

# 先進がんモデル共同研究センター

メタデータ	言語: 出版者: 公開日: 2024-06-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/0002000699">http://hdl.handle.net/2297/0002000699</a>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



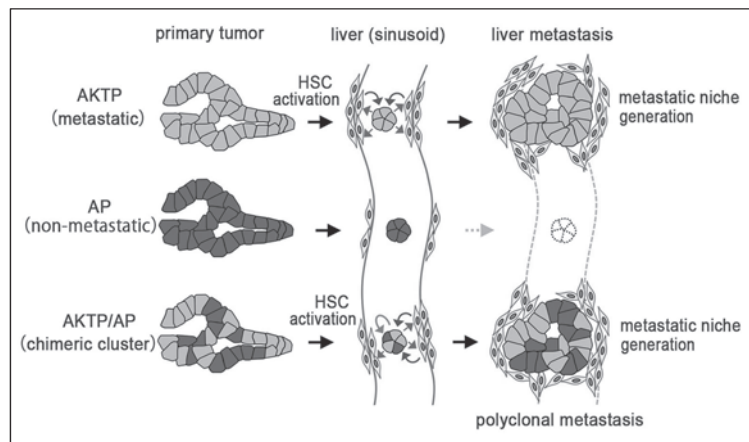
先進がんモデル共同研究センター

## Division of Genetics 腫瘍遺伝学研究分野

Professor	Masanobu Oshima 大島 正伸
Associate Professors	Hiroko Oshima 大島浩子, Mizuho Nakayama 中山瑞穂
Assistant Professor	Dong Wang (WPI-Nano LSI)
Postdoctoral Researcher	Yumi Terakado 寺門 侑美
Graduate Students	Daisuke Yamamoto 山本 大輔, Toshikatu Tsuji 辻 敏克 (D4) Atsuya Morita 森田 敦也 (D3), Xuelian Lei 雷雪蓮 (D2)
Undergraduate Student	Ikumi Kawai 川合 育美 (MRT program)
Technical Assistants	Manami Watanabe 渡辺真奈美, Ayako Tsuda 津田理子

### 【 Abstract 】

We recently established *in vivo* model of liver metastasis by spleen transplantation of mouse intestinal tumor-derived organoids (Sakai et al, Cancer Res, 2018). Using this model system, we have examined a novel concept of polyclonal metastasis. In this system, cancer cell clusters are detached from the primary site, disseminated to distant organs, and develop metastasis lesion, which can explain how genetic heterogeneity transfers from the primary site to metastatic lesions. AKTP organoids formed liver metastasis when transplanted to the spleen (Figure, *top*), while AP organoids did not (Figure, *middle*). Notably, when non-metastatic AP cells were co-transplanted with AKTP, they formed chimeric metastasis (Figure, *bottom*). Mechanistically, AKTP cells induced fibrotic niche generation by activation of hepatic stellate cells (HSCs), which may support survival and proliferation (Kok *et al*, Nat Commun, 2021).



These results expand our knowledge about cancer metastasis, which further contributes to discovery of effective drug targets against metastasis.

Using the organoid system, we further analyzed mechanical properties of tumor cell surface, such as topography and stiffness, by using Scanning Ion Conductance Microscope (SICM). Importantly, metastatic organoids (AKT, AKTP, AKTPF) showed distinct physical properties, i.e., increased roughness, membrane volume changes and softness. The results suggest a potential use of SICM for diagnosis of metastatic ability (Wang *et al*, Biomaterials, 2021).

We have established human gastric and colon cancer-derived organoids. Using these organoids, we examined the roles of tumor suppressor FOXO3 (Tsuji et al, Oncogene, 2021) and E3 ligase RNF43 in cancer development (Yamamoto et al, J Pathol, in press).

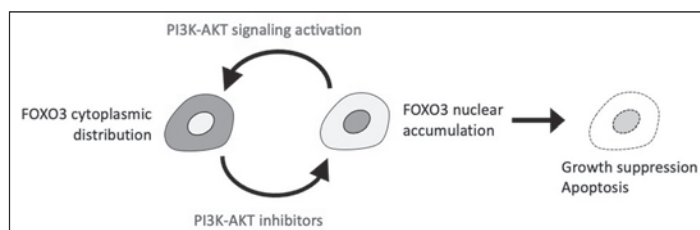
## <2021年の研究成果、進捗状況及び今後の計画>

### 1. 大腸がんポリクローナル転移機構の研究

新しいがん転移機構として、ポリクローナル転移モデルが提唱されている。このモデルでは、遺伝的背景の異なる細胞集団が構成する細胞塊が、原発巣から離脱して血流を介して遠隔臓器に転移巣を形成する。そこで、遺伝子変異と悪性度の異なるマウス腸管腫瘍由来オルガノイドを用いて、ポリクローナル転移機構について検証実験を行った。その結果、非転移性の AP 細胞を高い転移能を獲得した AKTP と同時に脾臓移植すると、AP 細胞と AKTP 細胞で構成する転移巣が形成された（前頁図）。興味深いことに、転移巣形成後は AKTP 細胞を枯渇させても AP 細胞単独で多発性転移巣が形成された。以上の結果は、転移機構における新しい概念の樹立につながる知見として期待される（Kok *et al*, Nat Commun, 2021）。今後、ヒト消化器由来オルガノイドを樹立して検証を行う。

