

学位論文抄録

融合プロテオミクスによるグリオーマ幹細胞の分化制御機構に関する研究
(Study of the mechanism of glioma initiating cell differentiation by integrated proteomics)

緑川 宇一

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻腫瘍医学

指導教員

荒木 令江 准教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻腫瘍医学

学位論文抄録

[目的]近年、癌の根治療法では、抗癌剤・放射線抵抗性と腫瘍形成能が確認された癌幹細胞が新たな標的として研究されている。悪性脳腫瘍においても、グリオーマ幹細胞様細胞(GIC)の存在が示され、治療に繋がる研究成果が期待されているが、増殖・分化に関わる生化学的特徴や機能を説明する報告はほとんどない。そこで本研究では、GICの分化制御分子群を明らかにし、新規治療ターゲットになり得る分子群を同定する為、融合プロテオミクス解析を検討した。

[方法]まず、グリオーマ患者組織から癌幹細胞様細胞を分離し、癌幹細胞に特徴的な sphere 形成能、神経幹細胞と脳腫瘍関連マーカーの発現、及び腫瘍形成能を有する 8 つの GIC クローン樹立し、融合プロテオミクス法 (DNA microarray 法、iTRAQ 法) を用いて、GICの分化に関わる分子の網羅的同定 (8,471 タンパク質、21,857 mRNA) と発現・機能プロファイリングを行った。発現変動分子群の Gene Ontology 解析から最も有意に変動する分子を同定し、Western Blotting、免疫化学染色、タイムラプス顕微鏡による細胞形態解析、及び免疫不全マウス頭蓋内移植等より各種標的分子の阻害剤及び抗癌剤による影響を解析した。

[結果]樹立した GIC は幹細胞マーカー CD133、Sox2 の発現と、血清添加による分化誘導時にこれらの減少、及び Astrocyte マーカー GFAP、Neuron マーカー Tuj1、悪性グリオーママーカー CD44 の発現を誘導し、神経幹細胞様の性質とグリオーマ細胞への分化能を有することが判明した。融合プロテオミクス法により、分化誘導時の発現亢進分子群を同定した結果、GIC は血清刺激下において ECM を特異的に発現し、接着因子群を介した分化を促進していた。さらに特にインテグリン α V とファイブロネクチン I に注目し、インテグリン α V 抗体、およびリガンドのファイブロネクチンとの結合部位の RGD ペプチドによるインテグリン α V の機能阻害によって、GIC の接着と分化、および分化初期の増殖が抑制されることを明らかにした。また、RGD ペプチドと抗癌剤 temozolomide(TMZ)の組み合わせにより、GIC の同所性移植マウスの生存が延長されることを確認した。

[考察]以上の結果から、GIC の血清刺激による分化誘導には、ECM 分泌とインテグリンファミリー発現亢進の相互作用が重要である事が判明した。特に、インテグリン α V とファイブロネクチンの発現亢進は、マウス同所性移植で形成された腫瘍でも検出され、GIC は ECM を自ら発現・分泌してインテグリン α V を介して分化を制御する微小環境“分化ニッチ”を形成することが示唆された。インテグリン α V や RGD 認識部位をターゲットとすることで GIC の接着、遊走、分化を抑制することが可能であり、グリオーマの再発・転移を早期に阻害する新規な治療法への応用が期待できる。さらに、抗癌剤との RGD の組み合わせは、GIC によるグリオーマの再発に対して高い抑制効果があると示唆される。

[結論]グリオーマ患者組織より GIC を樹立し、血清による分化誘導モデルを確立した。融合プロテオミクス法と Gene Ontology 解析により細胞接着関連分子群の発現上昇を明らかにし、グリオーマ幹細胞の分化促進分子として、インテグリン α V を同定した。インテグリン α V 阻害剤による GIC の分化抑制を証明し、悪性脳腫瘍の予後改善の可能性を示すと共に、新しい治療の戦略を提供した。