

パナワン オラサ 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

Establishment and characterization of a novel cancer stem-like cell of cholangiocarcinoma

(胆管癌由来の新規癌幹細胞の樹立と性状解析)

胆管癌(CCA)は、化学療法感受性が低く、再発・転移しやすい難治性である。近年、癌幹細胞(CSC)が治療標的として有望視されてきたが、現在までに、CCA-CSC に関する知見は限られている。本研究では、CCA-CSC のモデル細胞株を新たに樹立し、その生物学的表現型の解析とともに、各種のオミクス解析による分子ネットワークの観点から、治療標的分子の候補を同定することを目的とした。

CCA 親細胞株(Par)の KKU-055 から、幹細胞培地条件下で3ヶ月以上の連続継代培養を行い、CSC 様細胞株 KKU-055-CSC を樹立した。10%ウシ胎児血清で CCA への分化を誘導した(DIF)。これらの細胞状態の表現型を調べた(染色体核型と Short Tandem Repeat 型、マウス皮下移植による腫瘍形成能、各種幹細胞マーカー、CCK8 アッセイによる増殖能と薬剤耐性能、特殊培地と免疫染色による多分化誘導能、LC-MS/MS による全プロテオームとデータ解析)。CSC を特徴づける候補分子に対する特異的な siRNA と阻害剤を用いて検討した。

樹立した KKU-055-CSC は、幹細胞マーカー(SOX2, CD44, EpCAM など)を発現し、安定に増殖して sphere を形成した。親株 Par と比較して、1)移植モデルで腫瘍形成能が高い、2)幹細胞マーカーが高発現する、3)シスプラチン、5-フルオロウラシル、ゲムシタビンの抗癌剤に対する感受性が低い、4)CCA への分化能に加えて、脂肪細胞や骨細胞への多分化能をもつ、の特徴を示した。CCA-055-CSC の sphere 細胞(SP)、CCA への分化誘導細胞(DIF)、親細胞(Par)を用いた全プロテオミクス解析によって、幹細胞マーカー(CD44, CD38, EpCAM など)に加えて、High mobility group A1(HMGA1)と Aurora-A の経路、それに関わる STAT3 経路が CSC(SP)で活性化することが示唆された。KKU-055-CSC における HMGA1 のノックダウンは、幹細胞マーカーの発現を抑制し、分化を誘導するだけでなく、その細胞の増殖を抑制し、Aurora-A 阻害剤および各種の抗癌剤に対する感受性を増強した。TCGA の CCA mRNA データセット *in silico* 解析により、ヒト CCA 患者における HMGA1 の発現は、Aurora-A 発現と相関しており、さらに CCA 患者の生存率低下と相関することが判明した。以上の結果から、HMGA1-Aurora-A 経路が CSC-CCA において重要な意義をもつことが示唆された。

審査において、(1)CSC の定義とその分化の確認法;(2)KKU-055(Par)の遺伝子変異と CSC の潜在性;(3)CSC 樹立時の染色体・ゲノムの変化;(4)CCA 腫瘍組織内の HMGA1 の陽性細胞の存在;(5)CSC での HMGA1 と Aurora-A のタンパク質増加のメカニズム(STAT3 経路が関わるか);(6)HMGA1 の転写調節と転写後調節の可能性;(7)HMGA1 による抗癌剤抵抗性;(8)CSC での HMGA1 と Aurora-A の機能的な関連性;(9)移植後の Par 細胞と CSC 細胞による腫瘍形成の相違;(10)Aurora-A 阻害剤のみの作用;(11)CSC・治療抵抗性に対する戦略としての意義、などについて活発な質疑が行われ、申請者から概ね適切な回答が得られた。

本研究は、CCA-CSC 細胞株を新規に樹立して、プロテオミクス解析を用いて HMGA1-Aurora-A シグナル経路が特異的に活性化していることを見出し、CCA の治療標的になる可能性を示唆したことから、学位論文に相応しいと評価された。

審査委員長 細胞医学担当教授

中尾 忠善