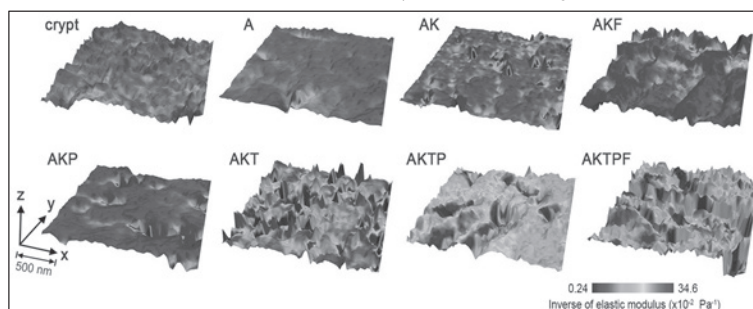
### 2. FOXO3 細胞質局在型の胃がん発生機構の研究

FOXO3 を高発現するヒト胃がん細胞株では、PI3K/AKT 経路の活性化により FOXO3 は細胞質に局在している。これらの細胞を AKT 阻害薬で処理すると、FOXO3 は核に局在し、細胞増殖抑制やアポトーシスが誘導される。すなわち、がん細胞は FOXO3 の細胞内局在制御により、がん抑制機能から免れると考えられた（右図）。そこで、活性化型 FOXO3 発現マウスを作製し、胃癌モデルの Gan マウスと交配実験を行った結果、腫瘍細胞での FOXO3 核移行による顕著な増殖抑制を認めた。この結果により、FOXO3 細胞質型胃がんに対する AKT 阻害薬治療の可能性が考えられた（Tsuji *et al*, Oncogene, 2021）。



### 3. 腸管腫瘍オルガノイド細胞表面構造の物性解析

Scanning Ion Conductance Microscope (SICM) は、マイクロピペットが細胞に近づいた際のピペット内外のイオン電流の変化から、細胞表面のトポグラフィ、弾性等の物性変化をナノレベルで計測できる走査型プローブ顕微鏡である。SICM を用いて、腸管腫瘍オルガノイド細胞表面の解析を行った結果、転移性腫瘍細胞（AKT、AKTP、AKTPF）に特徴的な変化（高い構造物の高速変動と低い剛性）が確認され、新規診断法開発につながる事が期待された（右図）。また、ヒト大腸がん由来オルガノイドを用いて、TGF- $\beta$  刺激による物性の悪性化細胞型への変化を観察した（Wang *et al*, Biomaterials, 2021）。



### 4. RNF43 遺伝子変異による大腸がん発生機構の研究

MSI 型がん細胞では、Wnt 受容体 Frizzled を標的とする E3 リガーゼの RNF43 遺伝子変異が見られる。MSI 型大腸がん 3 症例を含む 9 系統のヒト大腸がんオルガノイドを樹立して解析した結果、RNF43 遺伝子ヘテロ変異が R-spondin 依存型の大腸がん発生を誘導する可能性が示された（Yamamoto *et al*, J Pathol, in press）。

## 【研究業績】

### <発表論文>

#### 原著論文

(腫瘍遺伝学分野主体)

1. Kok SY, Oshima H, Takahashi K, Nakayama M, Murakami K, Ueda HR, Miyazono K, Oshima M. Malignant subclone drives metastasis of genetically and phenotypically heterogeneous cell clusters through fibrotic niche generation. **Nat Commun**, 12: 863, 2021.
2. Tsuji T, Maeda Y, Kita K, Murakami K, Saya H, Takemura H, Inaki N, Oshima M, Oshima H. FOXO3 is a latent tumor suppressor for FOXO3-positive and cytoplasmic-type gastric cancer cells. **Oncogene**, 40: 3072-3086, 2021.
3. Wang D, Sun L, Okuda S, Yamamoto D, Nakayama M, Oshima H, Saito H, Kouyama Y, Mimori K, Ando T, Watanabe S, Oshima M. Nano-scale physical properties characteristic to metastatic intestinal cancer cells identified by high-speed scanning ion conductance microscope. **Biomaterials**, 2021. [epub ahead of print]

(共同研究)

