

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	特定共同研究	
研究課題	がん幹細胞形質を指標とした新規がん治療標的分子の同定	
研究代表者	所属・職名・氏名	国立がん研究センター研究所・分野長・河野隆志
研究分担者	所属・職名・氏名	国立がん研究センター研究所・ポスドク研究員・中奥敬史
受入担当教員	職名・氏名	教授・後藤典子
【研究目的】	<p>肺がんでは、RET, ALK, ROS, NRG1 等の受容体型チロシンキナーゼ遺伝子や関連遺伝子の融合が生じ、融合遺伝子はマウス線維芽細胞の形質転換能を持つことを明らかになっている。その中でも、NRG1 は融合のみならず高発現によるがん化への寄与も散見され、その対象は肺がんに限られないことが最近明らかとなってきた。しかし、NRG1 を標的とした治療を実現するためには、NRG1 ががん幹細胞形質・薬剤抵抗性に与える影響や、それに関連する下流シグナル伝達経路の解明が必須である。そこで、本共同研究では、NRG1 融合遺伝子 cDNA を強制発現させたヒトがん細胞株における、がん幹細胞形質の獲得と薬剤によるその形質の阻害作用を検討した。本研究の成果は、NRG1 融合遺伝子を標的としたがん治療法開発に大きな意義を持つ。</p>	
【研究内容・成果】	<p>1. 研究倫理審査委員会の承認のもと、浸潤性粘液腺がん等の肺がんの臨床検体を用いて、全 RNA シークエンス/全エクソンシークエンスを行った。同定された NRG1 遺伝子融合を対象に融合遺伝子 cDNA を発現するベクターを構築した。ベクターとしては、共同研究者（後藤典子教授）が精通し、かつ、がん幹細胞形質の研究に用いているレンチウイルスを用いることとした。遺伝子組み換え実験は、研究施設の規定を遵守して行った。</p> <p>2. 共同研究者がこれまでにがん幹細胞形質の研究で用いているヒト肺がん培養細胞 NCI-H322、ヒト乳がん培養細胞 BT20、MCF7 を用いて、CD74-NRG1 融合タンパク質を恒常的に発現する細胞株を樹立した。CD74-NRG1 融合タンパク質を恒常的に発現するがん細胞株では、スフェア形成能が有意に上昇することが確認でき、幹細胞マーカーの発現も認められた。</p> <p>3. CD74-NRG1 融合タンパク質を恒常的に発現するがん細胞株に対して、NRG1 による HER2:HER3 シグナルを抑制する承認薬剤を用いると、スフェア形成能が抑制され、幹細胞マーカーの発現低下も認められた。</p> <p>4. in vivo でも NRG1 シグナルによる幹細胞形質の獲得を確認するために、ヌード・マウスに CD74-NRG1 融合タンパク質を恒常的に発現するがん細胞株を、濃度を段階的に希釈の上、移植し、腫瘍形成するかどうかを調べる実験に着手した。この動物実験は研究施設の規定を遵守して行った。</p> <p>以上の結果は、CD74-NRG1 融合遺伝子が、がん幹細胞形質を上昇させる力を持つことを示している。今後、NRG1 による下流シグナルへの影響をしらべることで、幹細胞形質に関わる細胞内シグナルの変化を調べることで、新たな治療標的となる因子の探索を行う。</p>	
【成果等】	<p>【主な論文発表】 Murayama T, Gotoh N, Kohno T, Nakaoku T, et al. 投稿準備中</p> <p>【学会発表】 1. 中奥敬史、蔦幸治、渡邊俊一、軒原浩、金永学、三嶋理晃、横田淳、河野隆志：Lung invasive mucinous adenocarcinoma (IMA)における治療標的となる新規遺伝子融合、第 55 回日本肺癌学会学術総会、京都、11 月、2014 年 2. 中奥敬史、市川仁、白石航也、坂本裕美、江成政人、荻原秀明、軒原浩、岡山洋和、金永学、三嶋理晃、横田淳、吉田輝彦、河野隆志：Druggable Oncogene Fusions in Invasive Mucinous Lung Adenocarcinoma, 第 73 回日本癌学会学術総会、横浜、9 月、2014 年 3. Takahiko Murayama, Takashi Nakaoku, Koji Tsuta, Masato Enari, Tatsunori Nishimura, Kana Tominaga, Asuka Nakata, Arinobu Tojo, Sumio Sugano, Takashi Kohno, Noriko Gotoh. CD74-NRG1 is a potential oncoprotein that promotes cancer stem cell properties. 第 73 回日本癌学会学術総会、横浜、9 月、2014 年</p> <p>【その他特筆事項】 なし</p>	