



幹細胞とがんとの関わり

近年、iPS 細胞を用いた再生医療への応用が急速に進展、造腫瘍性 (tumorigenicity) の少ないリプログラミング手法により作製された iPS 細胞由来の分化細胞を用いた前臨床・臨床研究が進められています¹⁾。しかしながら、臨床への応用において、特にゲノムの安定性・バリエーションと造腫瘍性が大きなハードルとなっています^{2) 3) 4) 5)}。

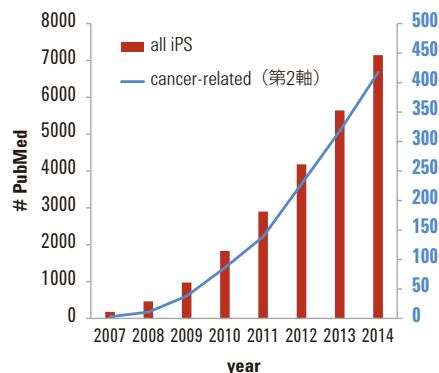
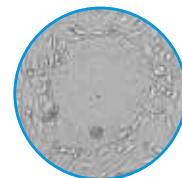
iPS 細胞が報告された当初から、がんや造腫瘍性に関する論文数はほぼ一定の割合を保って増加していますが(右図)その内訳は様々であり、造腫瘍性に対する指針・検出法の創成・培養法の改良など様々な方面での進展が見られます^{6) 7) 8) 9)}。

一方、がんのより深い理解の為に iPS 細胞の持つ性質を利用した iPS 細胞由来のがん幹細胞モデル作製の試みに関するレビュー¹⁰⁾ や、がん幹細胞様の細胞における代謝制御のレビュー¹¹⁾ の他、iPS 細胞の研究進展と並行して、悪性度の高い(がん幹細胞が豊富であると考えられる)がんの新たな治療戦略の報告が出ています。

今回は、アジレント社の様々なマイクロアレイ(遺伝子発現マイクロアレイ、miRNA マイクロアレイ、CGH マイクロアレイ)を用いて、iPS 細胞における造腫瘍性を低下させる新たな試みや、がん幹細胞の抗がん剤耐性の機構解明に取り組んだ論文をご紹介します。

- 1) ロードマップ(工程表)イメージ
http://www.lifescience.mext.go.jp/files/pdf/n1025_02.pdf
- 2) 日経バイオテク ONLINE
<https://bio.nikkeibp.co.jp/article/news/20150619/185715/>
- 3) *Nat Med.* 2013 Aug; **19**(8) : 998-1004. Lee AS, *et al.*,
- 4) *J Biol Chem.* 2014 Feb 21; **289**(8) : 4585-93. Harding J, *et al.*,
- 5) *Nat Biotechnol.* 2015 Sep; **33**(9) : 890-1

- 6) iPS 細胞等をもとに製造される細胞組織加工製品の造腫瘍性に関する議論のまとめ <http://www.pmda.go.jp/files/000155505.pdf>
- 7) *Regen Med.* 2015 Mar; **10**(2 Suppl) : 1-44. Andrews P, *et al.*,
- 8) *Anal Sci.* 2014; **30**(9) : 859-64. Kaji N, *et al.*,
- 9) *Sci Rep.* 2014 Jan 8; **4** : 3594. Nakagawa M, *et al.*,
- 10) *J Stem Cells Regen Med.* 2014; **10**(1) : 2-7. Kasai T, *et al.*,
- 11) *Cell Cycle.* 2015 Mar; **4** Menendez JA, *et al.*,



リプログラミング過程と造腫瘍性に関する植物ホルモンの役割の解明



植物ホルモンを用いた植物体細胞のリプログラミングが 1957 年に発見され、これらの植物ホルモンは哺乳類の繊維芽細胞を単独でリプログラミングできないことが既に知られています。今回、Alvarez *et al.* は、これらの植物ホルモンが山中因子を用いたリプログラミング効率を高めるだけでなく、iPS 細胞由来のがんの脅威を効果的に減少させることを発見しました。彼らはマウス胚線維芽細胞を用いたリプログラミング過程において 2 種類の植物ホルモン(インスリン自己抗体 IAA とサイトカイニン IPA)を投与した効果を遺伝子発現マイクロアレイを用いた網羅的解析により調べました。その結果、これらの植物ホルモンによって多くの細胞周期関連遺伝子の発現が上昇し、追加のリアルタイム PCR 解析から多能性遺伝子 FGF4/Oct4/Sox2 および UTF1 の発現の増加が初期のリプログラミング細胞中での植物ホルモン処理によることを示しました。

また興味深いことに、彼らは植物ホルモン処理がリプログラミング過程でがん遺伝子 c-Myc の発現を減少させることも示しました。さらに当該 iPS 細胞の分化系列の腫瘍形成能について解析を行い、植物ホルモン IPA の処理によりコロニー形成が減少することが示されました。がん研究の分野では Cdh1 がヒトとマウスの幹細胞の多能性と自己再生の主要な制御因子として機能することが報告されていますが、機能喪失または機能獲得の手法を用いた確認はなされていません。彼らは今回の研究から、マウス細胞のリプログラミング中の植物ホルモンによりインスリン様増殖因子(IGF)のシグナル伝達に関わる遺伝子の発現が減少しており、がんにおける病原性の役割を IGF シグナル伝達経路が持つことから、これらの植物ホルモンが発がんに逆らう役割を持つということを考察しました。近い将来、再生医療のためにこれらの植物ホルモンを利用する検証がなされることが期待されます。

