

## 審査の結果の要旨

氏名 笹原 麻子

本研究は乳がんの転移再発に深く関連していると考えられている乳がん幹細胞様細胞の維持機構に、増殖因子 GDF15 が関与しているという仮説に基づき、GDF15 の乳がん幹細胞様細胞に対する機能及び内因性の GDF15 発現について解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. 様々な乳がん細胞株に外因性に GDF15 刺激を加え、乳がん幹細胞様細胞の特性であるスフィア形成能について検討した結果、luminal type、HER2 type、basal type のいずれのサブタイプの細胞株においても無刺激状態に比べ有意にスフィア形成を促進した。さらに、臨床検体より作成したヒト初代培養がん細胞においても、GDF15 刺激が一部のサンプルでスフィア形成能を促進した。また、MCF7 において GDF15 刺激が未分化細胞マーカーである Sox2、Oct4、nanog の発現も上昇させ、GDF15 刺激に乳がん幹細胞様細胞の特性を増強させる働きがある可能性について示唆された。
2. GDF15 刺激により活性化するシグナル伝達経路を解析するために western blotting を行った結果、GDF15 刺激が ERK1/2 を持続的に活性化するという結果を認めた。さらに、MEK の選択的阻害剤である U0126 を用いてスフィア形成能を確認したところ、GDF15 刺激により促進されたスフィア形成が U0126 投与により抑制される結果を認め、GDF15 刺激による ERK1/2 の活性がスフィア形成に関与していることが示唆された。
3. GDF15 刺激をした MCF7 を用いてサイトカインアレイを行い、GDF15 刺激により GDF15 の発現が上昇している結果を得た。qRT-PCR で mRNA レベルでも同様の結果を認め、さらに U0126 投与により GDF15 の発現上昇が抑制され、GDF15 刺激による ERK1/2 の活性は GDF15 そのものの発現を上昇している可能性が示唆された。
4. 免疫染色による内因性の GDF15 の発現検討では MCF7 において GDF15 の発現は非常に弱く、細胞質に不均一に発現していた。臨床検体の免疫染色でもやはり GDF15 の発現は不均一で、同一組織の中でもその発現量は細胞によって隔たりがあることが示された。多くの臨床検体で、その GDF15 発現は 5%以下であった一方で、GDF15 を高発現している組織も一部に存在することも示された。

以上、本論文は GDF15 による乳がん幹細胞様細胞への維持についての解析を行い、一部の細胞株において、GDF15 が GDF15-ERK1/2-GDF15 回路を介して乳がん幹細胞様細胞の特性を増強する作用を示した。免疫染色で認めた一部の GDF15 高発現症例において、GDF15 を標的とした治療の確立により再発抑制効果への期待が寄せられる研究であり、学位の授与に値するものと考えられる。