抗がん剤によるDNA damageに対し、reserverとして機能する、等である。

大腸がんや膵臓がんの現在の分子標的治療の効果が乏しい理由を、1. がん幹細胞に対する効果不十分、2. がんが生存の代償的経路を活性化させる、と考える。この考えに基づき、大腸がんのオートファジー阻害時の小胞体ストレス応答の代償的活性化を発見、両経路の阻害が効果的であることを示した [3]。Mist1を標的とする抗がん剤治療は効果を示すが、別の胃前庭部のがん幹細胞マーカーCCK2Rが代償的に増加することを発見した。これらのことから、代償的増殖幹細胞を含めた複数のがん幹細胞を同時に標的とする新規抗がん療法の有用性が期待できると考え研究を進めている。

### 方 法

#### 1. Mist1が胃がんのがん幹細胞であることの検討

Mist1陽性細胞を標識できるMist1-CreERT/Rosa26TdTomatoマウスに化学発がん物質MNUを投与した。

#### 2. Mist1陽性細胞がCCK2Rを含む他の胃がん幹細胞マーカー陽性細胞と異なることの検討

Mist1-CreERT/Rosa26TdTomatoマウスのCCK2R抗体等による免疫染色を実施した。

#### 3. Mist1陽性細胞とCXCR4陽性細胞のオーバーラップを示すことの検討

Mist1とCXCR4を標識できるMist1-CreERT/CXCR4-GFP/Rosa26TdTomatoマウスを作製し、臓器を観察した。予備的検討の結果、Cxcr4とMist1はオーバーラップし、double positiveの細胞は高いcolony formation abilityを示す一方、Cxcr4とCCK2Rはオーバーラップなしてであった。

#### 4. CXCR4/CXCL12 シグナル阻害の抗がん作用を示すことの検討

CXCR4 阻害薬 AMD3100 による治療効果を検討した。同時に、Mist1 を標的とする治療時に代償的にがん細胞生存に働く経路・分子・タンパクの網羅的検索のためにマイクロアレイ、プロテオミクス解析を行った。特に、神経・血管・免疫細胞といったがん微小環境から誘導されるサイトカインに着目した。

### 結 果

1. Mist1 が胃がんのがん幹細胞であることが示せた (図 1)。
2. Mist1 と他の幹細胞マーカー (CCK2R、CXCR4) との関連を示せた。Cxcr4 と Mist1 はオーバーラップし、double positive の細胞は高い colony formation ability を示し、CXCR4 と CCK2R はオーバーラップしなかった (図 2)。
3. CXCR4 阻害薬 AMD3100 による胃がんに対する治療効果と Mist1 陽性がん幹細胞標的治療による代償的 CCK2R 増加が示せた (図 3)。これらの結果を英文専門誌に報告した [4]。

