



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	A study on radio-resistance mechanism of cancer stem-like cells using a property of low proteasome activity in canine tumor cell lines [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Sung, Koangyong
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第15031号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/86038
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	SUNG_Koangyong_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(獣医学)

氏名:成 廣鏞(SUNG Koangyong)

審査委員	主査	教授	木	村	享	史
	副査	教授	奥	村	正	裕
	副査	准教授	安	井	博	宣
	副査	准教授	細	谷	謙	次
	副査	助教	出	口	辰	弥

学位論文題名

A study on radio-resistance mechanism of cancer stem-like cells using a property of low proteasome activity in canine tumor cell lines

(犬腫細胞株におけるプロテアソーム活性を用いて分離したがん幹細胞の放射線耐性機序に関する基礎的研究)

がん幹細胞 (Cancer stem-like cells;以下、CSCs) は、自己複製能、非対称細胞分裂、および腫瘍形成能を備えた腫瘍細胞の明確な亜集団を形成する。CSCs の幹細胞様の特性に加え、CSCs の放射線耐性は照射後に生き残った CSCs が腫瘍再発を誘発し、放射線療法による腫瘍細胞の根絶を困難にする。犬の CSCs を標的とする研究は、Sphere formation や side population などのいくつかの方法を使用して試みられているが、数の少ない CSCs の識別と分離において問題が残っている。近年、CSCs の低プロテアソーム活性の特性を活用した識別法がヒト腫瘍細胞で実現されたが、犬の腫瘍細胞におけるこの方法の適用性はわかっていない。

抗腫瘍放射線治療において、腫瘍再発と関連する腫瘍細胞の放射線耐性が大きな課題となる。ヘテロな腫瘍細胞集団の中で、特に CSCs は放射線耐性を有する集団と考えられている。しかし、放射線治療効果改善のための CSCs に関連した分子標的は、特に低プロテアソーム活性の特性によって分離されたヒト腫瘍 CSCs を使用した研究でも明らかになっていない。

本研究の目的は、犬 CSCs の放射線耐性メカニズムを評価し、CSCs を標的として放射線療法を最適化するための基礎的な情報を明らかにすることである。まず、プロテアソーム活性が低い特性を活用して犬の CSCs を可視化し、次に、可視化された CSCs の放射線感受性に関わる分子標的を見つけることを目指した。

まず、犬骨肉腫由来細胞株 (HMPOS) と犬移行上皮癌由来細胞株 (MegTCC) にプロテアソーム感受性蛍光タンパク質 (ZsGreen) を導入し、プロテアソーム活性の

低い犬の腫瘍細胞を可視化した。続いて、プロテアソーム活性の低い犬腫瘍由来細胞が CSCs 様特性を有することを、非対称細胞分裂、CSCs マーカー、および腫瘍形成能によって確認した。さらに、視覚化された犬自然発生腫瘍由来の CSCs について、放射線感受性と放射線耐性のメカニズムを評価し、システイントランスポーター (xCT) の機能とグルタチオン (GSH) の合成を阻害するスルファサラジンの放射線増感効果を確認した。プロテアソーム活性の低い CSCs は、対照の細胞と比較して、より強い放射線耐性と高い GSH 含有量を示した。スルファサラジンによって GSH 含有量を減らすことにより、HMPOS 由来 CSCs を効果的に放射線増感することができた。

以上の結果から、犬 CSCs がその低いプロテアソーム活性によって可視化され、CSCs を標的とした治療アプローチの貴重な研究ツールとなりうること、さらに犬 CSCs は xCT が高く、放射線耐性と高い GSH 含量を有することが明らかになった。スルファサラジンによって CSCs の GSH 含量を減少させることにより、特に、HMPOS 由来 CSCs において放射線増感された。このように、本研究を通して、CSCs への細胞障害性を高めた放射線治療の確立への方向性が示された。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者ソン クワンヨン氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学院規程第 10 条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。