

氏 名	吉村 弥生
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博士乙第424号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成28年 3月 10日
学位論文題目	Arsenic Trioxide Sensitizes Glioblastoma to a Myc Inhibitor (亜ヒ酸は神経膠芽腫の Myc 阻害薬への感受性を増加させる)
審査委員	主査 教授 清水 猛史 副査 教授 扇田 久和 副査 教授 平田 多佳子

## 論文内容要旨

*整理番号	428	(ふりがな) 氏名	よしむら やよい 吉村 弥生
学位論文題目	Arsenic Trioxide Sensitizes Glioblastoma to a Myc Inhibitor. (亜ヒ酸は神経膠芽腫のMyc 阻害薬への感受性を増加させる)		
<p><b>目的</b>          神経膠芽腫は浸潤性に発育し、原発性脳腫瘍の中でも最も治療が困難な腫瘍である。従来の治療法に対しては抵抗性を獲得し、腫瘍の再増大を来す。生存期間中央値は1年余りで、新規治療法の開発が望まれている。          恒常活性化変異 EGFR(EGFRⅧ)や INK4a/Arf の欠失は神経膠芽腫でよく見られる。神経膠芽腫 (GBM) の腫瘍幹細胞は腫瘍の起源及び再発の原因と考えられており、重要な治療のターゲットとなりうる。ヒト GBM の腫瘍幹細胞を免疫不全マウスに移植すると悪性神経膠腫様の増殖を示す。          Arsenic trioxide (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) は急性前骨髄性白血病の治療に用いられ、白血病細胞の分化を誘導する。GBM を含む固形腫瘍においては増殖を抑制すると報告されている。          また c-Myc は様々な腫瘍幹細胞の維持に働くとされる。As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 及び c-Myc 阻害剤の神経膠芽腫に対する影響について検討した。</p> <p><b>方法</b>          1: 腫瘍細胞の培養 神経膠芽腫の組織は滋賀県立成人病センターにおいて新規に診断された患者から手術摘出によって得た。          2: 神経幹細胞 E14.5 INK4/Arf<sup>-/-</sup> 及び control embryos の神経節隆起より分離。          3: Cell viability 及び Caspase 3/7 活性を測定。          4: 免疫組織化学染色 Nestin, Olig2, CD44, Tuj1, Ki67, GFAP の抗体を用いて染色。          5: Animal Xenograft 腫瘍幹細胞 (5×10<sup>4</sup> cells) を10週齢のメスの C.B17-lcr SCID マウスに定位的に移植。2ヶ月後に MRI (T2WI) で腫瘍の成長を確認し、その4日後に Arsenic trioxide (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)、c-Myc 阻害剤 (10058F4) をそれぞれ、または両方投与した。(隔日、10日間) 終了後、再度 MRI を撮影した後に 4% PFA で固定し、切片を作成。H.E 染色を行った。</p> <p><b>結果</b>          ① Arsenic trioxide (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)、c-Myc 阻害剤 (10058F4) は手術採取で得られたヒト神経膠芽腫の腫瘍幹細胞において分化を誘導した。          ② As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> は神経膠芽腫の腫瘍幹細胞における 10058F4 による増殖抑制効果を増強した。          ③ Ink4a/Arf 欠失及び恒常活性化変異 EGFR は As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、10058F4 に対する反応を増強する。          ④ Arsenic trioxide and 10058F4 による combination treatment は神経膠芽腫の腫瘍幹細胞移植した動物において腫瘍の増殖を抑制した。</p>			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。 2. ※印の欄には記入しないこと。

(続 紙)

**考察**

Arsenic trioxide(As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)、c-Myc 阻害剤 (10058F4) はその低い効果から臨床での開発は進まなかった。10058F4 は vivo では神経芽細胞腫を除いて有効性が示せず、As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> は GBM においては安全域を超えた高濃度が必要とされた。今回の研究では低濃度の As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> で 10058F4 による分化誘導を増強した。

As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、10058F4 は代謝経路に働き、腫瘍幹細胞の維持に重要な役割を果たすとされている。幹細胞は生存と増殖のため嫌気性解糖を利用している。神経膠芽腫においては恒常活性化変異型 EGFR(EGFR v III)は c-Myc を通して解糖系の調節を行う。EGFR v IIIは MAX の選択的スプライシングを調節することで c-Myc の活性化を行う。しかし解糖系が行えなくなった時には glutaminolysis 及び脂肪酸代謝が必要になる。C-Myc は glutaminolysis に必要な遺伝子発現を調節する。c-Myc は TCA サイクルからのグルコース由来ピルビン酸を乳酸に変換し、結果として TCA サイクルの維持にグルタミンが必要となる。C-Myc はミトコンドリアの電子伝達系阻害に感受性をもつ細胞へと変化させる。これが As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、10058F4 の併用が効果的な理由かもしれない。

As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> は Promyelocytic leukemia protein (PML)の劣化を起こすとされる。PML は脂肪酸酸化を調節し、Myc もまた脂肪酸の合成と酸化に関わる。脂肪酸酸化は TCA サイクルに必要なアセチル CoA を提供する。EGFR の活性化が見られる GBM の生存には脂肪酸の合成・酸化が大きく関与する。これらから脂肪酸の合成・酸化が As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、10058F4 併用療法の標的と推測される。

**結論**

arsenic trioxide と c-Myc 阻害剤の効果的な薬理的相乗効果を示した。併用療法により GBM の腫瘍幹細胞において分化を誘導し、vivo では腫瘍の退縮を認めた。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	428	氏名	吉村 弥生
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体 11ポイント、600字以内で作成のこと。)</p> <p>神経膠芽腫は最も治療が困難な腫瘍で、新規治療法の開発が望まれている。神経膠芽腫では恒常活性化変異 EGFR (EGFR<sup>Ⅷ</sup>) と INK4a/Arf の欠失がよくみられ、腫瘍幹細胞を免疫不全マウスに移植すると悪性神経膠腫様の増殖を示す。As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> は細胞分化を誘導し、急性前骨髄性白血病の治療に用いられ、c-Myc 阻害剤は腫瘍幹細胞の維持を抑制すると考えられる。</p> <p>本研究では、As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 及び c-Myc 阻害剤の併用効果を、ヒト神経膠芽腫より樹立した腫瘍幹細胞、遺伝子操作によるマウスの神経膠芽腫モデル、腫瘍幹細胞を移植したマウス Xenograft model において検討し、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> と Myc 阻害剤 (10058F4) は手術時に得たヒト神経膠芽腫の腫瘍幹細胞において分化を誘導した。</li> <li>2) As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> は、腫瘍幹細胞における Myc 阻害剤による増殖抑制効果を増強した。</li> <li>3) Ink4a/Arf 欠失及び EGFR<sup>Ⅷ</sup> はこうした As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、Myc 阻害剤の作用を増強した。</li> <li>4) As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 及び Myc 阻害剤による併用療法は、腫瘍幹細胞を移植したマウスの腫瘍増殖を抑制した。</li> </ol> <p>本論文は、神経膠芽腫の治療に関して新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 569 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 28 年 1 月 25 日)</p>			