

## 緑川 宇一氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

融合プロテオミクスによるグリオーマ幹細胞の分化制御機構に関する研究  
(Study of the mechanism of glioma initiating cell differentiation by integrated proteomics)

癌の根治療法では、抗癌剤・放射線抵抗性と腫瘍形成能を有する癌幹細胞が新たな標的とされている。悪性脳腫瘍においても、グリオーマ幹細胞様細胞(GIC)の存在が示されているが、これらの増殖・分化に関わる生化学的特徴や機能を説明する報告はほとんどない。本研究は、グリオーマ患者組織よりGICを樹立し、融合プロテオミクス解析によってその分化制御メカニズムを明らかにし、新規治療ターゲットになり得る分子群を同定することを目的とした。

方法として、グリオーマ患者組織から、癌幹細胞に特徴的な sphere 形成能、神経幹細胞と脳腫瘍関連マーカーの発現、及び腫瘍形成能を有する8つのGICクローン樹立し、融合プロテオミクス法(DNA microarray法、iTRAQ法)を用いて、血清刺激によるGICの分化に関わる分子の網羅的同定と発現・機能プロファイリングを行った。遺伝子オントロジー解析から最も有意に変動する分子を同定し、Western Blotting、免疫化学染色、タイムラプス顕微鏡による細胞形態解析、及びマウス頭蓋内移植等の観察手段を用いて、各種標的分子の阻害剤及び抗癌剤の影響を解析した。

本研究の結果として、樹立したGICは神経幹細胞マーカーを発現しており、分化誘導時にこれら遺伝子発現の減少とAstrocyte、Neuron、悪性グリオーママーカーの発現を誘導し、神経幹細胞様の性質とグリオーマ細胞への分化能を有することが判明した。融合プロテオミクス法により、GICは血清刺激下においてECMを特異的に産生分泌し、接着因子群を介して分化を促進する特異的な分化ニッチを形成することが判明した。特にインテグリン $\alpha V$ (Int $\alpha V$ )とファイブロネクチンI(FN1)に注目し、抗Int $\alpha V$ 抗体、およびFNとの結合部位のRGDペプチドによるInt $\alpha V$ の機能阻害によって、GICの接着と分化、および分化初期の増殖が抑制され、また、RGDペプチドと抗癌剤temozolomide(TMZ)の併用により、GIC同所性移植マウスの生存期間が延長されることを明らかにした。

公開審査では、(1)がん幹細胞の定義(2)GICの起源(3)GICの分化メカニズムと治療ターゲットの関係(4)本研究の目的と意義(5)融合プロテオミクスの再現性と解釈(6)血清因子の分化への関与(7)ECMsとGICのintegrinを介した接着の足場としての分化への関与(8)参考論文への貢献度(9)CD133の幹細胞マーカーとしての意義(10)遺伝子発現と蛋白量の網羅的解析結果の違いの理由(11)RGDペプチドのグリオーマ治療薬剤としての作用機構、などについて活発な質疑が行われ、申請者からは概ね適切な回答が得られた。

本研究は、グリオーマ幹細胞の分化促進分子として、インテグリン $\alpha V$ とファイブロネクチンを含む分化ニッチを同定し、さらにインテグリン $\alpha V$ 阻害剤によるグリオーマ幹細胞の分化抑制と悪性脳腫瘍の予後改善の可能性を示した点において、医学の発展に貢献する有意義な研究であり、学位の授与に値すると評価された。

審査委員長 分子生理学担当教授

富澤 一 仁