

(第3号様式)

学 位 論 文 要 旨

氏 名 西 川 真 弘

論 文 名 膠芽腫辺縁部の腫瘍幹細胞に高発現する分子 CD44 の同定と
その機能解析

学位論文要旨

【目的】膠芽腫は、最新の集学的治療を行っても、生存期間中央値は約 15 ヶ月と極めて予後不良な原発性脳腫瘍である。近年、腫瘍幹細胞が放射線治療や化学療法に抵抗性を示し、腫瘍再発の主な原因であることが示されてきた。腫瘍幹細胞は「ニッチ」と呼ばれる特殊な微小環境に存在し、周囲組織との相互作用により腫瘍発生・浸潤・増殖などに関与するとされており、これまでに幹細胞マーカーの同定および機能解析に関して様々な研究が行われている。しかし、膠芽腫では、その大部分が腫瘍中心部組織を用いて解析したものであり、膠芽腫の再発様式のほとんどが摘出腔辺縁部からの局所再発であることを鑑みると、着目すべきはむしろ腫瘍辺縁部であり、同部位に残存した腫瘍幹細胞を標的とした新規治療法を開発する必要があると考えた。そこで本研究では、膠芽腫の腫瘍辺縁部に存在する腫瘍幹細胞の存在を明らかにし、その機能解析を行うこととした。

【対象と方法】2014年1月から2016年12月までに愛媛大学脳神経外科で治療された初発膠芽腫患者36名のうち、同一プロトコルで治療を行い、かつ腫瘍中心部および辺縁部の両部位から腫瘍組織を採取できた13名を対象とした。術前の頭部MRI画像およびPET-CT画像を融合したニューロナビゲーション画像を用いて各部位より腫瘍組織を採取し、まず4名の患者で8種の幹細胞マーカー (Nestin、CD133、CD15、CD44、Bmi-1、Sox2、Oct3/4、CXCR4) 及び4種の関連分子 (HIF-1 α 、HIF-2 α 、VEGF、TGF- β) の遺伝子発現をqRT-PCRにて解析し、辺縁部において高発現する分子を同定した。また、同定した幹細胞マーカーについては免疫組織化学的にも検討した。さらに、同定した分子に関しては全13症例において遺伝子発現を解析し、画像や予後との関連性についても検討した。画像については、MRI、¹¹C-Methionine PET-CT、腫瘍摘出腔の

Protoporphyrin IXの蛍光強度を用いて、腫瘍辺縁部の浸潤・増殖の程度により、高浸潤/低増殖型 (Group I)、高浸潤/高増殖型 (Group II)、低浸潤/高増殖型 (中心性壊死あり Group IIIa、壊死なし IIIb) に分類した。さらに腫瘍辺縁部の組織の初代培養より樹立したグリオーマ幹細胞様細胞を用いて、in vitro 及び in vivo での遊走能、浸潤能、増殖能などの機能解析を行った。なお、本研究は、愛媛大学医学部附属病院の臨床研究倫理審査委員会および愛媛大学医学部の動物実験倫理委員会によって承認されている。

【結果】 幹細胞マーカーでは CD44 が、関連分子では VEGF が腫瘍辺縁部において高発現していた。腫瘍中心部と比較して腫瘍辺縁部でより多く発現する幹細胞マーカーを探索するために Periphery/Core(P/C)ratio を解析した結果、大部分の幹細胞マーカーは P/C ratio が 2 前後と差がない中で CD44 と CD133 は症例により非常に高い P/C ratio を示した。しかし、CD133 は mRNA 発現が低いことから CD44 に着目し、解析を進めた。免疫組織化学的検討では、CD44 の P/C ratio 高値の症例は腫瘍辺縁部に CD44 陽性腫瘍幹細胞が多く存在していた。全 13 症例の解析では、CD44 の P/C ratio が高値の症例は、画像上、腫瘍辺縁部において浸潤型 (Group I、II) を示し、早期に再発を来し予後不良であった。一方、P/C ratio が低値の症例は、腫瘍辺縁部が境界鮮明型 (Group IIIa、IIIb) で、VEGF の発現量が多く、高い増殖能を示したが長期生存していた。また、樹立したグリオーマ幹細胞様細胞は CD44 の発現が高く、同細胞は高い遊走能・浸潤能を有しており、siRNA にて CD44 の knockdown により、それらの活性は抑制された。

【考察】 膠芽腫の腫瘍摘出腔辺縁部には、中心部と同様の機能を有した腫瘍幹細胞が存在するなかで、CD44 を高発現する腫瘍幹細胞が中心部より多く存在する症例があり、同細胞群が高い浸潤性や早期再発に関与していると考えられた。一方、腫瘍辺縁部での VEGF 高発現は、CD44 による浸潤活性を抑制する可能性が示唆された。また、Group I,IIの症例は HIF-1 α の発現が亢進し、Group IIIの症例では HIF-2 α の発現が亢進しており、高浸潤型の腫瘍幹細胞を取り巻く微小環境では、低浸潤型と比べ、低酸素の程度がより強く、HIF-1 α の活性化により CD44 発現が増強する環境にあることが示唆された。今後、低酸素環境下における CD44 の挙動を明らかにし、腫瘍辺縁部に残存した CD44 発現腫瘍幹細胞の浸潤と増殖における制御機構を解明することで、新たな治療戦略の確立に繋がる可能性が示唆された。

| | |
|-------------|----------------------------|
| キーワード (3~5) | 膠芽腫 腫瘍幹細胞 CD44 浸潤 |
|-------------|----------------------------|