

## 論文審査の要旨

報告番号	総研第 404号	学位申請者	前田 光喜
審査委員	主査	佐藤 雅美	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	井戸 章雄	副査 橋口 照人
	副査	上野 真一	副査 古川 龍彦

### CD133 Modulate HIF-1 $\alpha$ Expression under Hypoxia in EMT Phenotype Pancreatic Cancer Stem-Like Cells

(低酸素環境下における EMT 形質を有する膵癌幹細胞様性質を持つ細胞において CD133 は HIF-1 $\alpha$  の発現に関与する)

膵癌は最も予後不良な消化器癌の一つであり、浸潤・転移などの悪性度に癌幹細胞の関与が報告されている。CD133 は膵癌を含む様々な癌で癌幹細胞マーカーの一つとして知られているが、未だその機能についての詳細は解明されていない。膵癌は発生早期より豊富な間質形成を背景とした低酸素状態にある。低酸素環境は幹細胞の維持において niche としての役割があり、Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )は低酸素における腫瘍の浸潤・転移・血管新生・代謝に重要な役割を果たすと言われている。これまで低酸素状態での膵臓癌における CD133 と HIF-1 $\alpha$  の関連性についての報告はみられない。本研究では、膵癌細胞株より独自に樹立した CD133 高発現の細胞株 Capan1M9 と、その CD133 Knockdown 株である shCD133M9 を比較検討し、低酸素環境下で CD133 が HIF-1 $\alpha$  を調節し癌の転移に関わることを検証した。その結果、以下の知見が得られた。

- 1) 低酸素条件下で膵癌細胞株 Capan1 では、CD133 の発現比率が増加することが flow cytometric analysis で確認され、低酸素と CD133 発現の関連性が示唆された。また HIF-1 $\alpha$  の発現は Capan1M9、shCD133M9 の核内で共に認められた。
- 2) 低酸素環境では Capan1M9 は shCD133M9 に比較して、HIF-1 $\alpha$  発現が高いことが蛋白および mRNA レベルで認められた。Nucleus translocation assay の結果でも HIF-1 $\alpha$  陽性細胞の比率は、Capan1M9 の方が shCD133M9 より高率であった。HIF-1 $\alpha$  のユビキチン化を阻害することで疑似低酸素状態を引き起こす CoCl<sub>2</sub> の添加でも、Western blot の結果により HIF-1 $\alpha$  発現に同様の結果が観察された。CD133 発現と HIF-1 $\alpha$  発現は正の相関があり、そのメカニズムは CD133 が HIF-1 $\alpha$  遺伝子の転写翻訳に作用している可能性が示唆された。
- 3) Migration assay では低酸素条件下で、Capan1M9 が shCD133M9 に比較し遊走能が有意に高かった。Wound healing assay では常酸素、低酸素いずれも shCD133M9 と比較し Capan1M9 の遊走能が高かった。EMT 関連遺伝子の解析では、低酸素条件下で Capan1M9 の slug, N-cadherin 発現が有意に高かった。

本研究によって、低酸素環境にある CD133 陽性膵癌幹細胞は HIF-1 $\alpha$  を介した腫瘍の転移・進展に深く関与することで、膵癌患者の予後不良の原因となりうるということが示唆された。癌幹細胞マーカーの機能を明らかにすることは癌幹細胞の特性を把握することにつながり、膵癌幹細胞をターゲットとした治療開発に寄与することが期待できる。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。