



Title 論文題目	前立腺癌幹細胞の同定と解析 I . Gene Expression Profiles of Prostate Cancer Stem Cells Isolated by Aldehyde Dehydrogenase Activity Assay II . Prostate cancer stem-like cells/cancer-initiating cells have an autocrine system of hepatocyte growth factor. (1 アルデヒド脱水素酵素活性分析による前立腺癌幹細胞の同定とその遺伝子発現 2 前立腺癌幹細胞/癌源細胞は肝細胞増殖因子の自己分泌機構を持つ)
Author(s) 著者	西田, 幸代
Degree number 学位記番号	甲第 2756 号
Degree name 学位の種類	博士 (医学)
Issue Date 学位取得年月日	2014-03-31
Original Article 原著論文	
Doc URL	
DOI	
Resource Version	

学位論文の内容の要旨

報 告 番 号	甲第 2756 号	氏 名	西田 幸代
前立腺癌幹細胞の同定と解析			
I. Sachiyo Nishida, Yoshihiko Hirohashi, Toshihiko Torigoe, Hiroshi Kitamura, Akari Takahashi, Naoya Masumori, Taiji Tsukamoto and Noriyuki Sato Gene Expression Profiles of Prostate Cancer Stem Cells Isolated by Aldehyde Dehydrogenase Activity Assay (アルデヒド脱水素酵素活性分析による前立腺癌幹細胞の同定とその遺伝子発現) Journal of Urology, 2012; 188(1): 294-299			
II. Sachiyo Nishida, Yoshihiko Hirohashi, Toshihiko Torigoe, Ryuta Inoue, Hiroshi Kitamura, Toshiaki Tanaka, Akari Takahashi, Hiroko Ananuma, Naoya Masumori, Taiji Tsukamoto and Noriyuki Sato Prostate cancer stem-like cells/cancer-initiating cells have an autocrine system of hepatocyte growth factor. (前立腺癌幹細胞/癌源細胞は肝細胞増殖因子の自己分泌機構を持つ) Cancer Science, 2013; 104(4): 431-436			
【研究目的】 前立腺癌組織中に存在するがん幹細胞/がん源細胞(cancer stem cells/cancer initiating cells; CSCs/CICs)は、癌の発生や進展過程に関与し、治療に抵抗性であるため、転移・再発の重要な要因になると考えられている。近年、種々の癌幹細胞の分離にアルデヒド脱水素酵素 1(ALDH1)活性が用いられている。そこで前立腺癌の CSCs/CICs を ALDH1 活性分析により分離し、その特徴を明らかにするとともに、がん幹細胞特異的な治療への道筋を探索することを目的とした。			
【研究方法】 ヒト前立腺癌細胞株 22Rv1 に対して ALDH1 活性分析を行い、セルソーター(FACS Aria II)を用いて ALDH1 高活性および低活性細胞集団を生細胞の状態で回収した。回収した細胞はそれぞれ NOD/SCID マウスの皮下に移植し、腫瘍形成能を評価した。また RT-PCR 法、マトリゲル浸潤アッセイ、浮遊培養系における sphere(浮遊細胞塊)形成能について調査し、CSCs/CICs としての性質を有するかどうかを検討した。 得られた CSCs/CICs においては、本来間質の細胞から分泌されていると言われる肝細胞増殖因子(HGF)を高発現していることが明らかとなったため、培養液中の HGF 蛋白を ELISA 法およびウェスタンブロット法により定量した。22Rv1 細胞に対して外因性の HGF を加えた状態、または筋線維芽細胞の培養液を加えた状態、さらには抗 HGF 抗体を加えた状態で、sphere 形成分析を行った。さらに、HGF の受容体である cMet を si-RNA 法によりノックダウンし、sphere 形成能の変化や NOD/SCID マウス皮下での腫瘍形成能の変化を評価した。また、実際の前立腺癌患者標本を用いて癌幹細胞マーカーである SOX2 と HGF の免疫染色を行った。			
【研究成績】			

