

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	正常上皮細胞と癌細胞の相互作用 - 新規な癌治療法の開発を目指して-
研究機関・部局・職名	北海道大学・遺伝子病制御研究所・教授
氏名	藤田 恭之

【研究目的】

ヒトの上皮細胞層に癌が生じた際に、癌細胞と直接それを取り囲む正常上皮細胞の間で何が起こるかについては明らかでなく、癌研究のブラックボックスとなっている。研究代表者らは、テトラサイクリン依存性に癌タンパク質 (Ras、Src など) の発現あるいは癌抑制タンパク質 (Mahjong など) の shRNA の発現を誘導できる哺乳類上皮培養細胞系を確立し、正常上皮細胞に囲まれた変異細胞が上皮細胞層の管腔側に逸脱する、あるいは細胞死を起こすことによって体内の組織から排除されることを世界で初めて明らかにしてきた。これらの現象は変異細胞のみが存在した時には起こらないことから、**正常上皮細胞には上皮細胞層から変異細胞を駆逐する能力があることが分かった。**

当プログラムでは、下記三つの研究テーマを達成し、この新規研究分野をさらに発展することによって、正常細胞が癌細胞を排除するメカニズムを活性化する、あるいは癌細胞が正常細胞からの排除を免れるメカニズムを不活性化するという、**癌細胞を取り巻く社会性に焦点を当てた全く新しいタイプの治療薬の開発**を究極の目的とした。

1) 正常上皮細胞と他のタイプの変異細胞との相互作用の解析

正常細胞と変異細胞の境界で起こる現象がこれまで研究代表者らが報告してきた Ras や Src などの変異に特異的に起こるのかを明らかにするために、様々な他の変異について解析する。まずは、癌抑制タンパク質 p53 および Scribble について正常上皮細胞とこれらの変異細胞間で起こる現象を明らかにする。正常上皮細胞と変異細胞をそのまま混合培養すると、sorting という現象により同種の細胞が細胞塊を形成し、異なった細胞間の相互作用を見ることはできない。そのため変異の発現をテトラサイクリンなどによって誘導できる細胞株を樹立する必要がある。

2) 正常上皮細胞と変異細胞間の認識メカニズムおよびシグナル伝達機構の解明

正常上皮細胞と変異細胞がお互いをどのように認識し、どのように反応しているのか。正常上皮細胞と変異細胞間の認識機構およびそれに伴うシグナル伝達経路の制御に関わる分子をさまざまな生化学的手法を用いて同定し、その機能を解析する。実際には、正常上皮細胞と変異細胞の間で発現が亢進しているあるいはその機能が制御されている分子を精力的にスクリーニングしていく。同定した分子については、さらにその細胞内局在を調べるとともに、正常上皮細胞と変異細胞の間で起こる現象にどの

ように関与しているのかを明らかにする。

3) マウスを用いた ex vivo および in vivo モデルシステムの開発および解析

哺乳類では、マウスが癌研究のモデル動物として最も頻繁に使われてきた。しかし、ほとんどの研究では組織特異的なプロモーターを用いて遺伝子発現の調節を行うため、遺伝子の変異が同組織のすべての細胞に同時に起こる。そのため、実際の癌は正常細胞に取り囲まれた状態で起こるという点は再現できないという短所があった。本研究課題ではマウスにおいて、上皮細胞層でモザイク様に癌遺伝子や癌抑制遺伝子に変異を起こした後、変異細胞とそれを取り巻く正常細胞の動態の変化を観察していくようなシステムを開発し、それを用いて解析を行う。

【総合評価】

<input type="radio"/>	特に優れた成果が得られている
<input type="radio"/>	優れた成果が得られている
<input type="radio"/>	一定の成果が得られている
<input type="radio"/>	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

本研究課題は「周囲の正常上皮細胞に癌細胞を攻撃させる」という研究代表者の独自の発想に基づいて研究を推進した。研究代表者らはこれまでに Ras や Src などのがん遺伝子を発現した細胞が周囲の正常細胞との細胞競合により排除されることを見出し、本研究では 1) 他のタイプの変異細胞でも同様の現象が見られるかを検討、2) 正常細胞と変異細胞の相互認識に関わる分子メカニズムの解明、3) この現象を in vivo で解析するためのマウスを用いた実験系の開発と解析、の3つを目的として研究を遂行した。研究は順調に進行し、3つの研究項目全てにおいて興味深い成果を得た。正常細胞と遺伝子変異が入った細胞との細胞間相互作用を詳細に解析し、その分子機構の解明、責任候補分子の同定、in vivo 発がんモデルの作成に成功したことは極めて高く評価できる。さらには正常上皮細胞の抗腫瘍能を利用した新規癌予防・治療薬の開発に着手したことは当初の目的を超えた成果と言える。学問的には新しい領域を開拓し、EDAC (epithelial defense against cancer) という新しい概念を提起するなど、ブレークスルーにつながるような成果を得たことを高く評価する。