1. Murakami K, Terakado Y, Saito K, Jomen Y, Takeda H, Oshima M, Barker N. A genome-wide CRISPR screen reveals factors regulating Wnt-dependent renewal of mouse gastric epithelial cells. **Proc Natl Acad Sci USA**, 118: e2016806118, 2021.
2. Nishina T, Deguchi Y, Ohshima D, Takeda W, Ohtsuka M, Shichino S, Ueha S, Yamazaki S, Kawauchi M, Nakamura E, Nishiyama C, Kojima Y, Adachi-Akahane S, Hasegawa M, Nakayama M, Oshima M, Yagita H, Shibuya , Mikami T, Inohara N, Matsushima K, Tada N, Nakano H. Interleukin-11-expressing fibroblasts have a unique gene signature correlated with poor prognosis of colorectal cancer. **Nat Commun**, 12: 2281, 2021.
3. Hangai S, Kawamura T, Kimura Y, Chang CY, Hibino S, Yamamoto D, Nakai Y, Tateishi R, Oshima M, Oshima H, Kodama T, Moriya K, Koike K, Yanai H, Taniguchi T. Orchestration of myeloid-derived suppressor cells in the tumor microenvironment by ubiquitous cellular protein TCTP released by tumor cells. **Nat Immunol**, 22: 947-957, 2021.
4. Miyata K, Imai Y, Hori S, Nishio M, Loo TM, Okada R, Yang L, Nakadai T, Maruyama R, Fuii R, Ueda K, Jiang L, Zheng H, Toyokuni S, Sakata T, Shirahige K, Kojima R, Nakayama M, Oshima M, Nagayama S, Seimiya H, Hirota T, Saya H, Hara E, Takahashi A. Pericentromeric noncoding RNA changes DNA binding of CTCF and inflammatory gene expression in senescence and cancer. **Proc Natl Acad Sci USA**, 118: e2025647118, 2021.
5. Dawson RE, Deswaerte V, West AC, Tang K, West AJ, Balic JJ, Gearing LJ, Saad MI, Yu L, Wu Y, Bhathal PS, Kumar B, Chakrabarti JT, Zavros Y, Oshima H, Klinman DM, Oshima M, Tan P, Jenkins BR. STAT3-mediated upregulation of the AIM2 DNA sensor links innate immunity with cell migration to promote epithelial tumorigenesis. **Gut**, 2021. [online ahead of print]
6. Iida N, Mizukoshi E, Yamashita T, Yutani M, Seishima J, Wang Z, Arai K, Okada H, Yamashita T, Sakai Y, Masuo Y, Agustina R, Kato Y, Fujinaga Y, Oshima M, Honda M,

Lebreton F, Gilmore MS, Kaneko S. Chronic liver disease enables gut *Enterococcus faecalis* colonization to promote liver carcinogenesis. **Nat Cancer**, 2: 1039-1054, 2021.

#### 著書・総説

1. Oshima H, Ju Xiaoli, Echizen K, Han TS, Oshima M. The role of inflammation in gastric tumorigenesis. In: Research and Clinical Applications of Targeting Gastric Neoplasms, Chapter 2. Ed. by Jenkins B, Academic Press, 25-41, 2021.

#### (日本語総説)

1. 大島浩子, 中山瑞穂, 大島正伸. 炎症反応と胃発がん. 臨床免疫・アレルギー科 (科学評論社) 76: 708-714, 2021.
2. 中山瑞穂, 大島浩子, 大島正伸. がん悪性化をもたらす炎症反応と転移ニッチ形成. 実験医学増刊「がん微小環境に1細胞レベルで挑む」(羊土社) 39: 1921-1926, 2021.

#### <学会等発表>

##### (国際学会・シンポジウム)

1. Oshima M. Malignant cancer cells drive polyclonal metastasis through fibrotic niche generation. The 39<sup>th</sup> Sapporo International Cancer Symposium, (札幌) 2021年7月6日.
2. Oshima H. FOXO3, A latent tumor suppressor of gastric cancer. The 10<sup>th</sup> FUSCC-CRIKU Joint Symposium on Tumor Biology 2021, (金沢) 2021年9月15日.

##### (国内学会・セミナー)

1. 大島正伸, 中山瑞穂, 大島浩子. 「がん微小環境ネットワークを制御するシグナルを標的とした治療法の開発」第42回日本炎症・再生医学会, (東京) 2021年7月7日.
2. Oshima M. Gastric cancer mouse model: inflammation, genetic alteration, and impaired differentiation. 第80回日本癌学会学術総会, 横浜, 2021年10月1日.
3. Nakayama M, Oshima H, Oshima M. Gain-of-function mutant p53 hyperactivates Wnt signaling in colon cancer cells. 第80回日本癌学会学術総会, 横浜, 2021年10月1日.
4. Oshima H, Nakayama M, Takahashi K, Miyazono K, Oshima M. The fibrotic microenvironment that promotes polyclonal metastasis of intestinal tumors. 第80回日本癌学会学術総会, 横浜, 2021年10月2日.
5. Oshima M. Tumor-derived organoids to study gastrointestinal cancer metastasis. 第80回日本癌学会学術総会, 横浜, 2021年10月2日.

#### <外部資金>

1. 革新的先端研究開発支援事業 (AMED-FORCE) [研究代表者: 大島正伸]  
「ヒト大腸がんポリクローナル転移機構に関する研究開発」18,000千円
2. 革新的がん医療実用化研究事業 (AMED) [研究代表者: 大島正伸]

- 「大腸がん微小転移巣形成機構の理解による新規予防治療戦略の確立」14,500 千円
3. 科研費 基盤研究 (A) [研究代表者: 大島 正伸]  
「大腸がん自然転移・再発モデルの開発による悪性化進展機構の研究」7,200 千円
4. 科研費 基盤研究 (B) [研究代表者: 大島 浩子]  
「炎症性・線維性微小環境による大腸がん転移促進機構の解明」3,900 千円
5. 科研費 基盤研究 (C) [研究代表者: 中山 瑞穂]  
「p53 変異/欠損による大腸がん微小環境ネットワーク形成に関する個体モデル解析」1,000 千円
6. 若手研究 [研究代表者: Dong Wang]  
「The role of activin combined with different gene mutations in colorectal cancer EMT」  
1,400 千円

