

審査の結果の要旨

氏名 佐藤 雅和

本研究は、癌において再発・転移に関与しているされる癌幹細胞(CSC)仮説に基づき、主として CSC 様細胞集団 (スフェロイド) の特性解析を行うことで、婦人科癌における再発・転移に関する治療戦略の構築の検討を行い、下記の結果を得ている。

1. 婦人科癌における CSC 様細胞集団の存在の確認と特徴解析

本研究では、婦人科癌における CSC 様細胞集団の存在を確認することから検討を開始している。具体的には、子宮頸癌由来細胞株を Gremlin1 で処理することで、未分化マーカーの一つとされる Nanog の発現は上昇するとともに、ALDH1 陽性細胞の割合も増加した。また、増殖能の指標と言われるスフェロイド形成能も Gremlin1 処理によって増加した。この検討から、婦人科癌においても、CSC 様細胞集団が存在することが確認され、その維持において Gremlin1 の関与が示唆された。さらに、ALDH1 を指標として CSC 様細胞集団及び非 CSC 様細胞集団を抽出し、PAI1 の分泌を細胞外基質(ECM)との関係から検討することで、CSC 様細胞集団が転移しやすい理由の一つを見出した。すなわち、コラーゲン IV から離れた CSC 様細胞集団においては PAI1 の分泌が減少するため、相対的に uPA の濃度が高くなり、その下流として知られる MMP が活性化され、CSC 様細胞集団の周囲の ECM が脆弱になるという仮説を見出した。

2. 網羅的解析を用いた CSC 様細胞集団の特性解析と治療戦略の構築

3D 培養系によって CSC 様細胞集団(スフェロイド)を抽出し、通常培養細胞(非 CSC 様細胞集団)との代謝物を網羅的に解析・比較することで、CSC 様細胞集団においては、セリンやアスパラギン酸、グルタミン酸、グルタミンといった TCA サイクルを効率良く働かせるアミノ酸が増加していることを確認した。このことから、CSC 様細胞集団では非 CSC

様細胞集団に比べて、TCA サイクルを活性化させて効率良くエネルギーを蓄えている可能性を示した。さらに、臨床における PET/CT の結果を利用し、糖代謝活性の低い癌種（本検討においては卵巣明細胞腺癌）が存在することを明らかにし、卵巣明細胞腺癌においてはグルタミン代謝を活性化している CSC 様細胞集団の割合が高い可能性があることを示した。続いて、CSC 様細胞集団の特性解析としてメタボローム解析に加えて RNA シーケンスを行うことで、CSC 様細胞集団において Focal adhesion 経路が重要である可能性を示した。これらの結果から、卵巣明細胞腺癌由来の CSC 様細胞集団において、AOA と PF573228 の処理によってグルタミン代謝と FAK の働きを同時に阻害することで、mTOR 活性が相乗的に阻害できることを示した。以上の検討は、CSC そのものではなくスフェロイド自体の特徴を見ている可能性も考慮されるが、癌細胞が血液やリンパ液、腹水中などに浮遊し転移することを考えれば、再発・転移に関する重要な知見であることに変わりはないと判断される。

3. iPS 細胞を用いた新規 CSC モデルの樹立

さらに、新規 CSC モデルの樹立を検討した。子宮頸部に存在するとされ、子宮頸癌の発生源とされる上皮幹細胞（リザーブ細胞）を iPS 細胞から誘導することで、リザーブ細胞様細胞集団 (iRC) を樹立した。ここで誘導された iRC は PAI1 を分泌しており、これは CSC の転移において PAI1 が重要な役割を果たしているという先の結果と関係している可能性が示唆され、iRC の特性解析をすることが CSC の洞察を得るモデルとなることが示された。

以上、本論文は婦人科癌における CSC 様細胞集団の存在を明らかにするとともに、網羅的解析を組み合わせることで CSC 様細胞集団の特徴解析を行うことで、治療戦略が構築できる可能性を明らかにした。さらに、特徴解析に有用な新規 CSC モデルを提唱した。本研究は、婦人科悪性腫瘍における転移・再発に関する治療戦略の構築において、重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。