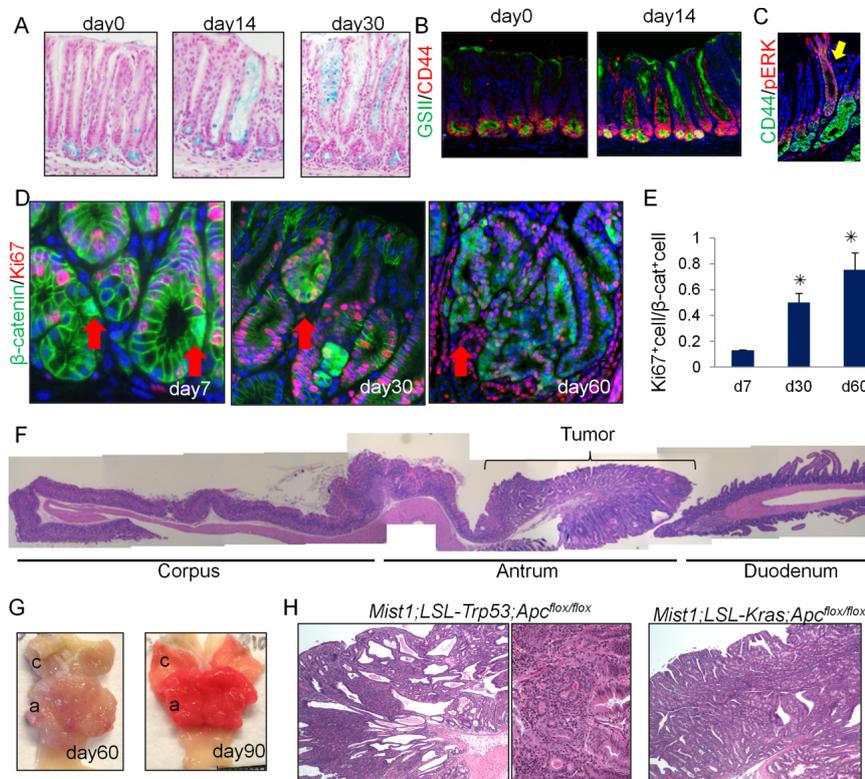


図 1. マウス胃上皮における Mist1 陽性細胞

Mist1 は胃がんの幹細胞マーカーであることを遺伝子改変マウスの lineage tracing によって示した。有意差は t 検定による統計処理による。スケールバー：100 μm。

