

論文の内容の要旨

論文題目 ヒト泌尿生殖器癌における cancer stem cell の探索と包括的機能解析

指導教員 北村唯一教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 16 年 4 月 入学

医学博士課程

生体物理医学専攻

井之輪 俊彦

再生医学研究の進歩により、癌組織にも正常組織で観察される細胞の階層性が存在すること、すなわち、cancer stem cell (癌幹細胞) が存在することが報告された。一般に抗癌剤の治療効果は腫瘍の退縮等で評価され、外科的治療は腫瘍の完全切除を目標とするが、癌幹細胞が一つでも残されれば、癌が再発することになり、癌幹細胞の発見は、単に再生医学研究のみならず、これまでの癌治療概念を大きく変えるものと言える。そこで本研究では、ヒト泌尿生殖器癌における癌幹細胞の探索と包括的機能解析を行った。

幹細胞の分離法としては、Hoechst33342 染色と fluorescence-activated cell sorting analysis (FACS) により、1 ステップで幹細胞を効率良く分離可能な Side population (SP) 細胞分離法を用いた。SP 細胞は、体性幹細胞様の働きを示す細胞を多く含む細胞集団として、様々な動物

の組織で報告されているが、今回の手術検体を用いた解析で、ヒトにおいて初めて正常腎組織における SP 細胞の存在が確認された。しかし、腫瘍部からは SP 細胞解析に必要な十分な細胞を得る事が困難であったため、11 種類のヒト泌尿生殖器癌培養細胞を用いて SP 細胞解析を行った。FACS 解析の結果、精巣 germ cell tumor NEC8 のみから SP 細胞が得られた。NEC8 より得られた SP 細胞は、non-SP 細胞と比してより強い増殖力、強い抗癌剤耐性(シスプラチン)及び強い組織浸潤性を示し、さらに、自己複製能を持ち、non-SP 細胞へも分化することから、癌幹細胞として、既報の主な特徴を満たしていた。次にマイクロアレイによる包括的遺伝子発現を検討した結果、SP、non-SP で発現量の異なる 10 種の遺伝子が得られ、このうちアポトーシス抑制遺伝子である Growth arrest- and DNA-damage-inducible proteins 45 β (GADD45 β)について詳細な検討を行った。既報により SP 細胞の機能を規定するとされる ABCG2 のノックダウンでは、SP 細胞の抗癌剤に対する感受性が高まることが確認され、さらに GADD45 β のノックダウンでも同様に抗癌剤に対する感受性が高まることが確認された。一方、癌浸潤性における検討では、ABCG2 のノックダウンでは有意な作用は見られなかったが、GADD45 β のノックダウンでは顕著な浸潤性の低下が認められた。

以上より、ヒト泌尿生殖器癌においても癌幹細胞の存在が示唆され、マイクロアレイ解析および siRNA による検討により、GADD45 β が癌幹細胞の浸潤性を規定する有望な治療対象候補遺伝子であることが明らかとなった。今後 ABCG2 や GADD45 β 遺伝子のノックダウンによる癌幹細胞を対象とした新しい癌根治療法の開発が期待される。

