

令和 2年 ほくぎん若手研究者助成金 研究実績報告書

氏名	所属・職名		助成金額
周 越	富山大学 学術研究部 薬学・和漢系 がん細胞生物学研究室 助教		700,000 円
研究課題名	非定型的活性型 EphA2 を介した乳がん幹細胞性維持の制御機構		
研究の概要	<p>[研究開始当初の背景, 研究の目的, 研究の方法等について記入]</p> <p>申請者らが報告した ERK の下流キナーゼ RSK による EphA2 の非定型的 Ser-897 リン酸化は、細胞運動を亢進させ、がん悪性化シグナルとして働く。この非定型的活性型 EphA2 は、がん病態制御における次なる標的となりうる。しかし、その機能については依然として未解明な部分が多いため、機能解析が急務となっている。本研究では、乳がん幹細胞における非定型的活性型 EphA2 の役割を解析した。ヒト乳がん細胞株 MDA-MB-231 に対して CRISPR-Cas9 システムを用いて EphA2 ノックアウト細胞を作製し、そこに野生型 EphA2 もしくは Ser-897 を Ala に置換した変異型 EphA2 を細胞に安定導入し、がん幹細胞性の指標となるスフェロイド形成を評価した。</p>		
研究の成果	<p>[研究成果について具体的に記入]</p> <p>EphA2 ノックアウト細胞株を 8 クローン作製し、スフェロイド形成を評価したところ、半数のクローンでスフェロイド形成能が低下した。スフェロイド形成しなかったクローン 2 種類に対し、野生型 EphA2 を過剰発現させたが、予想と反してスフェロイド形成能は回復しなかった。EphA2 ノックアウトによって細胞シグナルが変化し、スフェロイド形成が EphA2 非依存的になったことが原因だと考えた。そこで、初めに細胞に野生型もしくは変異型 EphA2 を安定導入した細胞株を樹立し、その後、内在の EphA2 をノックダウンした。この細胞株では予想通り、野生型 EphA2 発現株でスフェロイドが正常に形成されたのに対し、変異型 EphA2 発現株でスフェロイドが形成されなかった。以上のことから、非定型的活性型 EphA2 は幹細胞性の維持に必要であることが明らかになった。今後、これらの細胞株でのがん幹細胞マーカーの発現を比較し、非定型的活性型 EphA2 が制御する転写因子を同定し、その機構を明らかにする予定である。</p>		
研究成果発表状況	<p>[雑誌論文, 学会発表, 図書, 新聞掲載, 研究に関連して作成したWebページ, 産業財産権(特許権等)の出願・取得状況について記入]</p> <p>第 29 回日本がん転移学会学術集会/総会(令和 2 年 7 月 16 日-17 日)、第 79 回 日本癌学会学術集会(令和 2 年 10 月 1 日-3 日)、第 24 回日本がん分子標的治療学会(令和 2 年 10 月 6 日-8 日)、第 43 回 日本分子生物学会年会(令和 2 年 12 月 2 日-4 日)において発表を行った。</p>		
経費の執行状況	区分	執行額(円)	備考
	物品費	213,608	試薬
	その他	486,392	データ処理用パソコン、学会年会費、学会参加費等