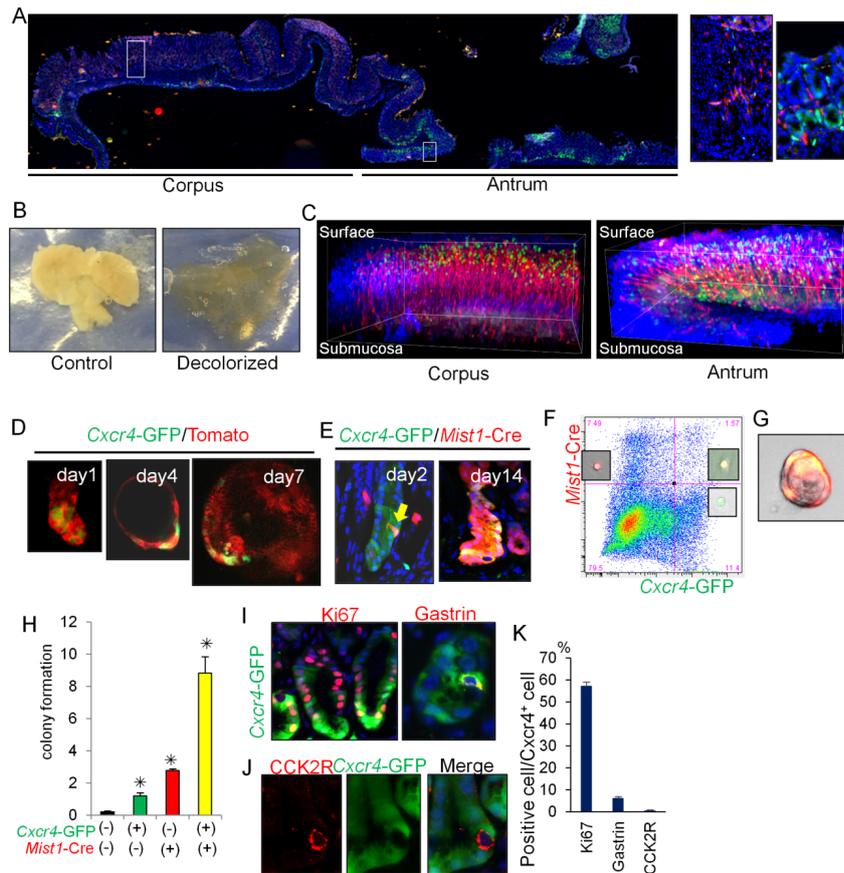


図2. マウス胃上皮における CXCR4 陽性細胞

CXCR4 は胃がんの幹細胞マーカーであることを蛍光免疫染色によって示した。有意差はt検定による統計処理による。スケールバー：100  $\mu$  m。

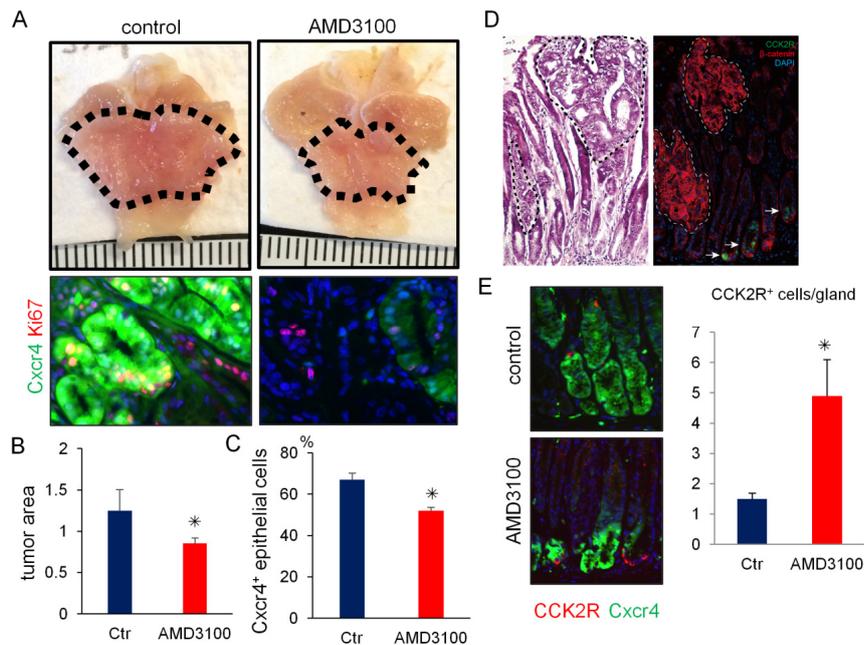


図3. マウス胃上皮における CCK2R 陽性細胞

CCK2R は胃がんの幹細胞マーカーであり、治療標的となることを AMD3100 による治療によって示した。有意差はt検定による統計処理による。スケールバー：100  $\mu$  m。

## 考 察

iPS 細胞の開発に山中伸弥教授が成功した鍵は、細胞の初期化の遺伝子を 1 つや 2 つでなく、4 つ組み合わせた点である。がん細胞を無力化するために必要な標的遺伝子も、2 つ以上の複数であることが十分に考えられる。複数のがん幹細胞を標的とする点がこの研究のユニークさである。今回の研究では幹細胞 Mist1 を標的とした治療が別の幹細胞 CCK2R の増加を惹起することが示せたので、今後、これらを同時に阻害する治療の効果の検討や、どのように複数の経路を阻害するのが効果的であるか、網羅的な解析を進めていきたい。

## 共同研究者

本研究は、東京大学、コロンビア大学の共同研究者と行った。

## 文 献

- 1) Hayakawa Y, Sakitani K, Konishi M, Asfaha S, Niikura R, Tomita H, Renz BW, Tailor Y, Macchini M, Middelhoff M, Jiang Z, Tanaka T, Dubeykovskaya ZA, Kim W, Chen X, Urbanska AM, Nagar K, Westphalen CB, Quante M, Lin CS, Gershon MD, Hara A, Zhao CM, Chen D, Worthley DL, Koike K, Wang TC. *Cancer Cell*. 2017 Jan 9;31(1):21-34. doi: 10.1016/j.ccell.2016.11.005.
- 2) Hayakawa Y, Jin G, Wang H, Chen X, Westphalen CB, Asfaha S, Renz BW, Ariyama H, Dubeykovskaya ZA, Takemoto Y, Lee Y, Muley A, Tailor Y, Chen D, Muthupalani S, Fox JG, Shulkes A, Worthley DL, Takaishi S, Wang TC. CCK2R identifies and regulates gastric antral stem cell states and carcinogenesis. *Gut*. 2015 Apr;64(4):544-53. doi: 10.1136/gutjnl-2014-307190.
- 3) Sakitani K, Hirata Y, Hikiba Y, Hayakawa Y, Ihara S, Suzuki H, Suzuki N, Serizawa T, Kinoshita H, Sakamoto K, Nakagawa H, Tateishi K, Maeda S, Ikenoue T, Kawazu S, Koike K. Inhibition of autophagy exerts anti-colon cancer effects via apoptosis induced by p53 activation and ER stress. *BMC Cancer*. 2015 Oct 24;15:795. doi: 10.1186/s12885-015-1789-5.
- 4) Sakitani K, Hayakawa Y, Deng H, Ariyama H, Kinoshita H, Konishi M, Ono S, Suzuki N, Ihara S, Niu Z, Kim W, Tanaka T, Liu H, Chen X, Tailor Y, Fox JG, Konieczny SF, Onodera H, Sepulveda AR, Asfaha S, Hirata Y, Worthley DL, Koike K, Wang TC. CXCR4-expressing Mist1(+) progenitors in the gastric antrum contribute to gastric cancer development. *Oncotarget*. 2017 Nov 10;8(67):111012-111025. doi: 10.18632/oncotarget.22451.