

## 審査の結果の要旨

氏名 藤本麻葉

本研究では、小胞体ストレスを用いて、癌の再発・転移の原因とされている癌幹細胞にアポトーシスを誘導する事を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 子宮頸癌株 SiHa 細胞、CaSki 細胞から sphere 形成細胞を単離し、表面マーカーと ALDH 活性、網羅的遺伝子解析により、癌幹細胞様の性質を持っている事を確認した。
2. SiHa 細胞について、sphere 形成細胞と monolayer 細胞の小胞体ストレスに対する応答の違いを検討した。sphere 形成細胞は一般的な小胞体ストレス誘導剤である tunicamycin に対して monolayer 細胞よりもアポトーシスを起こしにくかった。tunicamycin 投与後の小胞体ストレス応答 (UPR) を、PERK 経路の下流である eIF2 $\alpha$  のリン酸化をウェスタンブロッティング法によるタンパク量解析で、IRE1 経路下流の XBP1 スプライシングの割合をリアルタイム PCR による遺伝子発現解析で評価し、小胞体ストレスによる UPR の代謝産物である CHOP、GRP78 の発現も確認した。monolayer 細胞では IRE1 経路が活性化されていたのに対し、sphere 形成細胞では PERK 経路が活性化されており、両細胞で UPR に違いがある事が示唆された。tunicamycin に PERK 阻害剤を併用する事で、sphere 形成細胞にもアポトーシスが誘導される事が示された。
3. SiHa 細胞について、DNA ダメージを起こさない低用量の cisplatin を投与する事で、cisplatin による小胞体ストレスへの応答を評価した。低用量の cisplatin 投与では monolayer 細胞も sphere 形成細胞もアポトーシスを起こさなかったが、sphere 形成細胞においてのみわずかに IRE1 経路が活性化されていた。cisplatin と IRE1 阻害剤の併用で sphere 形成細胞にはアポトーシスが誘導され、この時アポトーシスを促す転写因子である CHOP の発現も増加していた。この事より、抗癌剤と UPR 阻害剤の併用が癌幹細胞の標的治療となりうる事が示唆された。
4. CaSki 細胞について、tunicamycin 誘導性の小胞体ストレスに対する細胞応答を検討した。monolayer 細胞と sphere 形成細胞では tunicamycin に対する感受性に明らかな差はなかった。UPR をウェスタンブロッティング、リアルタイム PCR によって評価したところ、monolayer 細胞も sphere 形成細胞も IRE1 経路が優先的に

活性化されていた。tunicamycin と PERK 阻害剤、IRE1 阻害剤どちらとの併用でもアポトーシスは増加傾向にあった。CaSki 細胞では control の状態で monolayer 細胞と sphere 形成細胞で UPR に差があったものの、tunicamycin 投与による UPR には明らかな違いがなく、併用剤によるアポトーシスも両者に明らかな違いは認められなかった。

5. CaSki 細胞について、cisplatin 誘導性の小胞体ストレスに対する細胞応答を検討した。低用量の cisplatin では monolayer 細胞も sphere 形成細胞もアポトーシスは誘導されず、また、UPR 阻害剤を併用してもアポトーシスは誘導されなかった。

以上、本論文では SiHa 細胞株から単離した癌幹細胞様細胞である sphere 形成細胞と非癌幹細胞である monolayer 細胞との、小胞体ストレスに対する細胞応答の違いを明らかにし、この違いを利用して抗癌剤と UPR 阻害剤の併用により癌幹細胞様細胞にアポトーシスを誘導する事ができる可能性を提示した。一方、CaSki 細胞株から単離した癌幹細胞様細胞は、非癌幹細胞様細胞と同様の細胞応答を示しており、臨床においても症例によって抗癌剤と UPR 阻害剤の併用が無効であるものと、有効であるものがある可能性が示唆された。これまでほとんど報告されていなかった、癌幹細胞の小胞体ストレスに対する細胞応答についてふれ、抗癌剤と小胞体ストレス阻害剤の併用療法の癌幹細胞に対する新たな標的治療の可能性を示唆している点で新規性があり、学位の授与に値するものと考えられる。