

氏名（本籍）	小林 慎太		
学位の種類	博 士（理学）		
学位記番号	博 甲 第 10027 号		
学位授与年月日	令和 3 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査学術院	理工情報生命学術院		
学位論文題目	Identification and Characterization of Cancer Stem Cells Responsible for Drug-Resistance and Metastasis （薬剤耐性と転移の原因となるがん幹細胞の同定と特徴解析）		
主査	筑波大学教授	博士（医学）	千葉 智樹
副査	筑波大学教授	博士（理学）	丹羽 隆介
副査	筑波大学准教授	理学博士	坂本 和一
副査	筑波大学助教	博士（工学）	鶴田 文憲

論 文 の 要 旨

がん幹細胞とは、自己複製能と腫瘍内に存在する様々な細胞への分化能を併せもつ細胞である。がん幹細胞研究は主に自己複製能に重点が置かれてきたが、がんの腫瘍内多様性、薬剤耐性、再発や転移などの特徴に対する研究は十分に進んでない。

そこで本論文で著者は、第 1 章で大腸がんのがん幹細胞について、その多分化能および薬剤耐性に関する解析を行っている。まず、著者は患者から摘出された大腸がん組織を免疫不全マウスに移植する Patient Derived Xenograft (PDX) 実験を行い、がん幹細胞の単離を試みている。著者は正常組織の幹細胞マーカーである LGR5 (Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5) に着目し、LGR5 ががん幹細胞マーカーとして機能するか検証した。LGR5 抗体を作製し LGR5 発現を指標にがん細胞を単離・培養した結果、LGR5 陽性細胞はマウス移植実験において高い腫瘍形成能および多様な分化能を示した。さらに、様々な培地や培養条件を検討して、LGR5 陽性がん細胞の株化に成功した。それらの細胞株は、幹細胞性の培養条件では自己複製し、また分化誘導条件では、自己複製しつつ分化細胞へと非対称分裂した。次に薬剤耐性を解析した結果、がん幹細胞株はイリノテカンなどの抗がん剤に対する耐性を獲得し、その耐性細胞株は、ほとんど増殖しない静的な状態で生存し、LGR5 発現も消失しているという特徴を有していた。しかし培地から抗がん剤を除くと、耐性細胞株は再び LGR5 を発現し高い増殖性を示すようになった。この現象はマウス移植実験においても確認され、がんの薬剤耐性獲得および再発を再現する結果となった。以上の結果から、LGR5 はがん幹細胞マーカーとして有用であること、そして抗がん剤耐性獲得および再発のメカニズムに関与することが明らかとなった。LGR5 は WNT 受容体として機能することが報告されていることから、著者は WNT の活性化ががん幹細胞の再増殖に重要な機能を果たしていると考えしている。

次に著者は第 2 章において、がん幹細胞と転移の関係について解析している。内分泌型膵臓がんはインスリンなどのホルモンを分泌する分化型がんと、ホルモン分泌が認められない転移性の高い幹細胞型がんに分類される。マウス膵臓がんモデルである Rip-Tag2 トランスジェニックマウスは、その遺伝的背

景によって、様々な病態の内分泌型膵臓がんを発症することが報告されている。著者は、C57Bl/6J(B6)マウス背景では分化型がん、C57Bl/6JとA/JのF1であるAB6F1背景では幹細胞型の膵臓がんを発症することを見出した。AB6F1系統で発症した幹細胞型がんでは、幹細胞マーカーの発現が高く、また高い転移能を示した。そこで膵臓の分化を促進する転写因子 Insm1(insulinoma-associated protein 1)の発現を調べると、Insm1は分化型がんでは発現が高く、幹細胞型がんでは発現が認められなかった。ヒトがん組織においてもインスリンの発現と Insm1 の発現に正の相関傾向が認められ、Insm1はマウスのみならずヒトにおいても膵臓がんの分化を制御することが示唆された。次にヒトがんにおける Insm1 の機能を評価するために、分化型ヒト膵臓がん細胞株(QGP-1)を用いて Insm1 のノックダウン実験を行っている。その結果、がん幹細胞マーカーの発現が上昇し、QGP-1細胞は浸潤/転移能を獲得することが *in vitro* と *in vivo* の実験で確認できた。一方、幹細胞型がん細胞である CM 細胞株に、Insm1 を過剰発現させると、がん幹細胞マーカーの発現が減少し、細胞の浸潤能が低下した。以上の結果から、Insm1 は、がんの分化を誘導し、転移を抑制することが示唆された。膵臓の正常な発生過程において Insm1 陰性の正常幹細胞は EMT(Epithelial Mesenchymal Transition)を起こして組織に浸潤し、その後分化することが報告されている。これは膵臓がん研究で認められたがん幹細胞の特徴と類似しており、がん幹細胞は正常幹細胞を模倣することが示唆された。

以上の結果から著者は、がん治療の難しさの原因となっている、がんの薬剤耐性や転移能獲得のメカニズムには、正常幹細胞の恒常性維持の分子機序が関わっていると提唱している。実際に、がん幹細胞の維持に必要なシグナル(WNTやNotchなど)や、がん幹細胞とニッチ細胞との相互作用が、がん治療法の新たな標的として有望視されており、現在様々な臨床試験が進行中である。

審 査 の 要 旨

著者は本論文において、がん幹細胞の実験モデルを確立し、がん幹細胞の単離に成功した。そして、取得したがん幹細胞株の性状解析を通じて、がん組織内のがんの多様性、薬剤耐性、転移、再発などの様々な問題点に対して分子的にアプローチできることを示した。これらの研究成果は、がんの新たな治療法開発に有効であるだけでなく、がんの根源的な理解にがん幹細胞研究が重要であることを示すものである。以上、本研究は生物学領域ならびに生命科学領域において独創性に秀でており、学術的な価値が高いと評価された。

令和3年1月25日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士(理学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。