"Plant hormones increase efficiency of reprogramming mouse somatic cells to induced pluripotent stem cells and reduce tumorigenicity." *Stem Cells Dev.* 2014 Mar 15; **23**(6) : 586-93. Alvarez Palomo AB and Edel MJ, PMID: 24251409





遺伝子発現マイクロアレイを用い、ENPP1 が miR-27b のターゲット遺伝子であることを示唆

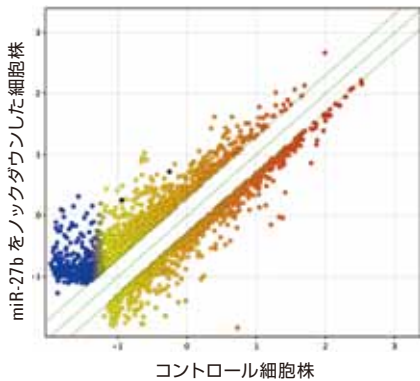


Fig. マイクロアレイによる miR-27b ターゲット遺伝子の探索 (FC>2, P<0.05) GSE67631 を弊社 GeneSpring GX にて表示。軸: log 10 normalized signal intensity, 2 つの黒い dot: ENPP1 対応プローブ。著者らはこの他 miR-27b を過剰発現させた細胞株とコントロール細胞との比較データや miR-27b の予測ターゲット遺伝子群より、MCF7 における miR-27b のターゲット遺伝子を同定。

がん幹細胞 (cancer stem cell) の存在は様々ながん種において報告されていますが、その形質である薬剤耐性や腫瘍形成能の獲得機序は未だ十分に解明されていません。Yamamoto *et al.* は前報にてアジレント CGH マイクロアレイや miRNA マイクロアレイを用い、抗がん剤であるドセタキセルに耐性をもつ乳がん細胞において、9 番染色体に位置する miR-27b を含む領域でヘテロな欠失があることを報告しました^{*}。本報ではアジレント遺伝子発現マイクロアレイを用い、miR-27b のターゲット遺伝子候補を探索し、その中から EctoNucleotide Pyrophosphatase/Phosphodiesterase family member 1 (ENPP1) が miR-27b の直接のターゲット遺伝子であることを見出しました。ENPP1 が ABC トランスポーターである ABCG2 の発現や細胞表面への局在を促し、がん幹細胞形質を示すサイドポピュレーションの形成を誘導することで、ドセタキセル耐性や腫瘍形成能が獲得されることを明らかにしました。また ENPP1 は、2 型糖尿病治療薬のメトホルミンのターゲットである可能性も示されました。以上の成果から、がん幹細胞形質が獲得される機構のさらなる解明や乳がんの新しい治療方法が開発されることが期待されます。

"Loss of microRNA-27b contributes to breast cancer stem cell generation by activating ENPP1." *Nat Commun.* 2015 Jun 12; 6: 7318. Takahashi RU. *et al.* PMID: 26065921

^{*} "An integrative genomic analysis revealed the relevance of microRNA and gene expression for drug-resistance in human breast cancer cells." *Mol Cancer.* 2011 Nov 3; 10: 135. Yamamoto Y. *et al.*

がん化に関与する SOX2 のコピー数が変化していないことを CGH マイクロアレイおよび定量 PCR システムで確認



皮膚の扁平上皮がんは世界で年間 50 万人が発症する皮膚がんです。扁平上皮がんでもがん幹細胞の存在が確認されており、今回 Boumahdi S. *et al.* はマウス扁平上皮がんのがん幹細胞において、様々なタイプの胚や幹細胞で発現が確認されている転写因子 Sox2 が、がん幹細胞などのマーカーである CD34 が陽性である上皮腫瘍細胞において発現が高いことを見出しました。その一方、皮膚腫瘍細胞でも Sox2 遺伝子のコピー数変化がないことがアジレント CGH マイクロアレイおよび定量 PCR システムで明らかになりました。Sox2 を

欠失させたマウスで腫瘍を誘発すると、外皮に変化は見られませんでした。腫瘍の出現を数か月遅らせ、腫瘍の数を減らす効果がありました。Sox2 が初期腫瘍において腫瘍形成とがん幹細胞の機能を制御するのかが確認するため、皮膚腫瘍がある Sox2 欠失マウスにタモキシフェンを投与するとパピローマの数が減少しサイズも著しく小さくなりました。このことから、Sox2 は生体内において良性および悪性扁平上皮がんの初期腫瘍形成に重要な役割を果たすことが示されました。さらに ChIP-qPCR で Sox2 の結合遺伝子を探索すると、Sox2 の欠失により初期がん幹細胞において腫瘍増殖や代謝、幹細胞性に関わる遺伝子への結合が弱まり、Sox2 はがん細胞増殖や幹細胞性などの重要遺伝子に直接関与していることが示唆されました。様々ながんが発現が確認されている Sox2 のがん幹細胞における役割を解明することで腫瘍形成のメカニズム解明が進むことが期待されます。

"SOX2 controls tumour initiation and cancer stem-cell functions in squamous-cell carcinoma." *Nature.* 2014 Jul 10; 511(7508): 246-50. Boumahdi S. *et al.* PMID: 24909994

アジレントゲノミクス関連製品サイト : <http://AgilentGenomics.jp>



[お問い合わせ窓口]
アジレント・テクノロジー株式会社
本社 / 〒 192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1
●カスタムコンタクトセンター ☎ 0120-477-111
email_japan@agilent.com
※仕様は予告なく変更する場合があります。
※本資料掲載の製品は全て研究用です。
その他の用途にご利用頂くことはできません。

<http://AgilentGenomics.jp>

© Agilent Technologies, Inc. 2016
Printed in Japan, Jan. 26, 2016

