

平成 26 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

研究区分	一般共同研究
研究課題	乳がん臨床検体スフェア培養を用いたドライバー変異の探索
研究代表者	所属・職名・氏名 東京大学医科学研究所先端医療研究センター・教授・東條有伸
受入担当教員	職名・氏名 教授・後藤典子
【研究目的】	申請者は、当研究所の後藤との共同研究にて、「初代乳癌細胞のスフェア培養」の系を立ち上げた(<i>PNAS</i> , 109, p6584, 2012)。本研究では、これを用いて、革新的ながん根治療法につながる分子標的を見いだすことを大きな目的とする。次世代シーケンサーを用いた解析に加えて、先端的バイオインフォマティクスも駆使して、ドライバー変異や、癌幹細胞のアキレス腱やハブとなる鍵分子を同定する。
【研究内容・成果】	<p>手術日に病院から 2 時間以内の研究室（東京大学医科学研究所・分子療法分野もしくは金沢がん研）へ新鮮臨床検体を氷冷状態で運搬する。東大病院、公立昭和病院、南町田病院からは、医科研へ搬送、金大病院からは金沢がん研へ搬送する。</p> <p>検体を、酵素などで処理してシングルセルにし、ビーズ処理により、血球や間質細胞を取り除き、スフェア培養を行う。当日シングルセルにするのが困難な場合は、一旦接着培養させたのちに、数日以内にスフェア培養に持ち込む。残った組織は-80度で凍結保存し、後日、免疫不全マウスに移植するなどの実験を行う。</p> <p>得られたドライバー変異候補分子のノックダウン並びに過剰発現系などによる評価を、臨床検体スフェア培養系や、PDX モデルを用いて、詳細に解析した。この系を用いて、がん幹細胞の安定化を司る候補分子の評価を行った。その結果、HER2/3-PI3 kinase-NF κB ウエイは、がん幹細胞ニッチとして機能するがん細胞内に、IGF2 サイトカインの産生を促すことがわかった。また、IGF2 の受容体である IGF1 受容体(IGF1R)ががん幹細胞の性質を持った細胞に特異的に発現しており、IGF1R シグナルをがん幹細胞内で活性化、その下流で未分化性のマスター調節因子である ID1 転写制御因子の発現を上昇させ、さらにその下流で IGF2 自身が産生されることがわかった。つまり、ポジティブフィードバックメカニズムにより IGF2-IGF1R-ID1-IGF2 サーキットが回転し、一旦これが回転しはじめるとがん幹細胞はこれに依存し安定化されることが明らかになった。</p>
【成果等】	<p>【主な論文発表】 投稿中</p> <p>【学会発表】</p> <p>① Tominaga K, <u>Tojo A</u>, <u>Gotoh N</u> 「HER2/3-NFκB-IGF2-ID1 circuit addiction as a fundamental mechanism for stabilization of the stemness of breast cancer cells in their niche」『第 13 回幹細胞シンポジウム』東京（2015 年 5 月）</p> <p>② Tominaga K, <u>Tojo A</u>, <u>Gotoh N</u> 「HER/NF-κB induced IGF2 loop as a fundamental mechanism for breast cancer stem and niche cell maintenance」『第 37 回 日本分子生物学会年会 ワークショップ、がん幹細胞研究の新展開：多様性と可塑性』横浜（2014 年 11 月）</p> <p>③ Tominaga K, <u>Tojo A</u>, <u>Gotoh N</u> 「HER/NF-κB induced IGF2 loop as a fundamental mechanism for breast cancer stem and niche cell maintenance」『第 73 回日本癌学会学術総会 International Sessions, Cancer Stem Cells』横浜（2014 年 9 月）</p> <p>【その他特筆事項】 なし</p>