② 目的の達成状況

・所期の目的が

(全て達成された 一部達成された 達成されなかった)

本研究課題は正常細胞の中にがん細胞が発生したときに、周囲の正常細胞ががん細胞を排除する機序を明らかにして、がん治療に応用することを目的としている。大きく3つに分けて研究を遂行した。

1) 正常上皮細胞と他のタイプの変異細胞との相互作用：RAS や SRC だけでなく他

の遺伝子変異を入れたとき、また MDCK だけでなく他の細胞でも同様に排除機構が生じるかを検討した。その結果、Scribble および p53 遺伝子を発現させて排除機構が生じることを観察し、論文を発表した。さらに正常細胞に囲まれた p53 変異細胞がネクロプトーシスを起こして上皮細胞層から逃れることを明らかにした。

2) 正常細胞と変異細胞の間の認識メカニズムとシグナル伝達:Vimentin, filamin が、変異細胞が正常細胞から押し出される際に機能することを見だし、さらに filamin が vimentin の上流で機能していることを明らかにした。この上皮細胞が有する「免疫細胞を介さない抗腫瘍能」を EDAC と名付けた。さらに変異細胞に隣接した正常上皮細胞において発現が亢進している細胞外液性因子を見出し、正常細胞における未知の抗腫瘍シグナル伝達経路の存在を示唆した。また、これらの現象をライブイメージで描出することを可能にした。

3) マウスを用いた ex vivo 及び in vivo モデルシステムの開発及び解析 (発癌モデル作製): 少数細胞の変異から発癌する研究代表者らのモデルを実証するモデルの作製については、CRE-LOX で KRasV12 変異遺伝子をモザイク様に遺伝子導入する方法を用い、上皮細胞間の細胞競合を観察できる世界初のマウスモデルシステムを確立した。さらに共同研究で細胞競合を ex vivo で観察する系を確立した。これらの成果により、癌の超初期段階に焦点を当てた研究が可能となることが期待される。

3つの研究項目について順調に研究成果が得られ、今後も本事業で得られた成果が大きく発展することが期待される。

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

マススペクトロメトリーなどを用いた正常細胞と変異細胞の間の認識メカニズムとシグナル伝達機構に関わる新たな分子の同定、マウスを用いた ex vivo および in vivo モデルシステムの開発など、独自性の高い、優位性の高い成果を得た。その結果、「免疫細胞を介さない抗腫瘍能」として EDAC という新規の概念を提唱するなど、ブレークスルーにつながるような現象を見出した。また、正常上皮細胞の抗腫瘍能を利用した薬剤スクリーニングをハイスループットで行う系を確立し、候補化合物を複数同定するなど、当初の目的を超えた成果が得られた点は高く評価したい。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

これまで正常細胞の中に変異細胞が発生したときの排除機構は明確にはなっていない。哺乳動物を用いた実験系でその機序が生じることを示したことには大きな意義があり、新しい研究領域を開拓したといえる。

これまで、哺乳類のがん細胞に対する正常細胞による排除メカニズムとしては、専ら免疫応答が研究されてきたが、がん細胞を取り囲む一般的な正常細胞ががん細胞を排除するメカニズムが本研究課題によって明らかとなったことは特筆すべき成果と言える。今後は癌の超初期段階に焦点を当てた新しい予防法や治療法の開発につながる可能性があり、社会的貢献が期待できる。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

研究は適切な体制のもとに進められてきた。研究計画、実施体制、マネジメント、助成金の利活用に特に問題は認められない。

本研究に関する研究成果は挙がっており、すでに Nature Communications などの国際一流誌への論文発表を行い、今後も複数の論文発表が期待できる。国際会議でも活発に発表が行われている。製薬会社との共同研究なども行われており、知的財産権の出願を期待したい。

サイエンスカフェなどでの直接対話、新聞・ラジオなどのマスコミによる情報発信、ホームページなどの電子媒体を用いた情報発信、高校生への研究成果の紹介など、研究成果の発信に努めた。