

## 群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和8年4月24日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 徳島大学  
職 名 准教授  
研究代表者 岸本幸治

下記のとおり令和7年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:25020)

1. 共同研究課題名	がん幹細胞に脆弱性を誘導する新規な代謝阻害によるがん幹細胞排除法の検討		
2. 共同研究目的	本申請の研究目的は、本申請の研究目的は、がん患者のビッグデータとオルガノイド技術を統合的に活用し、対象となる新規特性の機序を包括的に検証するとともに、その臨床応用可能性を評価することで、実効性の高い CSC 排除法の開発へと結びつけることである。		
3. 共同研究期間	令和7年4月1日 ～ 令和8年3月31日		
4. 共同研究組織			
氏 名	所属等	職名等	役割分担
(研究代表者) 岸本 幸治	徳島大学	准教授	研究の総括
(分担研究者) 南川 和音	徳島大学	大学院生	CSC の代謝阻害に係る実験・解析
檜原 邑依	徳島大学	大学院生	CSC の代謝阻害に係る実験・解析
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	代謝疾患医科学	氏 名 白川 純

次の6, 7, 8の項目は、枠を自由に変更できます(横幅は変更不可)。6, 7, 8の項目全体では2頁に収めてください。

## 6. 共同研究計画

当初の計画は、以下の項目について、患者由来オルガノイド (PDO) 系の確立、標的に対する阻害剤の小規模スクリーニング、メカニズムの簡易解析、さらに白川研究室との連携体制の確立を目指す。

### 患者由来オルガノイド(PDO)の少数系統での樹立と、候補阻害剤の予備的効果検証

すでに樹立されている腫瘍種から 2~3 例ずつ程度 (乳がん、膵がん、脳腫瘍など)、患者由来オルガノイド (F-PDO) ラインを活用して、CSC 富化細胞を作製、培養条件の最適化を図る。培養条件下での CSC マーカー (CD133, ALDH 活性など) の発現確認を行い、CSC 富化集団を安定的に維持できる系の構築を目指す。

### ターゲット分子に対する阻害剤の小規模評価

申請者が特定した CSC 特異的代謝活性に対する既知のミトコンドリア機能阻害剤や糖代謝阻害剤 (既承認薬および臨床試験中の薬剤、例: Metformin, CPI-613 など) を対象に、オルガノイドを用いた短期間のスクリーニングを実施する。オルガノイド細胞のコロニー形成、CSC マーカーの発現、細胞周期の変化、及びアポトーシス誘導などを評価指標として、各阻害剤の効果を定量的に検証し、CSC を特異的に脆弱化させる可能性を確認する。

### 代謝関連指標の測定系立ち上げ

代謝阻害剤投与後のミトコンドリア機能変化 (例: 酸素消費量、ATP 産生量) や糖代謝フラックス (例: グルコース取り込み量、乳酸産生量) を測定するための評価系を構築する。特に、FACS などを用いて CSC マーカー陽性細胞を選別し、そのサブ集団における代謝変化を可視化することで、代謝阻害の効果をより詳細に解析する。

## 7. 共同研究の成果

本共同研究課題において、生体調節研究所との共同研究が貢献した内容についても具体的に記載してください。

### ターゲット分子に対する阻害剤の小規模評価

CSC による生細胞取込みを制御する分子基盤を明らかにし、その制御点を標的とした薬剤探索へ展開するため、これまでに同定した候補経路に対して小規模な機能阻害実験を行った。

#### 1. G2A 受容体の抑制/機能阻害

酸化ストレス環境を感知し、CSC の生細胞取込みを促進する候補受容体として G2A/GPR132 に着目した。G2A siRNA による発現抑制により取込みは顕著に低下したことから、G2A 依存性を薬理的にも検証する目的で、G2A 機能阻害候補化合物 NOX-6-18 を用いた。その結果、NOX-6-18 処理により、生細胞取込みは明らかに抑制された。一方で、本条件下では明らかな細胞毒性は認められず、G2A は CSC の生細胞取込みを制御する有望な標的分子であることが示唆された。

#### 2. 細胞骨格再編成の阻害

G2A は G $\alpha$  12/13 系と関連し、RhoA-ROCK 経路を介してアクチン細胞骨格の再編成を誘導し得る受容体である。そこで、CSC による生細胞取込みが RhoA-ROCK-アクチン収縮系に依存するかを検証するため、ROCK 阻害剤 Y-27632 を用いた。その結果、Y-27632 処理により取込みは顕著に低下した。さらに、G $\alpha$  12/13 シグナルを抑制する p115-RGS 存在下でも取込みは低下した。これらの結果は、CSC による生細胞取込みが単なる受動的な細胞接着現象ではなく、G2A 下流の G $\alpha$  12/13-RhoA-ROCK 軸を介した能動的な細胞骨格再編成を必要とする可能性を示している。

#### 3. ミトコンドリアダイナミクスの阻害

CSC が生細胞を取り込んだ後、他細胞由来ミトコンドリアを利用する可能性を踏まえ、ミトコンドリア融合関連因子の関与を検討した。外膜融合制御因子 MFN2 および内膜融合・クリステ構造制御因子 OPA1 を siRNA により抑制したところ、いずれの条件でも生細胞取込みは低下した。特に OPA1 抑制では、MFN2 抑制よりも強い取込み抑制効果が認められた。この結果は、CSC の取込み能がミトコンドリア融合制御因子、あるいはそれらが維持するミトコンドリア機能状態と密接に関連する可能性を示唆している。したがって、ミトコンドリア融合・形態制御は、CSC の生細胞取込みおよびその後の代謝適応を結びつける重要な制御点であると考えられる。

