

氏名	松田 修一
授与した学位	博士
専攻分野の名称	工学
学位授与番号	博甲第4971号
学位授与の日付	平成26年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科 機能分子化学専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	がん幹細胞が作り出す微小環境によるがんの階層性の維持
論文審査委員	教授 妹尾 昌治 教授 徳光 浩 准教授 佐藤あやの

### 学位論文内容の要旨

がん幹細胞(CSC)は、がん組織中に僅かに存在する細胞であり、組織幹細胞の様に自己複製能、多分化能を有している。がん根治に向けてこれを標的とした治療薬の開発が急がれているが、がん組織における存在割合の少なさから確保が難しく、さらに安定培養が困難である事から解析が進んでいないのが現状である。

当研究室ではマウス人工多能性幹細胞(miPS)から種々の細胞(miPS-CSC)を確立している。特にルイス肺癌細胞(LLC)の培養上清により誘導された細胞(miPS-LLCcm)では、ヌードマウスに移植後、典型的な悪性腫瘍を形成し、その腫瘍内では、顕著な血管新生が見られる。本研究では、miPS-LLCcm を CSC のモデル細胞として用い、自己複製の維持機構、及び、近年新たに発見された血管内皮細胞への分化機構に着目した解析を行った。

遺伝子発現解析、及び、FACS による解析から、miPS-LLCcm 集団内に血管内皮前駆細胞の存在を確認した。また、miPS-LLCcm 細胞は、マトリゲル上で強力な血管様構造を形成した。

また、miPS-LLCcm の未分化細胞、及び、分化した細胞集団の培養上清が、miPS-LLCcm CSC の自己複製能に与える影響を解析した結果、CSC から分化したがん細胞は、Notch ligand を含む遊離の因子を分泌し、CSC の自己複製能の維持に関与していることが明らかになった。

一方で、miPS-LLCcm の未分化細胞のみを選択的に培養すると、血管内皮細胞への分化能力の減少が見られた。そこで、miPS-LLCcm 細胞集団の培養上清が分化能に与える影響を検討したところ、血管内皮細胞への分化を制御する因子が分泌されていることが示唆された。また、CSC 内での Notch シグナル伝達系の強度は、CSC が自己複製を行うか、分化を行うかの制御を行っていると考えられた。

以上より、miPS-LLCcm は自己複製能、多分化能、造腫瘍能、血管内皮分化能など過去に報告されている CSC の機能を有した非常に有用な解析モデルであり、また、本研究により、CSC は、分化したがん細胞を生産することによって、自身の維持、分化を調節する微小環境を作り出していると考えられた。

## 論文審査結果の要旨

がん疾患におけるがん幹細胞の存在が明らかになる中、これまでの仮説の域を越えた具体的ながん研究が可能となって来ている。特に、山中らによる iPS 細胞創出の成功により胚性幹細胞の入手が従来に比べて格段に容易となった一方で、再生医療への応用ではがん化の懸念を伴うことから、この細胞を用いたがん研究は一層重要となっている。本論文では iPS 細胞からがん幹細胞を作り出した実績を利用して、がん幹細胞ニッチとがん幹細胞由来のがん細胞の関係性を、それぞれの細胞が分泌する因子に着目して解析している。まず、がん幹細胞モデルとして樹立した miPS-LLCcm 細胞は、血管内皮様細胞への分化能を有していることを見出しており、腫瘍形成の際に起こる血管新生が、正常血管から導かれるものとは別に、がん幹細胞に由来する細胞も存在する事を示した。がん幹細胞から分化した血管内皮細胞やがん細胞はがん幹細胞の Notch シグナルを活性化する因子を分泌しており、このシグナルががん幹細胞の自己複製能と分化能の双方に影響しバランスを制御している事を示した。また、Notch シグナルを活性化する因子は既知の Notch リガンドでは説明できないため、新規の Notch リガンドの存在が示唆している。同時に、がん細胞由来の分泌因子が長期的に枯渇すると、がん幹細胞の分化能にも変化が生じる事も示しており、これはがん幹細胞の可塑性もしくは多層性を示していると結論している。このように、がん幹細胞が分化した細胞により、がん幹細胞自身が維持制御されていることを明らかにしたのは世界で初めての成果である。今回の発見が、がん幹細胞の特徴を明らかにして行く上で重要かつ有効であると認め、今後のがん研究の進展にひとつの方向性を示した事は有望であると認め、審査委員の全員が本論文を学位にふさわしい論文であると評価した。