

論文の内容の要旨

論文題目 増殖因子 **GDF15** による乳がん幹細胞様細胞の維持機構の解析

氏名 笹原 麻子

癌幹細胞は腫瘍の増殖、再発や標準的な癌治療への抵抗に深くかかわっていると考えられているが、癌幹細胞が腫瘍組織の中でどのように存在し、癌幹細胞性を維持しているのかは解明されていない部分が多い。本論文では **TGF β family** の一員である **growth differentiation factor 15 (GDF15)** が自己分泌/傍分泌により、**GDF15** そのものの発現を誘導し乳癌の癌細胞様細胞の維持に関与している可能性について示した。

本研究ではまず、**GDF15** 刺激が癌幹細胞様細胞の重要な特性であるスフィア形成に与える影響について評価した。乳癌の細胞株およびヒト初代培養癌細胞を用いて評価したところ、**GDF15** 刺激でスフィア形成が促進されることを認めた。一方、このスフィア形成の促進は **TGF β** 刺激では認められなかった。

次に、スフィア形成に関わるシグナル伝達経路について検証した。**TGF β** 刺激によりリン酸化 **Smad2** の発現上昇が強く起こった一方、**GDF15** 刺激のリン酸化 **Smad2** の発現上昇はわずかであった。**TGF β** 伝達経路の阻害剤である **SB431542** 処理により、**GDF15** 刺激によるスフィア形成の促進は阻害されることはなかった。このため、**Smad** 非依存性経路についても検証したところ、**TGF β** が **ERK1/2** を一時的に活性化したのに比べ、**GDF15** は 50 時間と長時間にわたり **ERK1/2** を活性化させていることが分かった。さらに、**MEK-ERK1/2** 伝達経路の阻害剤である

U0126 を用いると GDF15 刺激によるスフィア形成能の促進が顕著に阻害された。そこで、GDF15 が ERK1/2 を活性化することによりサイトカイン産生を誘導する可能性を検証するため、サイトカインアレイを用いて GDF15 刺激後のサイトカインの発現を網羅的に調べた。その結果、GDF15 が GDF15 そのものの発現を誘導することを認めた。この GDF15 による GDF15 の発現誘導は U0126 により阻害された。以上より、GDF15-ERK1/2 経路は自己分泌により GDF15 を継続的に産制する回路を形成していると考えられた。

細胞株および患者から採取した乳癌組織を免疫染色することで、GDF15 の発現についても観察した。結果、GDF15 は不均一に細胞質に発現していた。多くの乳がん組織では GDF15 の発現が 5%以下と低値であり、この分布が癌幹細胞様細胞を含む癌細胞集団の分布を反映しているとも考えられた。一方で、一部の組織で GDF15 を高発現しているものも認めた。

これらの結果より、GDF15 は GDF15-ERK1/2-GDF15 回路によりスフィア形成を促進している可能性が示唆された。さらに、一部の乳がん組織において、GDF15 が高発現している症例もあり、将来的に、この回路を標的とした GDF15 標的療法は、対象となる症例において、腫瘍の根絶に寄与すると考えられた。