



Title	Possible role of mural cell covered mature blood vessels in inducing drug resistance in cancer-initiating cells
Author(s)	松井, 崇浩
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59780">https://hdl.handle.net/11094/59780</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【92】

氏名	松井 崇浩
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 25918 号
学位授与年月日	平成 25 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学位論文名	Possible role of mural cell covered mature blood vessels in inducing drug resistance in cancer-initiating cells (がん始原細胞の薬剤抵抗性誘導における壁細胞で覆われた成熟血管の役割)
論文審査委員	(主査) 教授 金倉 譲 (副査) 教授 竹田 潤二 教授 森 正樹

#### 論文内容の要旨

##### 〔目的(Purpose)〕

腫瘍細胞には幹細胞システムに類似した階層性が存在し、これらの多様な細胞で腫瘍組織が構築されていることを示す報告が近年多くの悪性腫瘍でなされている。悪性腫瘍の治療で重要な位置を占める化学療法の問題点として、腫瘍細胞が化学療法を経て薬剤耐性を獲得

当研究により得られた成果は、悪性腫瘍の新たな理解とともに新規治療法を開発する上での新しい知見も与えている。よってこの研究成果を博士の学位授与に値するものと認める。

し治療抵抗性となることがあげられるが、この薬剤抵抗性や治療後再発にも階層の上位に位置するがん幹細胞(cancer stem cell; 以下CSC)やがん始原細胞(cancer-initiating cell; 以下CIC)が重要な役割を果たすと考えられている。本研究ではマウスの腫瘍細胞株を用いてCICと薬剤抵抗性との関係を検討した。

#### 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

マウス大腸癌細胞株colon26とマウス肺癌細胞株LLC(Lewis Lung Carcinoma)の各々に、PSF1(Partner of Sld Five-1) promoterとEGFP(Enhanced Green Fluorescent Protein)の融合配列を導入し、内因性のPSF1 promoter活性レベルがEGFPの蛍光強度と相関する細胞株を使用した。既報からPSF1 promoterの活性が高い癌細胞はCICの特性を有することが知られており、本研究では上記細胞株をマウスに同種移植して腫瘍を形成させ、その腫瘍組織中でEGFPを高発現している細胞をCICとした。抗癌剤に対する薬剤耐性能の評価は*in vitro* colony formation assay法を用いて行った。

まずマウスに形成させた腫瘍組織中のCICが、薬剤に暴露される前から他の腫瘍細胞と比べて強い薬剤抵抗性を有しているのか否かを検討した。抗癌剤の5-FU(5-fluorouracil)を用いて解析したところ、colon26とLLCどちらの腫瘍においてもCICとそれ以外の腫瘍細胞との間に薬剤耐性能の有意な差はみられなかった。次に腫瘍形成させたマウスに抗癌剤5-FUを複数回投与し、その後に残存腫瘍を回収して薬剤耐性能の検討を行ったところ、colon26とLLCどちらの腫瘍においても、5-FU投与後に残存したCICは他の残存腫瘍細胞に比べて有意に強い薬剤耐性能を示した。これらの結果から、CICが予め薬剤抵抗性を有しているのではなく、生体内で薬剤に暴露されることがCICの薬剤抵抗性の誘導に必要であると考えられた。

次に抗癌剤投与後に残存するCICの割合について検討した。上述と同様に、腫瘍形成させたマウスに抗癌剤5-FUを複数回投与し、残存腫瘍細胞中のCICの割合をcolon26とLLCとで比較したところ、colon26では5-FU投与によりCICの割合が低下する一方で、LLCでは5-FU投与後もCICの割合は増加する傾向があった。別の抗癌剤cisplatinを用いた解析でも同様の結果であった。免疫染色でCICの局在と腫瘍血管の性状を調べたところ、CICは血管内皮細胞が壁細胞に覆われている成熟血管の周辺に多く存在し、LLCの成熟血管はcolon26と比べて4倍の高頻度で多くみられた。これらの結果からCICの薬剤抵抗性の誘導には成熟した腫瘍血管が形成する腫瘍微小環境と何らかの関係があることが示唆された。

#### 〔総括(Conclusion)〕

マウスモデルを用いて、CICの薬剤抵抗性の誘導に成熟腫瘍血管の形成する腫瘍微小環境が関与する可能性が推察された。今後この詳細なメカニズムをさらに解析することでCICやCSCを治療標的とするより効果的な治療法の開発につながりうると考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

腫瘍細胞には幹細胞システムに類似した階層性が存在し、これらの多様な細胞で腫瘍組織が構築されていることを示す報告が近年多くの悪性腫瘍でなされている。この階層の上位に位置するがん幹細胞(cancer stem cell)やがん始原細胞(cancer-initiating cell; 以下CIC)は、化学療法後に腫瘍が薬剤耐性能を獲得し治療抵抗性となる際にも重要な役割を果たすと考えられている。そのためこれらの細胞が薬剤抵抗性を獲得する機序を解明することは、より効果的な悪性腫瘍の治療方法を考案する上で重要な意義を持つと考えられる。

本研究ではマウスの腫瘍細胞株を2種類使用し、またDNA複製因子として知られるGINS複合体の一員であるPSF1の遺伝子転写活性が高い腫瘍細胞は、CICの特性を有するという知見を用いて、CICと薬剤抵抗性との関係を検討している。この結果からCICが予め薬剤抵抗性を有しているのではなく、生体内で薬剤に暴露されることがCICの薬剤抵抗性の誘導に必要であることを解明している。またCICは血管内皮細胞が壁細胞に覆われている成熟血管の周辺に多く存在し、CICの薬剤抵抗性の誘導には成熟した腫瘍血管が形成する腫瘍微小環境が何らかの役割を果たしていると考えられることも指摘している。