#### <その他>

文部科学省新学術領域研究 学術研究支援基盤形成「先端モデル動物支援プラットフォーム」若手支援技術講習会開催 (実行委員長: 大島正伸): 2021 年 9 月 6 日, WEB 開催 (大学院生、博士研究員、助教等の若手研究者 93 名参加)

## Division of Cancer Cell Biology

### 分子病態研究分野

Professor	Noriko Gotoh 後藤 典子
Assistant Professors	Tatsunori Nishimura 西村 建徳 Yasuto Takeuchi 竹内 康人
Graduate Students	Reheman Yiming (D4), Xiaoxi Chen (D4), Li Mengjiao (D4), SARENQIQIGE (D3), Wang Yuming (D3) Masahiro Yamazaki 山崎 雅弘 (D1) Huazi Zhang (D1) Hiroka Matsumoto 松本 寛加 (M1) Risa Kashimura 柏村 里沙 (卒研)
Technical Staff	Hitomi Takamura 高村 瞳 (2021.10~)
Assistant Staff	Kiyoko Take 武 紀代子

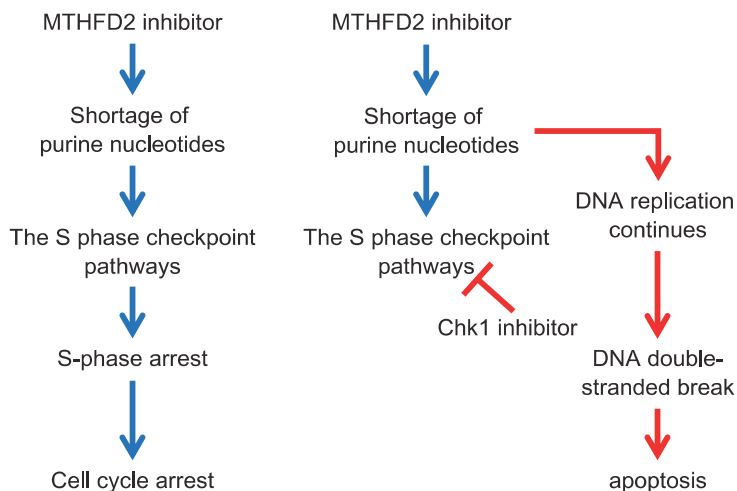
#### 【 Abstract 】

1. Cancer cells are characterized by their unregulated proliferation and require large amounts of nucleotides to replicate their DNA. One-carbon metabolism contributes to purine and pyrimidine nucleotide synthesis by supplying one carbon atom. Although mitochondrial one-carbon metabolism has recently been focused on as an important target for cancer treatment, few specific inhibitors have been reported. In this study, we aimed to examine the effects of DS18561882 (DS18), a novel, orally active, specific inhibitor of methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (MTHFD2), a mitochondrial enzyme involved in one-carbon metabolism. Combinatorial treatment with DS18 and inhibitors of checkpoint kinase 1 (Chk1), an activator of the S phase checkpoint pathway, efficiently induced apoptotic cell death in breast cancer cells and suppressed tumorigenesis in a triple-negative breast cancer patient-derived xenograft model. Combinatorial treatment with both inhibitors released cell-cycle arrest caused by activation of the S-phase checkpoint pathway triggered by MTHFD2 inhibition, but induced accumulation of DNA double-strand breaks, leading to apoptotic cell death. Collectively, a combination of MTHFD2 and Chk1 inhibitors would be a rational treatment option for patients with triple-negative breast cancer.

2. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors (EGFR-TKIs) are effective in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) harboring EGFR mutations. However, due to acquired resistance to EGFR-TKIs, even patients on third-generation osimertinib, have a poor prognosis. Resistance mechanisms are still not fully understood. Here, we demonstrate that the increased expression of MUSASHI-2 (MSI2), an RNA-binding protein, is a novel mechanism for resistance to EGFR-TKIs. Transcriptome analysis revealed that *MSI2* was



among the stemness-related genes highly upregulated in EGFR-TKI-resistant cells. Knockdown of *MSI2* reduced cancer stem-like properties, including the expression levels of Nanog, a core stemness factor. We demonstrated that the knockdown of *MSI2* restored sensitivity to osimertinib or gefitinib in EGFR-TKI-resistant cells to levels similar to those of parental cells in vitro. Finally, *MSI2* knockdown greatly increased the sensitivity to osimertinib in vivo. Collectively, our findings provide proof of principle that targeting the *MSI2*-Nanog axis in combination with EGFR-TKIs would effectively prevent the emergence of acquired resistance.



