

論文内容要旨

論文題目

ヒストンメチル化の制御に着目した卵巣がん幹細胞標的治療開発に関する研究

指導（紹介）教授： 永瀬 智
氏 名： 榊 宏論

【内容要旨】（1，200字以内）

近年の報告で、卵巣がんの再発や転移にがん幹細胞の存在が関与していることが示唆されている。そのため、卵巣がんの再発や転移を克服し、長期予後を改善するためには卵巣がん幹細胞を標的とした治療の開発が必要とされている。以前より正常幹細胞から分化した細胞ではヒストン H3K27 のトリメチル化が多く認められ、ヘテロクロマチンを介した幹細胞性維持遺伝子の発現抑制で、分化を制御している可能性が報告されていた。そこで、正常幹細胞と同様にがん幹細胞においても、ヒストン H3K27 のトリメチル量を増加させることで、がん幹細胞を分化させることが出来るのではないかと考えた。そのために、ヒストン脱メチル化酵素阻害薬 GSKJ4 を用いて、ヒストンのトリメチル化量の増加が卵巣がん幹細胞に与える影響および卵巣がん幹細胞標的治療薬としての GSKJ4 の可能性について検討を行った。

方法として、卵巣がん細胞株 A2780 より樹立したがん幹細胞である A2780CSC を用いて、GSKJ4 処理による卵巣がん幹細胞の特徴である自己複製能や腫瘍創始能の変化を検討した。具体的にはまずは実験に用いるため初めに GSKJ4 の正常細胞に対する安全性の確認を色素排除法による細胞死アッセイで行った。次に、正常細胞に影響を与えない濃度で A2780CSC でも同様に細胞死アッセイを行い、GSKJ4 が A2780CSC の生細胞率や死細胞数に耐える影響を検討した。次に、GSKJ4 が自己複製能や腫瘍創始能に与える影響を検討した。自己複製能の指標としては幹細胞マーカーの発現と Sphere 形成能がある。幹細胞マーカーの発現は Western blot 法と Flow cytometry 法で評価した。Sphere 形成能に関しては Sphere 形成実験で評価した。腫瘍創始能に関してはヌードマウスへの腫瘍細胞移植実験にて評価を行った。

結果として GSKJ4 処理により、当初の想定からは全くの予想外の結果となったが、GSKJ4 は IMR90 に影響を与えない濃度で卵巣がん幹細胞株 A2780CSC の細胞増殖の抑制および細胞死を誘導することが示された。さらに GSKJ4 処理により自己複製能の指標である幹細胞マーカーの発現や Sphere 形成能は抑制されることが示され、卵巣がん幹細胞における自己複製能が抑制されたことが示唆された。また、GSKJ4 処理によりヌードマウスにおける腫瘍増殖が抑制され、卵巣がん幹細胞の腫瘍創始能が抑制されているも示された。さらに、その過程において細胞内の H3K27 のトリメチル化量が増加していることも示された。

結語として、本研究により世界で初めて H3K27 のトリメチル化はがん幹細胞の分化においても重要な役割を果たし、ヒストン脱メチル化酵素阻害薬 GSKJ4 は卵巣がん幹細胞標的治療薬となり得ることが示された。


令和元年 8月 19日


山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：榊 宏論

論文題目：ヒストンメチル化の制御に着目した卵巣がん幹細胞標的治療開発に関する研究

審査委員：主審査委員 上野 義之 

副審査委員 山川 光徳 

副審査委員 鈴木 民夫 

審査終了日：令和元年 8月 19日

申請者はがん幹細胞の維持にかかわるヒストンメチル化の制御機構に着目し、その制御が婦人科領域での難治性腫瘍である卵巣がんの制御に展開する可能性を検討した。卵巣がん由来の細胞株 A2780 から樹立したがん幹細胞株 A2780CSC を用いて、in vitro および in vivo の実験系により、メチル化の機構としての H3K27me3 に着目して、

1. A2780CSC は脱メチル化酵素選択的阻害薬である GSKJ4 を用いた検討で線維芽細胞株 IMR90 に比して細胞傷害性についての感受性が高い。
2. GSKJ4 の添加により A2780CSC 細胞は自己複製能が阻害され、その際のがん幹細胞としての転写因子の発現減弱を伴っている。
3. GSKJ4 により前処理された細胞株をヌードマウスに移植する in vivo での検討で、前処理群で有意な生存率改善を認めた、すなわち腫瘍創始能を阻害する。

ことを見出し、将来の卵巣がんの治療薬としての可能性を示した。

これに対して、審査委員から、

1. 比較対象として用いたのが、線維芽細胞という全く異なる組織由来の細胞であるため今回の研究でみだした知見の中でのみの表現にすることとし、さらに考察のセクションでこの点で本研究に限界点があることを考察すること
2. 本論文には記載されていないが、他の卵巣がん細胞株で同様の結果を得ているのであればその点も考察のセクションで未発表データとして考察したほうが良い
3. 同様に siRNA で阻害効果について、より選択的な阻害についてデータを持ち合わせているのなら未発表データとして考察・言及すること
4. 生細胞と死細胞の濃度による傷害性の解釈についてより明確に記載すること
5. 方法のセクションで、Sphere の形成の妥当性や根拠（方法）の明示、
6. COI について明示すること
7. スペルや表記ミスが散在するので、もう一度論文全体を吟味し、論文要旨（抄録）なども明示すること

などの指摘がなされた。申請者はこれらの項目について、最終提出論文には、可能な限り上記の項目を鑑みた修正を盛り込み、不可能なものは考察で言及するというこで、本審査会としては学位論文に値すると判断してここに報告する。

(1, 200字以内)