

Aldehyde dehydrogenase活性を指標とした悪性乳がんに対する時間薬理学的研究

原, 幸稔

<https://hdl.handle.net/2324/2348713>

出版情報 : Kyushu University, 2019, 博士 (臨床薬学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)

氏 名 : 原 幸稔

論文題名 : Aldehyde dehydrogenase 活性を指標とした悪性乳がんに対する時間薬理学的研究

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

【背景・目的】

乳がんは、女性における罹患率が最も高いがん種であり、現在も患者数は増加の一途を辿っている。乳がんに対する主な薬物療法はエストロゲン受容体 (Estrogen Receptor ; ER)、プロゲステロン受容体 (Progesterone Receptor ; PgR)を標的としたホルモン療法や上皮細胞増殖因子受容体 (Human Epidermal Growth Factor Receptor ; HER2)に対する阻害剤を用いた抗 HER2 療法であるが、悪性度の高い乳がん細胞ではこれら受容体の発現が低く、治療奏効率が低いことが問題となっている。このような悪性度の高い乳がんへの罹患率は若年層で多く、その予後も悪いことから新たな治療法の開発が望まれている。

近年、腫瘍の組織学的な解析が進み、腫瘍組織が遺伝的な不均一性を示す細胞群で構成され、浸潤・転移・抗がん剤感受性・再発などに関与していることが明らかになってきた。その腫瘍組織中には Aldehyde dehydrogenase (ALDH) の活性が高値を示す「がん幹細胞」の存在が認められる。がん幹細胞はこれらの組織中に数%程度しか存在しないことが示されているが、多分化能を有し、体性幹細胞と同じような性質を備えており、腫瘍形成能、転移性能のみならず、薬剤抵抗性や放射線耐性とも深く関連している。そのため、がん幹細胞はがん化学療法の治療標的の一つとして注目されている。しかし、腫瘍組織中におけるがん幹細胞数の変容機構は未だ不明である。

一方、ヒトを始めとする多くの生物の生体機能には約 24 時間を一周期とする概日リズムが認められる。これらの概日リズムは、時計遺伝子と呼ばれる転写因子群が構成するフィードバックループ機構によって制御されている。時計遺伝子は、がんにおいても細胞増殖因子や細胞周期制御因子の発現にリズムを生じさせ、発症、病態および化学療法剤に対する感受性などに影響を及ぼしている。以上の所見より、概日時計機構が、腫瘍組織中のがん幹細胞数に影響を及ぼしている可能性が考えられる。

本研究では、悪性度の高い乳がんモデルとしてマウス乳がん細胞 4T1 を対象に、概日時計機構と腫瘍組織中のがん幹細胞数との関連性について研究した。その結果、腫瘍組織中の高い ALDH 活性を示す細胞数に概日リズムが認められ、これらのリズムは低い ALDH 活性を示す細胞により制御されていた。また腫瘍増殖は、腫瘍組織中の高い ALDH 活性を示す細胞数の概日リズムを指標とした ALDH 阻害剤の投薬により抑制され、新たな乳がんの薬物療法に応用できる可能性が示された。

【結果・考察】

マウス乳がん細胞 4T1 移植腫瘍を対象にした高い ALDH 活性を示す細胞数の解析

4T1 細胞移植マウスから 6 時点において腫瘍を採取し、ALDEFLUOR Assay 法を用いて高い ALDH 活性を示す細胞数の割合を測定した。その結果、高い ALDH 活性を示す細胞数の割合は暗期前半にピークを示す有意な概日リズムを示した。そこで ALDH 活性が高値を示す細胞を対象にマイクロアレイ解析を行った。その結果、ALDH のサブタイプのひとつである *Aldh3a1* の発現量が高値を示していることが明らかになった。また、*Aldh3a1* の mRNA およびそのタンパク質の発現リズムは、ALDH 活性の概日リズムとほぼ同位相を示していた。以上の結果より、マウスに移植した 4T1 腫瘍中における高い ALDH 活性を示す細胞数の概日リズムは転写レベルで制御されていることが示唆された。

マウス乳がん細胞 4T1 移植腫瘍を対象にした高い ALDH 活性を示す細胞数の概日リズム制御機構

マウス *Aldh3a1* 遺伝子の 5' 上流約 -538bp ~ -532bp を対象に転写制御機構を解析した結果、Wnt/ β -CATENIN 経路によって、*Aldh3a1* 遺伝子の転写活性が制御されていることを明らかにした。また、腫瘍中では、低い ALDH 活性を示す細胞から分泌される Wnt10A の概日リズムが、高い ALDH 活性を示す細胞の ALDH3A1 発現の概日リズムに影響を及ぼすことを明らかにした。以上の結果より、低い ALDH 活性を示す細胞からの Wnt10A による周期的な刺激によって腫瘍中での高い ALDH 活性を示す細胞数の概日リズムが引き起こされていることが示唆された。

4T1 細胞移植マウスを対象にした腫瘍増殖に及ぼす ALDH 活性阻害剤の投薬時刻の影響

高い ALDH 活性を示す細胞数に概日リズムが認められた。しかしながら、これらの概日リズムが、がん細胞の増殖に及ぼす影響は不明である。そこで、腫瘍中の高い ALDH 活性を示す細胞数の概日リズムを指標に、腫瘍増殖に及ぼす ALDH 活性阻害剤である 4-diethylaminobenzaldehyde (DEAB) の投薬時刻の影響を検討した。その結果、高い ALDH 活性を示す細胞数の割合が増大する暗期前半に薬物を投与した群において、腫瘍増殖抑制効果が増強されることが明らかになった。以上の結果より、高い ALDH 活性を示す細胞数が増加する時刻に ALDH 活性阻害剤を投与することで腫瘍増殖が抑制されることが示唆され、ALDH 活性の概日リズムはがん細胞の増殖に影響を及ぼしていることが示唆された。

本研究では、マウスに移植した 4T1 腫瘍中で高い ALDH 活性を示す細胞数に概日リズムが存在することを明らかにした。これらの概日リズムを指標にした ALDH 活性阻害剤の投薬時刻が腫瘍増殖能および転移性能に影響を及ぼすことが示唆された。本研究で得られた知見は、ALDH 活性の概日リズムを指標とするがん幹細胞を標的にした難治性乳がんの新規治療法開発に繋がる可能性が考えられる。