MTHFD2 は、がん特異的な核酸合成系であり、がんの標的として近年大変注目されているものの、未だ臨床で使用可能な阻害剤は開発されていない。今回、企業との共同研究により新規に開発された経口投与可能な MTHFD2 阻害剤を用いて、予後不良なトリプルネガティブタイプ乳がんに対する効果を調べた。患者由来移植モデル (Patient-derived xenograft[PDX]) も用いた様々な解析を行った結果、Chk1 阻害剤との併用療法により著明な相乗効果が期待されることが示された。

## <2021 年の研究成果，進捗状況及び今後の計画>

乳がんに着目して新たなマウスがんモデルの作出と、患者乳がん組織由来細胞 (Patient-derived cancer cells, PDC) のスフェロイド及びオルガノイド培養技術を工夫し、Patient-derived xenograft (PDX) モデルの構築とそのカタログ化を行ってきた。今年度は、希少がんのオールジャパンコンソーシアムの中で、これまでの技術を活かし、骨軟部腫瘍の PDX モデルの構築も開始した。

近年多くの細胞膜上のたんぱく質や酵素活性等が、「がん幹細胞」を濃縮する手段として使えることが、私どもを含め多くの研究者より報告されている。しかし、これらのたんぱく質等を用いて濃縮された細胞集団の機能は、それぞれ異なる。つまりがん幹細胞が濃縮されている細胞集団自体不均一であることがわかってきて、がん幹細胞の親ともいえる共通の標的細胞は果たしてあるのか、あるとしたらそれがどのように維持されているのか、依然わかっていないことが多い。がん幹細胞の親をみつけるために、私どもがこれまでがん幹細胞を濃縮すると報告してきた NP1 と IGF1 受容体を用いて、トリプルネガティブ乳がん臨床検体由来の細胞をスフェロイド培養共通に分画される細胞集団を解析した。共通に濃縮される細胞群は、さらに細分化されることがわかってきて、がん幹細胞の親の正体が明らかになってきた。

## 【 研究業績 】

< 発表論文 >

原 著

(研究室主体)

1. Lee J, Chen X, Wang Y, Nishimura T, Li M, Ishikawa S, Daikoku T, Kawai J, Tojo A, Gotoh N.: A novel oral inhibitor for one-carbon metabolism and checkpoint kinase 1 inhibitor as a rational combination treatment for breast cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, Dec 20:584, 7-14, 2021. DOI: [org/10.1016/j.bbrc.2021.11.001](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.11.001)
2. Takeuchi Y, Kimura N, Murayama T, Machida Y, Iejima D, Nishimura T, Terashima M, Wang Y, Li M, Sakamoto R, Yamamoto M, Itano N, Inoue Y, Ito M, Yoshida N, Inoue J-I, Akashi K, Saya H, Fujita K, Kuroda M, Kitabayashi I, Voon D, Suzuki T, Tojo A, Gotoh N.: The membrane-linked adaptor FRS2beta fashions a cytokine-rich inflammatory microenvironment that promotes breast cancer carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci, USA*, Oct 26:118(43), e 2103658118, 2021. DOI: 10.1073/pnas.2103658118.
3. Reheman Y, Takeuchi Y, Nishimura T, Li M, Wang Y, Meguro-Horike M, Kohno T, Horike S, Nakata A, Gotoh N.: MUSASHI-2 confers resistance to third-generation EGFR-tyrosine kinase inhibitor osimertinib in lung adenocarcinoma. *Cancer Sci*, 2021 July 14:112(9), 3810-3821, 2021. DOI: 10.1111/cas.15036.
4. Murayama T, Takeuchi Y, Yamawaki K, Natsume T, Mengjiao L, Marcela N R-C, Nishimura T, Kogure Y, Nakata A, Tominaga K, Sasahara A, Yano M, Ishikawa S, Ohta T, Ikeda K, Horie-Inoue K, Inoue S, Seki M, Suzuki Y, Sugano S, Enomoto T, Tanabe M, Tada K, Kanemaki T M, Okamoto K, Tojo A, Gotoh N.: MCM10 compensates for Myc-induced DNA replication stress in breast cancer stem-like cells. *Cancer Sci*, 112(3), 1209-1224, 2021. DOI: 10.1111/cas.14776.

(共同研究)

5. Kozawa K, Sekai M, Ohba K, Ito S, Sako H, Maruyama T, Kaneko M, Shirai T, Kuromiya K, Kamasaki T, Kohashi K, Tanaka S, Ishikawa S, Sato N, Asano S, Suzuki H, Tanimura N, Mukai Y, Gotoh N, Tanino M, Tanaka S, Natsuga K, Soga T, Nakamura T, Yabuta Y, Saitou M, Itoh T, Matsuura K, Tsunoda M, Kikumori T, Iida T, Mizutani Y, Miyai Y, Enomoto A, Fujita Y.: The CD44/COL17A1 pathway promotes the formation of

multilayered, transformed epithelia. *Curr Biol*, 2021 Jul 26: 31(14), 3086-3097.e7, 2021. DOI: 10.1016/j.cub.2021.04.078.

