

| | |
|--------------|---|
| Title | Disruption of endolysosomal RAB5/7 efficiently eliminates colorectal cancer stem cells. |
| Author(s) | 竹田, 充伸 |
| Citation | 大阪大学, 2019, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/72533 |
| rights | |
| Note | やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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。 |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

| | |
|---|-------------------|
| (申請者氏名) 竹田 充伸 | |
| 論文審査担当者 | (職) 氏 名 |
| | 主 査 大阪大学教授 土岐 祐一郎 |
| | 副 査 大阪大学教授 野々村 祝夫 |
| | 副 査 大阪大学教授 石井 優 |
| 論文審査の結果の要旨 | |
| <p>近年、大腸癌は新規抗癌剤や分子標的薬などの治療法の開発が進み予後は改善しているものの、依然として根治に至る治療法とまでは至っていない。癌の治療抵抗性には癌幹細胞が深くかかわっており、癌幹細胞は高い自己複製能、造腫瘍能と抗癌剤抵抗性を有するため、癌治療における最大の障壁となっている。この論文では、大腸癌幹細胞においてリソソーム経路が特徴的に亢進していることを同定し、リソソーム経路を調節するRab5/7の阻害が癌幹細胞の治療抵抗性に有用である可能性を初めて見出した。本研究では、Rab5/7を標的し、リソソーム経路を阻害する抗マラリア薬であるメフロキンの大腸癌に対するドラッグリポジショニングが、大腸癌幹細胞ヒエラルキーを包括的に標的とする新規治療法となる可能性を見出した。この研究の意義は非常に高く、大腸癌における治療ガイドラインを塗り替えるような新たな治療戦略の礎となるものと強く期待されるため、学位の授与に値すると考えられる。</p> | |

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

| | |
|---|---|
| 氏名 Name | 竹田 充伸 |
| 論文題名 Title | Disruption of endolysosomal RAB5/7 efficiently eliminates colorectal cancer stem cells. (リソソーム経路制御因子RAB 5/7の阻害による大腸癌幹細胞標的化治療の開発) |
| 論文内容の要旨 | |
| <p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>癌幹細胞は、高い自己複製能、造腫瘍能と抗癌剤抵抗性を有するため、癌治療における最大の障壁となっている。そのため、癌の根治を目指すためには、癌幹細胞を標的化する治療が求められる。われわれは活性酸素種（ROS）の発現が低い細胞では治療抵抗性を持ち、高い幹細胞性を有することを報告してきた。本研究を推進し、大腸癌細胞で網羅的抗体アレイを行うことにより、低ROS活性細胞でLAMP1（リソソーム関連膜タンパク）が高発現していることを見出し、このことから癌幹細胞においてはリソソーム活性が亢進しているのではないかと考えるに至った。</p> <p>オートファジー活性が幹細胞の維持機構に重要な役割を果たしていることはいくつかの研究報告がなされているが、オートファジー経路の一部を担うリソソームと癌幹細胞との関連性を示した報告は未だなされていない。またリソソーム活性に焦点をあてた癌幹細胞標的治療薬の報告も認めない。本研究では、大腸癌においてリソソーム活性と幹細胞性との関係を明確にし、リソソーム活性阻害による大腸癌幹細胞標的の開発、さらにはその臨床応用を目指した基礎的データの集積を目指した研究を行なった。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>大腸癌細胞株を用いて、リソソーム（LysoTracker）の蛍光トレーシング化を行い、癌幹細胞とリソソーム活性の関係を明確にするため、大腸癌幹細胞マーカーであるCD133 と CD44variant 9発現との相関を検討し、大腸癌幹細胞集団ではリソソーム活性が亢進していることを見出した。リソソーム活性が亢進している細胞集団は、増殖能が低く、G0/G1期の割合が多く、単一細胞からのsphere 形成能、造腫瘍能や抗癌剤抵抗性を高く保持していた。</p> <p>また、ケミカルスクリーニングを行うことで、リソソーム阻害剤としてメフロキン（日本で使用可能な抗マラリア薬）を同定した。メフロキン投与により、癌幹細胞集団が消失すること、大腸癌で実際使用されているオキサリプラチンやイリノテカンと相乗的に抗腫瘍効果をもつこと、ヒト大腸癌担癌マウスにおいて腫瘍がほぼ完全に消失することを見出した。</p> <p>メフロキンの作用機序の解明のために、ヒト大腸癌担癌マウスモデルを用いたアレイ解析とタンパク構造解析を行うことで、メフロキンがリソソーム経路制御因子であるRAB 5/7を標的とすることで、リソソーム活性が亢進している癌幹細胞を標的化できることや、ミトコンドリア代謝を抑制し、損傷ミトコンドリアが蓄積することでミトコンドリア誘発性アポトーシスを亢進させていることを見出した。実際、RAB 5/7をknockdownすることで、メフロキンと同様に癌幹細胞分画が消失し、sphere形成能が抑制されていることを示した。</p> <p>ヒト大腸癌同所移植マウスモデルや腹膜播種モデルを作成し、メフロキンと大腸癌抗癌剤（イリノテカンやオキサリプラチン）併用によって皮下腫瘍モデルと同様に高い抗腫瘍効果をもつことを確認した。メフロキン治療後のマウス腫瘍の免疫組織化学染色においても、RAB5/7、癌幹細胞マーカーであるCD44v9やリソソーム関連膜タンパクであるLAMP1/2の発現が低下していた。そして、治療後のマウスモデルの血液結果や主要臓器の病理学的検討に明らかな変化、体重減少や異常行動も認めていないことより、副作用が生じないことが確認された。同結果より、今後、進行再発大腸癌に対するメフロキン投与の第一相臨床試験の計画を進めていく計画である。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>大腸癌幹細胞の維持機構にリソソーム活性が密接に関与しており、RAB 5/7を標的とすることでリソソーム活性を特徴的に阻害する化合物であるメフロキンを同定した。抗マラリア薬メフロキンの大腸癌へのリポジショニングは、リソソーム経路を阻害することで癌幹細胞を治療標的とする従来にない薬理作用により、癌幹細胞ヒエラルキーを包括的に標的とする革新的な治療法になると期待される。</p> | |