

氏名	安部 紘生
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	第 7 3 8 号
認定課程名	防衛医科大学校医学教育部医学研究科
学位授与年月日	令和6年2月19日
論文題目	癌関連線維芽細胞の多様性のがん幹細胞性へ及ぼす影響とその機序の解析—Desmoplastic Reaction(DR)分類を基軸として
審査担当専門委員	(主査) 大学改革支援・教授 鈴木 利哉 学位授与機構 杏林大学 教授 大西 宏明 群馬大学 教授 村上 正巳

#### 審査の結果の要旨

大腸癌は癌関連線維芽細胞(cancer-associated fibroblasts: CAFs)を中心とした間質細胞により形成される線維性癌間質反応(desmoplastic reaction: DR)により形態的に immature、intermediate、mature の3群に分類される。この3群分類は予後予測因子として有用であるが、癌の悪性度に関与する機序について明らかではなかった。申請者は、DRはCAFsを含むがん幹細胞ニッチの多様性のがん幹細胞性に関連するという仮説を立て、DR分類別に分離培養したCAFsが大腸癌のがん幹細胞性に与える影響を解明することを目的に研究を行った。

大腸癌患者の新鮮凍結標本から腫瘍、癌間質部を選択的に採取し、がん幹細胞関連遺伝子群の発現をDR分類別に評価した。大腸癌の切除検体からCAFsを分離・培養し、大腸癌株化細胞とCAFsを共培養することにより Sphere formation assay、real-time PCR法、イムノブロット法、ALDEFLOUR assayを用いてがん幹細胞性を評価し、in vivoモデルとして大腸癌株化細胞とDR分類別の各CAFsを混合してそれぞれマウスの皮下に移植し、生着率の比較からがん幹細胞性の差異を検討した。CAFsが大腸癌のがん幹細胞性に影響を与える因子として Periostin (POSTN) およびその発現に関連するとされる TGF- $\beta$  シグナル(特に TGF- $\beta$  1) に着目した。また DR 分類別に CAFs における POSTN の発現を抑制することで CAFs によるがん幹細胞性への影響が変化するのかについても評価した。癌間質部におけるサイトカイン発現を DR 分類別に評価した。DR 分類別に培養した各 CAFs からの IL-6 分泌を評価し、POSTN の刺激による各 CAFs の IL-6R の発現および IL-6 の分泌変化を比較した。CAFs における IL-6/STAT3 シグナルと POSTN の相互作用に着目し、C

AFs における IL-6 の活性化と POSTN の関連や、IL-6 中和抗体を用いることによるがん幹細胞性への影響を免疫ブロット法などを用いて評価した。

DR 分類で mature な腫瘍と比較して immature な腫瘍でがん幹細胞性関与の遺伝子群が高発現していた。DR 分類別に培養した CAFs と大腸癌株化細胞との共培養では、mature 由来の CAFs (CAFsmature) に比較して、immature 由来の CAFs (CAFsimature) が大腸癌細胞のがん幹細胞性を亢進させた。Immature な癌間質では POSTN が高発現しており、CAFsmature と比較して CAFsimature では POSTN の分泌が高度であった。さらに CAFsimature における POSTN 発現を抑制することで、共培養した大腸癌株化細胞の TGF- $\beta$  シグナルが抑制され、がん幹細胞性も抑制された。DR が immature である癌間質では、多種のインターロイキンが高発現していた。CAFsmature と比較して CAFsimature で IL-6 の分泌が高度であり、POSTN 添加の刺激を受けて CAFsimature の IL-6 分泌が亢進すると共に、CAFs に IL-6R の発現が誘導された。IL-6 の添加刺激により CAFsimature における IL-6/STAT3 シグナルを活性化すると、POSTN の分泌が促進された。CAFsimature は大腸癌のがん幹細胞性を有意に亢進させることが確認され、CAFsmature はがん幹細胞性に対して抑制的に作用している可能性が示唆された。腫瘍微小環境における POSTN の発現によって TGF- $\beta$  1 や Smad2/Smad3 発現を促進することが確認され、TGF- $\beta$  シグナルを介して POSTN が大腸癌のがん幹細胞性に影響を及ぼしている可能性が示唆された。本論文の学術的価値は高く、博士（医学）として合格と判定した。