6. Makita H, Endo K, Kasahara Y, Nakata A, Moriyama-Kita M, Ishikawa K, Ueno T, Nakanishi Y, Kondo S, Wakisaka N, Gotoh N, Yoshizaki T.: Xenografts derived from patients with head and neck cancer recapitulate patient tumor properties. *Oncol Lett*, 21(5), 385, 2021. DOI: 10.3892/ol.2021.12646.
7. Hirano M, Imai Y, Kaito Y, Murayama T, Sato K, Ishida T, Yamamoto J, Ito T, Futami M, Ri M, Yasui H, Denda T, Tanaka Y, Ota Y, Nojima M, Kamikubo Y, Gotoh N, Iida S, Handa H, Tojo A.: Small-molecule HDAC and Akt inhibitors suppress tumor growth and enhance immunotherapy in multiple myeloma. *J Exp Clin Cancer Res*, on line publication 23, March, 2021: 40(1), 110, 2021. DOI: 10.1186/s13046-021-01909-7.
8. Baba T, Yoshida T, Tanabe Y, Nishimura T, Morishita S, Gotoh N, Hirao A, Rikinari Hanayama R, and Mukaida N.: Cytoplasmic DNA accumulation preferentially triggers cell death of myeloid leukemia cells by interacting with intracellular DNA sensing pathway. *Cell Death & Dis*, on line publication 4, March, 2021: 12(4), 322, 2021. DOI: 10.1038/s41419-021-03587-x.

## 総説

1. 「乳がん幹細胞を再現するバイオロジーとそれに関わるシグナル伝達経路」  
後藤典子 実験医学別冊：がん微小環境に1細胞レベルで挑む（羊土社）、  
vol. 39(12): p23(1831)-28(1836), 2021.
2. 「乳腺のオルガノイドによるマイ・メディシン」—がん幹細胞研究の立場から  
後藤典子 医学のあゆみ（医歯薬出版株式会社）、vol. 276(6): p21810-21816, 2021.

## <学会発表>

## <国際学会>

1. Noriko Gotoh: “The cytoplasmic adaptor FRS2beta fashions a cytokine-rich inflammatory microenvironment that promotes breast cancer carcinogenesis.” **AACR Annual Meeting 2021**. 2021年3月26日、米国、オンライン

<全国学会>

1. 後藤典子：“乳がん患者由来モデル及びマウスモデルを用いたがん幹細胞、微小環境構築の解明” **患者由来がんモデル研究会** シンポジウム「患者由来がん細胞の三次元培養を組み合わせたがんの本態解明の研究」2021年12月16日、（オンライン）（オーガナイザー、講演）
2. 後藤典子：“The membrane-linked adaptor FRS2beta fashions a cytokine-rich inflammatory microenvironment that promotes breast cancer carcinogenesis” **第44回日本分子生物学会年会** シンポジウム「新たな3Dバイオロジーと組織解析テクノロジーを組み合わせたがん征圧への道」2021年12月3日、横浜（オーガナイザー、講演）
3. 後藤典子：“新薬開発へ向けた産学連携の問題点と将来展望” **第80回日本癌学会学術総会** 2021年10月1日、横浜（オーガナイザー）
4. 後藤典子：“Key molecular targets in cancer stem-like cells in triple-negative breast cancer” **第80回日本癌学会学術総会** コアシンポジウム 2021年9月30日、横浜
5. 後藤典子：“スフェロイド・オルガノイド培養を用いた腫瘍細胞不均一性の解明” **第29回日本乳癌学会学術総会** 日本癌学会合同シンポジウム「臨床を見据えたがんの基礎研究 最新のトピックス」2021年7月1日、横浜（オーガナイザー、講演）
6. 後藤典子：“患者由来乳がんのスフェロイド・オルガノイド培養を用いたがん幹細胞エコシステムの解析” **第33回日本内分泌外科学会総会** 特別講演 2-1 2021年6月4日、長野県軽井沢
7. 後藤典子：“乳がん幹細胞” **第2回日本チャールス・リバー・ウェビナー** 2021年5月24日、東京（オンライン）
8. 竹内康人、木村奈津子、村山貴彦、町田雪乃、家島大輔、西村建徳、王禹銘、坂本理恵子、山本瑞生、板野直樹、井上優介、伊藤正孝、吉田進昭、井上純一郎、赤司浩一、佐谷秀行、藤田浩司、黒田雅彦、北林一生、東條有伸、後藤典子：細胞質アダプタータンパク FRS2beta は、乳がん形成を促進する炎症性サイトカインリッチ環境を形成する。 **第80回日本癌学会**，横浜，2021.9.30-10.2.
9. 竹内康人、村山貴彦、西村建徳、矢野正雄、笹原麻子、田辺真彦、石川聡子、太田哲生、多田敬一郎、池田和博、井上聡、堀江公仁子、岡本康司、東條有伸、後藤典子：がん関連線維芽細胞由来の液性因子は乳がん幹細胞様細胞の維持に寄与する。 **2021 先端動物支援プラットフォーム**，オンライン，2021.9.6.
10. 竹内康人、後藤典子：MUSASHI-2 RNA 結合タンパク質は肺腺がんの EGFR 阻害剤オシメルチニブ耐性を賦与する。 **第25回日本がん分子標的治療学会学術集会**，オンライン，2021.5.26.
11. 竹内康人、後藤典子：The membrane-linked adaptor FRS2beta fashions a cytokine-rich

inflammatory microenvironment that promotes breast cancer carcinogenesis. 第18回幹細胞シンポジウム, オンライン, 2021.5.21-22.

