



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	食道扁平上皮癌がん幹細胞におけるFGF-2の機能解析および新規治療法への展開 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	前原, 経
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(臨床薬学)
Dissertation Number	甲第13185号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/69733
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Osamu_Maehara_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（臨床薬学）

氏 名 前原 経

審査担当者	主 査	教 授	武田 宏司
	副 査	教 授	原島 秀吉
	副 査	准教授	山田 勇磨
	副 査	講 師	中川 宏治

学 位 論 文 題 名

食道扁平上皮癌がん幹細胞における FGF-2 の機能解析および新規治療法への展開

博士学位論文審査等の結果について（報告）

本邦における食道癌の 90%以上を占める食道扁平上皮癌（ESCC）は致死的な疾患であり、高度進行例に対する有効な治療法は未だ確立されていない。このため、進行食道扁平上皮癌に対する新規治療法の開発が強く望まれている。近年、がん治療の標的の一つとしてがん幹細胞（CSCs）が注目されている。本研究において著者は、ESCC-CSCs において発現上昇が示唆された FGF-2 に着目し、ESCC-CSCs に対する FGF-2 の作用について解析をおこなった。さらに FGF-2/FGFR 経路の障害が ESCC の新規治療法となり得るかについて検討した。

本研究で著者は、ESCC-CSCs に関するこれまでの先行研究を踏まえ、CD44 の発現が高く間葉系の形態を有する細胞株（TE8, HCE4）を使用した。まず、各細胞株を CD44 と CD24 に対する抗体で染色し、セルソーターを用いて CSCs 画分（CD44^{high}/CD24^{low} : CD24^L）と non-CSCs 画分（CD44^{high}/CD24^{high} : CD24^H）を分取した。次に FGF-2 の CSCs における作用を解明するため、CD24^H 細胞に対して FGF-2 を添加する実験を行った。その結果、FGF-2 により CSCs が増加するとともに上皮間葉転換（EMT）が誘導され、さらに足場非依存的な腫瘍形成能が増大した。これらの結果から、FGF-2 は ESCC において EMT の誘導および CSCs の増殖・維持に重要であることが示唆された。次に FGFR 阻害剤を CD24^L 細胞に対して添加する実験を行った。その結果、FGFR 阻害剤により CSCs が減少するとともに間葉上皮転換（MET）が確認され、足場非依存的な腫瘍形成能が減弱した。これらの結果から、FGF シグナルが ESCC-CSCs の増殖・維持に重要であることが示唆された。

次に著者は ESCC-CSCs の増殖・維持に重要な FGF-2/FGFR 下流経路の解明を試みた。FGFR の代表的な下流経路である MAPK（RAS/MEK/ERK）経路と PI3K/AKT 経路において、各経路の阻害剤を CD24^L 細胞に対して添加する実験を行った。その結果、MEK 阻害剤を添加した細胞では CSCs が減少するとともに MET が認められた。一方、PI3K 阻害剤の添加では CSCs の減少は認められなかった。このことから、MAPK 経路が ESCC-CSCs の増殖・維持に重要である可能性が示唆された。続いて、MAPK 経路自体が ESCC-CSCs の産生・維持に重要であるかを解明するために、活性変異型 RAS を発現している T-TeRAS 細胞を用いた実験を行った。T-TeRAS 細胞に MEK 阻害剤を作用させると CSCs が減少するとともに MET が認められた。さらに、*in vitro* における薬剤感受性の変化を検討したところ、MEK 阻害剤の併用により 5-FU への感受性が増大した。以上の結果から、ESCC-CSCs の増殖・維持には MAPK 経路が重要であることが明らかとなった。

著者は最後に、ESCC に対する各阻害剤の腫瘍抑制効果について動物実験により検討した。その結果、TE8 細胞を移植したヌードマウスにおいて、FGFR 阻害剤と MEK 阻害剤のいずれの投与でも腫瘍増大の抑制効果が認められた。一方、T-TeRAS 細胞を移植した細胞では、FGFR 阻害剤の効果は限定的であるのに対して MEK 阻害剤では腫瘍増大の著しい抑制が認められた。さらに、摘出した腫瘍の免疫組織染色の結果では MET が認められた。これらの結果から、*in vivo*においても *in vitro*と一致した実験結果が得られた。

本研究の結果から、FGF-2 は ESCC-CSCs の維持に重要であり、その機能を抑制する FGFR 阻害剤や MEK 阻害剤は ESCC-CSCs を標的とした新規治療薬となり得る可能性が示唆された。

これを要するに、著者は、FGF-2 が ESCC-CSCs の維持に重要であり、その機能を抑制する FGFR 阻害剤もしくは MEK 阻害剤が ESCC に対して抗腫瘍効果を示すとの新知見を得たものであり、未だ有効な治療法が確立されておらず予後不良な進行食道扁平上皮癌に対する新規治療法の開発に対して貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士（臨床薬学）の学位を授与される資格あるものと認める。