

## 時計遺伝子CLOCKの発現に着目した乳がん幹細胞の新規治療法に関する研究

荻野, 敬史

<https://hdl.handle.net/2324/4475061>

---

出版情報 : Kyushu University, 2020, 博士 (創薬科学), 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	荻野 敬史
論文名	時計遺伝子 CLOCK の発現に着目した 乳がん幹細胞の新規治療法に関する研究
論文調査委員	主 査 九州大学大学院 薬学府 教授 大戸 茂弘 副 査 九州大学大学院 薬学府 教授 小柳 悟 副 査 九州大学大学院 薬学府 准教授 島添 隆雄 副 査 九州大学大学院 薬学府 准教授 松永 直哉

### 論文審査の結果の要旨

乳がんは女性の罹患率が最も高く、罹患者数は増加し続けている。乳がんは、早期発見と適切な治療により良好な予後をもたらすことが多いが、乳がんの中でも悪性度の高いトリプルネガティブ乳がん (Triple negative breast cancer; TNBC) をはじめとする難治性のサブタイプは、標準治療法が確立されておらず、術後再発や転移は予後不良の原因となる。このような乳がんの悪性形質にはがん幹細胞 (Cancer Stem-like Cells; CSCs) と呼ばれる未分化性の高い細胞集団の関与が認められており、CSCs を標的とした治療研究が進められているが、その性質に関しては未解明な点が多いのが現状である。一方で、ヒトをはじめとする多くの哺乳動物間で機能的な保存性の高い時計遺伝子と呼ばれる遺伝子群は、単に生体機能に概日リズムを与えるだけでなく、細胞の分化に伴って発現が上昇し、細胞の機能的な成熟に重要な役割を果たすことが明らかになっている。これまでに当研究室では、マウス担癌モデルから分離したがん幹細胞様集団中では時計遺伝子の発現や機能が低下していることを明らかにしており、時計遺伝子の発現ががん細胞の機能に重要な役割を果たすことが示唆されたが、詳細は不明である。そこで本研究では、時計遺伝子の発現とがん幹細胞性の関係に着目してがん幹細胞の性質に及ぼす時計遺伝子発現の影響を検証した。

BCSCs は高いアルデヒド脱水素酵素 (Aldehyde dehydrogenase; ALDH) 活性を持ち、がん細胞の悪性形質に関与する。しかし BCSCs の ALDH 活性と分子時計機構との関連性は未だ不明であった。本研究ではマウス悪性乳がん細胞 4T1 中の ALDH 活性と、体内時計機構を構成する主要な因子である CLOCK の発現量との間に負の相関を見出した。ALDH 高活性 4T1 細胞中では CLOCK の発現が抑制されており、レンチウイルスベクターを用いて CLOCK の発現を上昇させることにより ALDH 活性は減弱した。その結果、腫瘍形成能や浸潤能などといったがん細胞の幹細胞性に関わる悪性形質が低下することが明らかとなった。さらに CLOCK を安定発現させた 4T1 細胞を用いて担癌モデルマウスを作成したところ、マウスに形成された腫瘍の増殖は顕著に低下した。また肺に形成された転移巣のコロニー数も低下しており、生存率の延長が認められた。これらの知見は、がん細胞中の分子時計とがん幹細胞性の関与を示唆するものであり、ALDH 高

活性細胞中の時計遺伝子 **CLOCK** の発現を高めることが **BCSCs** の悪性形質を克服するための新たな治療戦略になりうることが期待される。

次に **ALDH** 高活性細胞における **CLOCK** の転写制御および転写後制御に着目して **BCSCs** の悪性形質の維持に関与する因子の探索を試みた。その結果、**ALDH** 高活性 **4T1** 細胞における **CLOCK** の発現低下は転写ではなく転写後の制御を受けていることを明らかにした。また **miRNA** マイクロアレイ解析や **miRNA** 標的データベースを用いた解析から、**CLOCK** の転写後抑制機構に関連する **micro RNA**; **miR-182** を同定した。**miRNA** は転写後の **mRNA** に結合し、標的 **RNA** の安定性低下、翻訳阻害などを介して遺伝子発現を抑制的に制御する転写後制御因子である。**miRNA** は正常細胞と比較してがん細胞で異なる発現プロファイルをとることから、**miR-182** ががん幹細胞選択的に **CLOCK** の発現量を調節していることが期待された。さらに、レポーターアッセイやデータベース解析を行い、**ALDH** 高活性細胞中で **miR-182** を促進的に制御する転写因子として **KLF4** を同定した。**KLF4** は幹細胞の未分化性の保持やがん細胞の悪性化に関わる因子であることから、**miR-182** による **CLOCK** の発現抑制は、**BCSCs** のがん幹細胞性の維持に重要な経路であることを示唆するとともに、**miR-182** を標的とした新規治療法の開発は、がん幹細胞性が関連するがん細胞の悪性形質の克服に貢献できると考えられる。

悪性度の高い乳がん細胞には **CSCs** の関与が大きく、**CSCs** を標的とすることががんの根治のためには必須であると考えられる。しかしながら、**CSCs** とそれを取り巻く微小環境の相互作用は複雑であり、治療研究は難航する場合が多い。今回明らかにした **CSCs** における時計遺伝子 **CLOCK** の発現低下と **miRNA** による転写後制御が、新たな方面から **CSCs** の性質を理解することにつながり、今後のがん幹細胞を標的とした治療研究の新たな足掛かりになることが期待される。これらのことから、申請者は博士（創薬科学）の学位に値すると認める。