12. 西村建徳、Jin Lee、Xiaoxi Chen、Yuming Wang、石川聡子、東條有伸、後藤典子：  
“A novel inhibitor of one carbon metabolism with Chk1 inhibitor is a rational combination strategy to treat breast cancer” 第80回日本癌学会学術総会 2021年10月2日、神奈川県

<外部資金>

1. 後藤典子, AMED 次世代がん医療創生研究事業, 2020.4.1-2021.3.31, 代表, 13,000 千円
2. 後藤典子, AMED 次世代がん医療創生研究事業, 2020.4.1-2021.3.31, 分担, 3,900 千円
3. 後藤典子, AMED 創薬支援推進事業・創薬総合支援事業, 2021.10.1-2022.3.31, 代表, 3,960 千円
4. 後藤典子, AMED 次世代がん医療創生研究事業, 2021.4.1-2022.3.31, 分担, 650 千円
5. 後藤典子, AMED 革新的医療実用化研究事業, 2021.8.20-2022.3.31, 分担, 650 千円
6. 後藤典子, 基盤研究 B (一般), 2021.4.1-2024.3.31, 代表, 15,110 千円
7. 後藤典子, 新学術領域研究 (公募研究), 2021.4.1-2022.3.31, 代表, 3,120 千円
8. 竹内康人, 科学研究費助成事業 若手研究, 2021.4.1-2027.3.31, 代表, 4,550 千円
9. 竹内康人, 基盤研究 B, 2021.4.1-2022.3.31, 分担, 130 千円
10. 竹内康人, 挑戦的萌芽研究, 2021.4.1-2023.3.31, 分担, 100 千円

## Division of Epithelial Stem Cell Biology 上皮幹細胞研究分野

Visiting Professor	Nicholas Barker (シンガポール A-STAR 研究所・主任研究員)
Assistant Professor	Kazuhiro Murakami 村上 和弘
Assistant	Kenji Kita 北 賢二 (共同研究拠点)
Postdoctoral Researcher	Yumi Terakado 寺門 侑美 (~2021.3)
Assistant Staff	Yoshie Jomen 定免 良枝
	Kikue Saitou 齋藤 喜久江 (~2021.2)

### 【 Abstract 】

Gastric cancer is a complex disease that often arises in a setting of chronic inflammation. For gastric tumorigenesis, *Helicobacter pylori* infection is an important risk factor, and COX-2/PGE2 pathway is induced in the infection-associated chronic gastritis tissues. Despite recent extensive efforts to molecularly classify gastric cancers to try and stratify treatment regimens according to underlying mutational spectra, gastric cancer remains a relatively poorly understood disease with a poor prognosis for most patients.

Cancer stem cells are defined as the unique subpopulation in the tumors that possess the ability to initiate tumor growth and sustain self-renewal as well as metastatic potential. Those tumor-resident cells with stem cell characteristics are thought to be resistant to conventional anti-cancer therapies, allowing them to survive and drive tumor recurrence in many patients.

Recently, we have identified *Lgr5*<sup>+</sup> chief cells in the corpus stomach, which serve as reserve stem cells to effect epithelial renewal following oxyntic atrophy. These reserve stem cells drive spasmodic polypeptide-expressing metaplasia in the stomach following conditional KRasG12D driver mutation, highlighting their likely contribution to gastric cancer initiation *in vivo*.

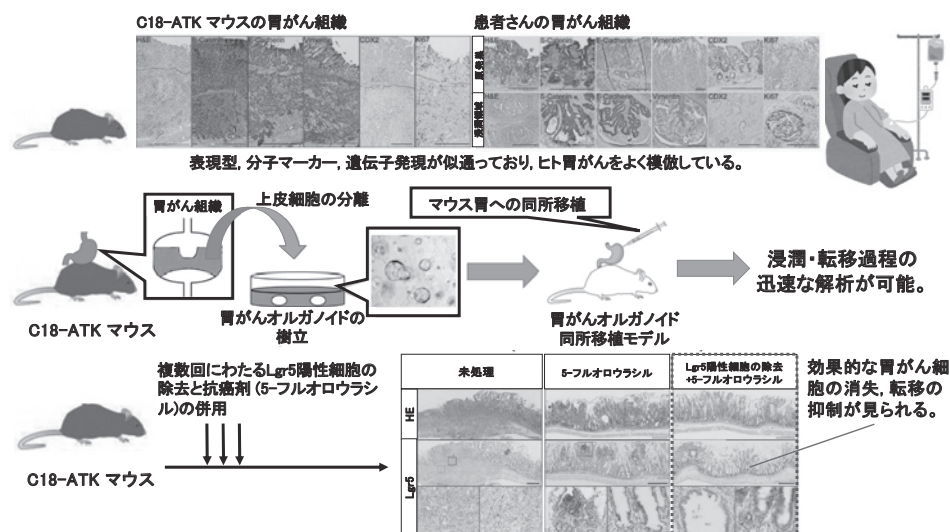
But still it is not clear whether the *Lgr5*<sup>+</sup> chief cell serves as an origin of gastric cancer cell under the chronic inflammation and how cancer stem cell is induced from *Lgr5*<sup>+</sup> reserve stem cells. To study the effects of chronic inflammation on stem cell-driven cancer formation and progression in the corpus stomach, we are focusing on evaluating a potential cancer stem cell function of *Lgr5*<sup>+</sup> cells present within Wnt-driven inflammation-dependent gastric tumors. We would like to leverage on the extensive knowledge and mouse models available through my collaborator, Professor Masanobu Oshima to study the effects of chronic inflammation on stem cell driven cancer formation and progression in the corpus stomach. This is physiologically relevant because the majority of human gastric cancer is considered to arise in a setting of chronic inflammation caused by infection with *Helicobacter Pylori*.