#### 4. 酸化的リン酸化の阻害

CSC による生細胞取込みにおけるミトコンドリア代謝依存性を検証するため、酸化的リン酸化に関わる複

数の薬剤を用いた。複合体 I 阻害剤 IACS-010759、脱共役剤 FCCP、および ATP 合成酵素阻害剤オリゴマイシンはいずれも、明らかな細胞毒性を伴わずに生細胞取込みを顕著に低下させた。これらの結果は、CSC の取込み現象が細胞骨格再編成のみならず、ミトコンドリア呼吸、膜電位、ATP 産生を含むミトコンドリア機能に依存する可能性を示している。一方、臨床応用薬であるメトホルミンについては、濃度条件により取込みへの影響が一定せず、現時点では明確な結論には至っていない。今後、処理濃度、処理時間、細胞内 ATP 量、ミトコンドリア膜電位、細胞生存率を並行して評価し、メトホルミンの作用点を慎重に検証する必要がある。

以上の小規模評価から、CSC による生細胞取込みは、G2A 受容体、G $\alpha$  12/13-RhoA-ROCK を介した細胞骨格再編成、ミトコンドリア融合制御因子、ならびに酸化的リン酸化に依存する複合的な細胞応答である可能性が示された。これらの結果は、CSC の生細胞取込みを阻害する薬剤探索において、G2A シグナル、細胞骨格制御、ミトコンドリアダイナミクス、およびミトコンドリア代謝を主要な標的カテゴリーとして薬剤ライブラリースクリーニングを実施する十分な予備的根拠となる。

#### 代謝関連指標の測定系立ち上げ-取込み可能な CSC の代謝状態を定義する

CSC による生細胞取込みは、G2A を介した細胞骨格再編成のみならず、ミトコンドリア代謝状態に強く依存する可能性がある。実際に、複合体 I 阻害剤 IACS-010759、脱共役剤 FCCP、ATP 合成酵素阻害剤オリゴマイシンはいずれも、明らかな細胞毒性を伴わずに取込みを顕著に抑制した。この結果は、取込み現象が単なる形態変化や細胞接着ではなく、酸化的リン酸化、ミトコンドリア膜電位、ATP 産生、酸化還元状態を含む代謝制御と密接に結びついていることを示唆する。

そこで本研究では、**CSC の生細胞取込みを支える代謝状態を定量的に定義する**ため、代謝関連指標の測定系を立ち上げる。具体的には、取込み誘導前、取込み進行中、取込み後の各時点において、細胞内 ATP 量、ミトコンドリア膜電位、ミトコンドリア ROS、総細胞内 ROS、ミトコンドリア量および形態変化を測定し、取込み率との対応関係を解析する。これにより、**代謝変化が取込みに先行する駆動因子であるのか、取込み過程に伴う随伴変化であるのか、あるいは取込み後の代謝適応を反映するのかを切り分ける。**

また、各薬剤処理条件では、細胞生存率、細胞数、接着状態、F-actin 再編成を同時に評価し、取込み低下が細胞障害による二次的变化ではなく、**取込みに必要な代謝状態の破綻によるものであることを検証する**。特にメトホルミンについては、予備検討で効果が一定しなかったことから、濃度、処理時間、ATP 量、膜電位、AMPK 活性化、ROS 変化を対応づけ、CSC の取込み能が促進される代謝状態と抑制される代謝状態を明確化する。

本測定系の確立により、**CSC の生細胞取込みを、G2A-G $\alpha$  12/13-RhoA-ROCK を介した細胞骨格再編成と、ミトコンドリア代謝制御の統合的な細胞応答として解析する基盤を構築する**。さらに、本測定系は、薬剤ライブラリースクリーニングにおいて、候補化合物が取込みそのものを抑制しているのか、代謝破綻や細胞毒性を介して二次的に抑制しているのかを判別する評価系として機能する。

#### 8. 共同研究成果に関連する学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換

(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等をできる限り記載してください。なお、論文の場合は、PDFファイルを以下の研究所庶務係のメールアドレスまで報告書と併せてお送りください。) 研究所庶務係: [kk-msomu4@ml.gunma-u.ac.jp](mailto:kk-msomu4@ml.gunma-u.ac.jp)

① 本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

② この共同研究に基づくとの記載のある論文

③ 学会発表を行った主なもの3件以内(学会名, 開催日, 演題)

1. 南川和音、榎原邑依、秦泗茂、柴田理帆、渡海遥介、長崎幸夫、**岸本幸治** : 酸化ストレス誘導性生細胞捕食によるがん幹細胞の生存優位性獲得戦略とその機構. 第 98 回 日本生化学会大会 (京都). 2025 年 11 月 3 日.
2. Q Simaol, K Minagawa, Y Kashihara, Y Tokai, R Shibata, **K Kishimoto** : Role of the Oxidized-Lipid Receptor G2A (GPR132) in Cell-Fate Determination during the DNA Damage Response. The 48th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan (Yokohama). 2025 年 12 月 4 日.

③ 本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

本研究期間中、メールを中心として年数回の情報交換を行い、研究の進捗状況、実験結果の解釈、今後の実験方針について共有した。