

**研究助成 2017 – がん領域 –**  
**研究成果報告書（最終） <概要>**

<b>属</b>	国立がん研究センター
<b>氏</b>	武田 はるな
<b>研究テーマ</b>	大腸がんの転移に關与する遺伝子の同定

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は 1 ページにまとめること。（図表、写真などの添付を含む）

これまでの研究において、大腸がんドライバー候補遺伝子スクリーニングをマウス生体内で行い、候補遺伝子を同定した。本研究では、候補遺伝子のがん化能を検証するための新たな実験系を確立し、新規大腸がんドライバー遺伝子を同定することを目的として研究を進めた。がんドライバー候補遺伝子のがん化能を検証するために用いる細胞は、遺伝子変異ができるだけ少なく、且つ遺伝学的背景が明確なものが理想であるため、マウス消化管上皮腫瘍由来のオルガノイドを用いた。不死化させやすくするために、ヒトの大腸がんを高頻度に観察される遺伝子変異である *Apc* 機能欠損型変異と *Kras* 活性化型点変異を保持する大腸腫瘍由来のオルガノイド(AK オルガノイド)を用いた。がん抑制遺伝子を効率的にノックアウトするために、CRISPR-Cas9 システムを用いて候補遺伝子をノックアウトし、免疫不全マウスに移植した。この結果、腫瘍形成の有無を評価することで、候補遺伝子のがん化能を評価する実験系を確立することができた。この実験系を用いて、候補遺伝子 29 個のがん化能検証を行い、3 つの新規大腸がん抑制遺伝子を同定することに成功した。3 つの遺伝子のうち 2 つは、TGFβ スーパーファミリーに属するアクチビン受容体をコードする遺伝子であった。同じスーパーファミリーに属する TGFβ 経路は、大腸がん形成において重要な働きをするシグナル経路であるため、アクチビン経路と TGFβ 経路の関連性を、ヒト大腸がんでは認められる遺伝子変異のデータベースを用いて解析すると、TGFβ 受容体遺伝子とアクチビン受容体遺伝子の変異が共起的であることが明らかになった。この事実を実験的に検証するために *Apc* と *Kras* に加え TGFβ 受容体(*Tgfr2*)に変異が導入された AKT オルガノイドを用いてアクチビン受容体をノックアウトし、マウスに移植した(図 A)。その結果、腫瘍形成能が促進したことより、2 つのシグナル経路の遮断は協調的に作用し、腫瘍形成に關与していることを示した(図 B,C)。(H. Takeda et al., PNAS 2019)。

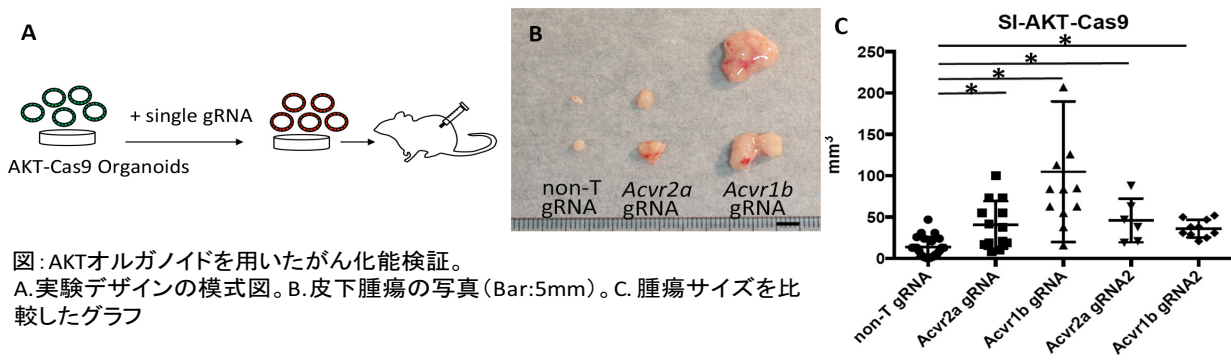


図: AKTオルガノイドを用いたがん化能検証。  
 A. 実験デザインの模式図。B. 皮下腫瘍の写真(Bar:5mm)。C. 腫瘍サイズを比較したグラフ



2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。</li> <li>・ 国内外を問わない。</li> <li>・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2019年3月4-5日	第一回 日本医学会連合 Rising Starリトリート かずさアカデミアパーク・木更津・千葉県, <u>武田はるな</u> 、「Sleeping Beauty トランスポゾンを用いた大腸がん悪性化に関する遺伝子の同定」 Poster presentation
2	2019年2月8-12日	11 <sup>th</sup> AACR-JCA Joint Conference, Westin Maui, Hawaii, USA <u>Haruna Takeda</u> 「CRISPR-Cas9 screening in organoids identified <i>Acvr2a</i> , <i>Acvr1b</i> and <i>Arid2</i> as colorectal tumor suppressor genes」 Poster presentation
3	2018年9月27-29日	第77回日本癌学会学術総会、 <u>武田はるな</u> 、大阪国際会議場&リーガロイヤルホテル大阪「CRISPR-Cas9を用いた新規大腸がん抑制遺伝子の同定」招待講演
4	2018年7月18-19日	The 37th Sapporo International Cancer Symposium ロイトン札幌ホテル、北海道札幌市, <u>Haruna Takeda</u> 、「Identification of novel colorectal tumor suppressor genes using CRISPR-Cas9 and intestinal organoids」 Poster presentation
5	4th-5th July, 2018,	国立遺伝学研究所国際シンポジウム 2018, Genome Editing and Functional Genomics 三島市民文化会館, 静岡県、 <u>武田はるな</u> 、「Sleeping Beauty transposon mutagenesis identified genes involved in colorectal cancer progression」招待講演
6	2018年5月18日	第65回日本実験動物学会総会, 富山県・富山県民会館、 <u>武田はるな</u> 、「Sleeping Beauty (SB) トランスポゾンを用いた大腸がん形成に関する遺伝子の同定」招待講演
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		