

## 論文の内容の要旨

### 悪性胸膜中皮腫におけるがん幹細胞マーカー CD24,CD26 の機能解析

内藤元彦

悪性胸膜中皮腫は肺を包む胸膜に生じる悪性腫瘍であり、予後不良の疾患である。アスベストに暴露すると発症するリスクが増大することが明らかになっており、現在その発病者数が増加の一途をたどっている。しかしながら、有効な治療法に乏しく、現在の標準的な治療法を行っても平均生存期間は 12.1 ヶ月である。したがって抜本的な治療法の開発が望まれている。

がん幹細胞仮説は最近受け入れられはじめており、悪性腫瘍の組織中の多種多様な細胞は特殊な少数の細胞から生じるという概念である。この少数の細胞集団は決して枯渇する事がなく、通常が悪性腫瘍細胞を無制限に生み出す事が可能である。またがん幹細胞は抗がん剤や放射線など既存の治療法に抵抗性を示すために悪性腫瘍の再発や転移に関わるものと考えられている。そのためにがんを克服するにはがん幹細胞の根絶が必要であると考えられるようになった。

これらの背景から、中皮腫におけるがん幹細胞の同定からその機能解析に至るまでの一連の研究は、中皮腫の新たな治療戦略の基礎としても重要であると考えられる。当研究室ではこれまでにがん幹細胞マーカーの候補として CD9,CD24,CD26,SP を報告した。また他の研究室から中皮腫のがん幹細胞として SP に着目した実験が報告されている。しかしながら、我々の結果も含めて、SP で分離した細胞を免疫不全マウ

スに移植しても造腫瘍能に有意差が認められなかったため、SP は中皮腫のがん幹細胞マーカーとして有用でないと考えられた。また CD9 はほとんどの細胞株で均一に高発現していたので、幹細胞マーカーとしては不相当と思われた。

そこで、残る CD24,CD26 が中皮腫におけるがん幹細胞の特性にとって重要な機能分子であると仮定し、CD24 あるいは CD26 の発現とがん幹細胞特性が関連しているかどうか検討した。

検討項目は以下の通りである。

- (1)各細胞株における CD24 と CD26 の発現の関係
- (2)CD24 および CD26 と不均等分裂様増殖との関連
- (3)抗がん剤耐性能と CD24 あるいは CD26 の関連
- (4)CD24 および CD26 の発現と増殖能の関係
- (5)CD24 および CD26 の発現と浸潤能の関係

肉腫型細胞株である JMN では、CD24 と CD26 の発現は互いに強く相関していた。また CD24 および CD26 陽性細胞は不均等様分裂による増殖様式を呈した。抗がん剤耐性能を検討したところ、生存細胞中により多くの CD24 および CD26 陽性細胞が含まれており、マーカー発現と抗がん剤耐性が相関していた。また増殖能、浸潤能ともに CD24,CD26 の発現と相関関係にあった。

上皮型細胞株である H226 では、CD26 は一様に発現している一方で、CD24 はヘテロに発現しており、CD24 陽性細胞は不均等分裂様増殖を示した。抗がん剤耐性能を検討したところ、やはり生存細胞中に多くの CD24 陽性細胞が含まれていた。また CD24 の発現と増殖能および浸潤能も相関していた。

同じく上皮性細胞株である Meso-1 では、CD24 と CD26 は独立して発現し、両者の発現に相関がみられなかった。興味深いことに、不均等分裂様増殖は CD26 陽性細胞のみに認められた。抗がん剤耐性能は CD24 陽性細胞のみが示し、CD26 の発現とは相関が見られなかった。また増殖能は CD24 のみと相関し、浸潤能は CD26 のみと相関していた。

以上の結果から、Meso-1 は CD24 と CD26 の発現が独立し、各々のがん幹細胞特性はマーカーごとに異なって相関していることが明らかになった。また JMN では CD24 と CD26 の発現は強い相関関係にあり、がん幹細胞特性は両者ともよく相関していた。H226 は CD24 のみのがん幹細胞特性と相関があった。

一方、新たな治療戦略の基礎研究として、上記のマーカー発現と関連するがん幹細胞特異的なシグナル伝達系の探索を行った。マイクロアレイ解析の結果、数種類の遺伝子はその候補として得られた。我々はそれらの遺伝子のうち IGFBP7 に着目した。

RT-PCRによる解析の結果、IGFBP7の発現はCD24よりむしろCD26の発現に関連していた。IGFBP7はERKシグナルに関与することが知られており、EGF/EGF-レセプターシグナルの下流で機能しているのではないかと考えられた。

そこで各細胞株にEGFを添加し一定時間ごとにERKの発現およびリン酸化を観察したところ、Meso-1においては、EGF刺激後5分でERK2のリン酸化がCD26陰性細胞に比べて陽性細胞の方で有意に亢進していた。したがって、IGFBP7はEGF/EGF-レセプターシグナルにおける早期のERK2のリン酸化に関与することが明らかになった。

sあり、CD24とCD26がそれぞれ独立してその特性を担う例が存在することが明らかになった。そのため、CD24とCD26共陽性細胞は中皮腫のがん幹細胞を高頻度に含んでいることが示唆された。また、CD26の下流にはIGFBP7とERKが関与しており、がん幹細胞特異的なシグナルとして機能していることが考えられた。そのため、IGFBP7とERKは新規治療法の標的分子として有力な候補であると期待された。

今後の課題として以下のようなことを考えている。本研究のように、がん幹細胞マーカーがその機能を分担している例は乳癌におけるCD44/CD24でもみられる。乳癌では人為的にCD24の発現を変化させてもがん幹細胞特性にあまり変化がみられないが、特定の薬剤を加えると未分化状態を維持できるという。中皮腫においては、CD26を発現しない細胞株にCD26を強制発現すると、よりアグレッシブな表現系になることが明らかとなっている。そのために中皮腫におけるCD26の発現を上昇させる因子が存在するのか、存在すればどのような分子かを探索したいと考えている。現在までに大腸がんにおいてCD26の発現を亢進させる因子として低酸素の状況やHIF-1 $\alpha$ が報告されており、これらについても順次検討する予定である。