## <2021年の研究成果、進捗状況及び今後の計画>

### 1. 新規胃癌マウスモデルの解析

*APC*, *KRas*, *p53* 遺伝子変異を組み合わせることで、悪性度の高い新たな胃癌マウスモデルを得た。これらのマウスに生じた胃癌よりオルガノイドを樹立し、免疫不全マウスの胃に同所移植を行うことで、生体内の胃癌の浸潤・転移を模倣できる新たな移植モデルを確立した。これらのマウスで *Lgr5* 遺伝子を発現する胃癌細胞を選択的に除去することで転移が抑制されることが明らかとなった。このことは、*Lgr5* 陽性胃癌細胞は、胃癌の浸潤・転移に必須ながん幹細胞である事を示唆している。

これらの結果は、先端モデル動物支援プラットフォーム 若手支援技術講習会および第80回日本癌学会総会でポスター発表され、ポスター賞を受賞した。また、国際誌である *Nature Cell Biology* に受理された。



### 2. 胃幹細胞を維持する分子機構の解明

Wnt シグナルの下流因子である転写因子 *Sox9* が胃正常幹細胞の維持および胃癌幹細胞の悪性化に必須であることが明らかとなった。また、*Sox9* は胃正常幹細胞の増殖抑制を導く一方、胃癌幹細胞ではその効果を示さず、むしろ胃癌の悪性化を導くことが明らかとなった。この差は、がん抑制遺伝子 *p53* の変異状況に依存していることが明らかとなった。これらの結果は、先端モデル動物支援プラットフォーム 若手支援技術講習会および第80回日本癌学会総会で口頭発表された。

### 3. 新規びまん性胃癌マウスモデルの開発

多くのびまん性胃癌で *RhoA* 遺伝子の変異がみられる。理化学研究所 生体モデル開発チームの清成寛チームリーダーらと共同で、変異型 *RhoA* を発現する新規マウスを作成した。これらのマウスを *Cldn18-CreERT2/Cdh1 cKO* マウスと交配し、胃のみで *Cdh1* 遺伝子をノックアウトしつつ変異型 *RhoA* を誘導したところ、びまん性胃癌が生じた。しかし、これらの腫瘍は転移しなかったことから、転移性胃癌を模倣するマウスモデルの作出を目指して *p53 cKO* マウスとのさらなる交配を進めている。

## 【 研究業績 】

### < 発表論文 >

原著

1. Fatehullah A\*, Terakado Y\*, Sagiraju S, Tan TL, Sheng T, Tan SH, Murakami K, Swathi Y, Ang N, Rajarethinam R, Ming T, Tan P, Lee B & Barker N. A tumour-resident Lgr5+ stem-cell-like pool drives the establishment and progression of advanced gastric cancers, *Nature Cell Biology*, 23, 1299-1313, 2021 (\*Co-first author)

(共同研究)

2. Tsuji T, Maeda Y, Kita K, Murakami K, Saya H, Takemura H, Inaki N, Oshima M, Oshima H. *FOXO3* is a latent tumor suppressor for FOXO3-positive and cytoplasmic-type gastric cancer cells, *Oncogene*, 40(17): 3072-3086, 2021.

### < 学会発表 >

村上和弘;

1. 先端モデル動物支援プラットフォーム 若手支援技術講習会「胃正常組織幹細胞および胃がん幹細胞様細胞を制御する分子機構の解析」2021年9月6日 Web開催
2. 第80回 日本癌学会学術総会「LGR5陽性の胃がん幹細胞において幹細胞性を導く機構の解析」2021年9月30-10月2日 Web開催

寺門侑美;

3. 先端モデル動物支援プラットフォーム 若手支援技術講習会「転移性胃がん悪性化にかかわる分子メカニズムの解明」2021年9月6日 Web開催
4. 第80回 日本癌学会学術総会「進行性胃癌発生および進行における腫瘍内 Lgr5陽性幹細胞プールの役割」2021年9月30-10月2日 Web開催

### < 外部資金 >

1. 基盤研究(C)[研究代表者：村上 和弘]  
「オルガノイドを用いた胃がん幹細胞の可視化と効果的な治療法の探索」130万円
2. 第35回 北國がん基金[研究代表者：村上和弘]  
「胃がん細胞の幹細胞性を制御する分子機構の解明」50万円
3. 若手研究 [研究代表者：寺門 侑美]  
「胃がん幹細胞の同定および制御機構の解明」100万円



<その他>

寺門侑美；JCA 若手研究者ポスター賞