ALDH1 高活性細胞集団では腫瘍形成能、浸潤能、sphere 形成能が低活性集団と比べ有意に高く、また RT-PCR 法では癌幹細胞関連マーカーの PROM1 と NKX3.1 を高発現していた。従って ALDH1 高活性細胞集団は CSCs/CICs が多く含まれる細胞集団であると考えられた。

HGF 蛋白は CSCs/CICs の培養液中で、非 CSCs/CICs の培養液と比較して、有意に高発現していた。またウェスタンブロット法でも HGF 蛋白の高発現を確認した。sphere 形成分析では、外因性の HGF を加えた場合に、有意に sphere も形成能が亢進した。さらに前立腺筋線維芽細胞の培養液を加えることで、sphere 形成能は亢進したが、抗 HGF 抗体の添加によりその形成能は抑制された。また、cMet をノックダウンした 22Rv1 では sphere 形成能は低下し、NOD/SCID マウスの皮下での腫瘍形成能も低下した。前立腺癌標本の免疫染色では SOX2 は核に、HGF は細胞質に染まっており、SOX2 陽性細胞の中に HGF を分泌しているものが複数認められたことから、前立腺 CSCs/CICs が HGF を分泌していることが示された。

【考 察】

本研究は ALDH1 活性分析を用いた 22Rv1 の CSCs/CICs に関する最初の報告である。このアプローチ法が前立腺癌の CSCs/CICs のさらなる解明への手がかりになると考えられた。

また HGF に関して、最近では多くの癌の浸潤、転移に重要な役割を果たしていると言われていたが、これまでは間葉細胞から分泌されると考えられてきた、本研究では前立腺の CSCs/CICs における HGF の高発現が新たな知見であり、HGF の有無が sphere 形成にもたらす作用を確認できたことに加え、実際にヒトの前立腺癌標本でも HGF 陽性の癌細胞を同定できた。これより HGF は間葉細胞のみならず CSCs/CICs からも自己分泌することで自身の維持に役立っていると考えられた。

【結 論】

HGF/cMet シグナルは前立腺の CSCs/CICs の維持に重要な役割を果たしており、それを抑制することで CSCs/CICs 特異的な治療につながる可能性が示唆された。

論文審査の要旨及び担当者

平成 25 年 11 月 28 日提出

(平成 26 年 3 月 31 日授与)

報告番号	甲第 2756 号	氏名	西田 幸代
論文審査 担当者	主査 舩森 直哉	副査 佐藤 昇志	
	委員 澤田 典均	委員 平田 公一	

論文題名	<p>前立腺癌幹細胞の同定と解析</p> <p>I .Gene Expression Profiles of Prostate Cancer Stem Cells Isolated by Aldehyde Dehydrogenase Activity Assay (アルデヒド脱水素酵素活性分析による前立腺癌幹細胞の同定とその遺伝子発現)</p> <p>II .Prostate cancer stem-like cells/cancer-initiating cells have an autocrine system of hepatocyte growth factor. (前立腺癌幹細胞/癌源細胞は肝細胞増殖因子の自己分泌機構を持つ)</p>
結果の要旨	<p>近年、癌が転移・再発を来す原因の一つに癌幹細胞の存在が指摘されており、前立腺癌においても同様である。本研究ではヒト前立腺癌細胞株を用いて、ALDH 1 (Aldehyde dehydrogenase1)活性別に細胞を分別し回収することで、癌幹細胞の同定が試みられていた。その結果、ALDH 1 高活性細胞集団では癌幹細胞性を有していることが判明した。さらに癌幹細胞集団ではHG F (hepatocyte growth factor)を高分泌していることが観察された。このHG Fが癌幹細胞の維持に重要な役割を果たしていることが明らかとされており、これを抑制することが癌幹細胞特異的な治療法につながると考察されていた。以上の研究成果は、今後の前立腺癌治療に直結する有用な情報を備えており、学生提出学位論文として適切であると評価された。</p>