

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 森 裕太郎
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 908 号
学位授与の日付 令和2年3月23日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博士論文名 ALDH-Dependent Glycolytic Activation Mediates Stemness and Paclitaxel Resistance in Patient-Derived Spheroid Models of Uterine Endometrial Cancer (ALDH 依存性の解糖活性化は子宮内膜がんの患者由来スフェロイドモデルにおいて幹細胞性およびパクリタキセル抵抗性を媒介する)
論文審査委員 主査 教授 藤井 雅寛
副査 教授 近藤 英作
副査 講師 土屋 淳紀

博士論文の要旨

<目的>

子宮内膜がんは婦人科領域で頻度の高い悪性腫瘍の1つである。早期症例の予後は良いが進行例や再発例の予後は悪く、新たな治療法の開発が必要である。癌幹細胞を標的とする新しい治療法を開発するために、ヒト臨床検体からのインビトロ三次元培養システムが有用なプラットフォームを提供する可能性がある。その三次元培養システムにより癌幹細胞の特性を備えたスフェロイド細胞の培養が可能となる。本研究では、臨床子宮内膜がん検体からのスフェロイド細胞の安定した培養方法の確立と、その生物学的特徴を明らかにすることを目的とした。

<方法>

子宮内膜がん症例の手術検体より採取した癌組織を用いて、これまでに9つの子宮内膜がんスフェロイドの安定培養に成功した。安定培養を確立した子宮内膜がんスフェロイド、スフェロイド由来の異種移植腫瘍、および子宮内膜がん臨床検体について、それぞれアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) 活性、幹細胞関連因子、細胞増殖、および組織学的特徴を検証した。ALDH の機能的役割を調べるために、これらの実験を ALDH 阻害剤の存在下で実施した。ALDH 機能が化学療法抵抗性を付与するメカニズムを確認するため、ALDH 高活性細胞が制御しているパスウェイを検索した。ALDH 高活性細胞におけるグルコーストランスポーター1 (GLUT1) の役割について、GLUT1 発現抑制と GLUT1 阻害剤により実験した。最後に、パクリタキセルと ALDH 阻害剤、GLUT1 阻害剤の相乗効果についてインビトロ、インビボで評価した。

<結果>

ALDH 活性の高いスフェロイド細胞は、幹細胞因子の発現、分化能と造腫瘍能が高く、癌幹細胞としての特性を持つことがわかった。ALDH1A1 の過剰発現はスフェロイドの増殖および造腫瘍能を促進したが、ALDH 活性の阻害はスフェロイド細胞の増殖および造腫瘍能を抑制した。ALDH 高活性細胞はパクリタキセルに耐

性があり、パクリタキセルと ALDH 阻害剤の併用療法は、スフェロイド細胞と異種移植腫瘍の増殖を相乗的に抑制した。ALDH 高活性は、細胞内へのグルコース取り込みの増加、解糖系の活性化、および GLUT1 の上昇と相関していた。GLUT1 の発現抑制は癌幹細胞としての特性を阻害した。ALDH の阻害と同様に、GLUT1 の阻害はパクリタキセルと相乗的に作用しインビトロでの子宮内膜がんスフェロイド細胞の増殖とインビボでの腫瘍形成を抑制した。子宮内膜がん症例の臨床組織検体において ALDH1A1 と GLUT1 の発現が高い症例は予後不良であった。

〈考察および結論〉

癌幹細胞を標的とする難治性癌の新規臨床治療戦略を開発するには三次元スフェロイド培養法が重要な方法となるが、癌幹細胞の特徴を持つ子宮内膜がんスフェロイドがインビトロで安定して増殖できることを初めて実証した。また子宮内膜がんスフェロイドの機能解析により、ALDH 活性または ALDH1A1 発現が子宮内膜癌幹細胞の増殖を促進することが示された。さらに臨床腫瘍の免疫組織学的研究により、子宮内膜がん症例において ALDH1A1 高発現は予後不良、進行期、組織学的腫瘍グレードと関連していることが示された。これらの結果から、ALDH1A1 発現が子宮内膜癌幹細胞の増殖を促進しており、進行例の腫瘍がより癌幹細胞を含むことによってアグレッシブで未分化な状態となっていることが示唆された。現在の化学療法に対する耐性は癌幹細胞の特徴の1つであるが、高 ALDH 活性の子宮内膜がんスフェロイドがパクリタキセルに耐性を示し、パクリタキセルと ALDH 阻害剤の併用療法が子宮内膜がんスフェロイド細胞の増殖を相乗的に抑制することがわかった。これまでに乳癌および卵巣癌細胞においてパクリタキセル暴露後の ALDH 高活性化が報告されており、申請者らはそれらの癌腫でも同様の併用療法がタキサン耐性の治療に適用できる可能性があると考えた。また多くの種類の癌において癌幹細胞はその増殖を解糖系に依存していることが報告されているが、GLUT1 が ALDH の重要な下流エフェクターであり、子宮内膜癌幹細胞の ALDH 活性化と解糖経路を結びつけることを示した。したがって ALDH-GLUT1 カスケードは、癌幹細胞および化学療法抵抗性の維持のための重要な経路として機能する可能性がある。ALDH 依存性の GLUT1 活性化および結果として生じる解糖活性化は、標準的なタキサン治療と組み合わせて、子宮内膜がんの予後マーカーおよび治療標的として機能した。

本研究により、ALDH 依存性 GLUT1 活性化と結果として生じる解糖活性化が子宮内膜がん症例の予後と治療に重要であり、タキサン化合物と ALDH または GLUT1 阻害剤の併用が子宮内膜がんに対する新たな治療の選択肢となる可能性が示された。

審査結果の要旨

子宮体癌は進行例や再発例では予後が悪い。本研究は子宮体癌幹細胞を標的とした新たな治療法の探索を目的とした。申請者らは、子宮体癌の臨床検体から癌幹細胞の形質を示すスフェロイド細胞の安定培養を確立した。このスフェロイド細胞の機能解析から、ALDH 活性または ALDH1A1 発現が子宮体癌の癌幹細胞マーカーである事を明らかにした。さらに、子宮体癌組織の免疫組織染色により、子宮体癌症例の ALDH1A1 高発現が予後不良と関連していることを明らかにした。また、高 ALDH 活性を示す子宮体癌由来のスフェロイド細胞がパクリタキセル耐性であり、パクリタキセルと ALDH 活性阻害剤の併用療法がスフェロイド細胞の増殖や造腫瘍能を相乗的に抑制することを示した。ALDH 活性が高い癌細胞は糖輸送体 GLUT1 を介して解糖系代謝が亢進していた。GLUT1 阻害薬をパクリタキセルと併用する事で、スフェロイド細胞の増殖や造腫瘍能を相乗的に抑制した。本研究は、ALDH - GLUT1 を介した解糖系の亢進が子宮体癌患者の予後と治療薬の選択に重要であり、ALDH 活性阻害薬または GLUT1 阻害剤とパクリタキセルとの併用が新たな子宮体癌治療薬の選択肢となる可能性を示した。これらの点によって、本論文の学位論文としての価値を認めた。