

論文審査の要旨

報告番号	総研第 357 号	学位申請者	宮崎 優美
審査委員	主査	小賤 健一郎	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	夏越 洋次	副査 秋葉 澄伯
	副査	上野 真一	副査 三井 薫

CD133 facilitates epithelial-mesenchymal transition through interaction with the ERK pathway in pancreatic cancer metastasis
(膵臓癌転移において CD133 は ERK 経路との相互作用を介して上皮間葉移行を促進する)

膵臓癌は診断時には進行癌として周囲臓器および血管系への高度浸潤、さらにリンパ行性および血行性転移を高率にきたしているため非常に予後不良である。その原因として癌幹細胞の存在が考えられている。膵臓癌では CD133 などが癌幹細胞マーカーとして報告されており、さらに Epithelial-mesenchymal transition (EMT: 上皮間葉移行) プログラムを制御する可能性が示唆されているが、CD133 が関与する癌転移の分子機構は未だ明らかにされていない。そこで学位申請者らは、CD133 の役割を明らかにするために、学位申請者らがヒト膵臓がん細胞株 Capan1 より樹立した、Capan1M9 細胞 (高遊走能、CD133 高発現細胞株)、shCD133M9 細胞 (Capan1M9 の CD133 を shRNA 安定発現にて抑制) などを用いてマウス *in vivo* モデルによる腫瘍形成能・転移能の検討を行った。さらに DNA マイクロアレイによりこれら膵癌細胞の遺伝子発現プロファイル解析を行った。発現解析より得られた結果から、CD133 の働きに関与する遺伝子 (Slug, N-cadherin, ERK1/2 及び SRC) の相互作用について、*in vitro* での Wound healing assay による浸潤能解析や、分子生物学的解析および免疫化学的解析などにより検討を行った。

その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

- 1) *in vivo* モデルによる腫瘍形成能・転移能の検討において、Capan1M9 は shCD133M9 と比較して、浸潤、血行性転移性小結節が有意に多く観察された。
- 2) 遺伝子発現プロファイル解析から、Capan1M9 では N-cadherin, Slug, fibronectin などの間葉系特性の発現が高く、shCD133M9 ではこれらの遺伝子発現が抑制されていることを示した。
- 3) Capan1M9 に抗 N-cadherin を作用させると、細胞浸潤能が低下することを Wound healing assay で解析により示した。さらに、shRNA による Slug 発現抑制解析から、CD133 は SRC, ERK 1/2 のシグナル伝達経路を介する Slug 発現の調節によって N-cadherin 発現を制御していることを示した。
- 4) ERK1/2 および SRC は、これらの阻害剤を用いた実験から CD133 および Slug 発現のメディエーターとして機能することを示した。
- 5) Capan1M9 などでの共免疫沈降法により、CD133 発現膵臓癌では、ERK/SRC/CD133 は N-cadherin 発現を調節する重要な一つの complex を形成していると考えられた。

CD133 は、膵臓癌細胞の浸潤および転移に深く関わっていることを示し、*in vivo* モデルにおいて CD133 発現膵臓癌の臨床的意義を再現することができたと考えられた。また、CD133 の発現は、ERK と Src の活性化によって上昇し、さらに、CD133/ERK/SRC は複合体を形成する事が示唆された。この複合体は、EGF による ERK 下流の活性に必要であり、N-cadherin の発現誘導と EMT プログラムの促進にも重要な役割を果たすと考えられ、CD133 は癌幹細胞マーカーのみならず機能的役割を持つことを示すことができた。本研究は、EMT プログラムにおける CD133 の機能に新たな展開と、膵臓癌の転移における CD133 関与の基礎となる新たな分子メカニズムを提示した研究で、学位論文として十分な価値を有するものと判定した。