

学位授与番号：乙 3 1 5 2 号

氏 名：大熊 誠尚

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 28 年 7 月 13 日

学位論文名：

Absence of CD71 transferrin receptor characterizes human gastric adenosquamous carcinoma stem cells.

学位論文名（翻訳）：

（CD71 トランスフェリンレセプター非発現細胞のヒト胃腺扁平上皮癌の癌幹細胞としての特徴）

学位審査委員長：教授 吉田清嗣教授

学位審査委員：教授 本間定教授 教授 炭山和毅教授

論文要旨

| | | | |
|--|-------|-------|-------|
| 論文提出者名 | 大熊 誠尚 | 指導教授名 | 矢永 勝彦 |
| 主論文 | | | |
| Absence of CD71 transferrin receptor characterizes human gastric adenosquamous carcinoma stem cells. | | | |
| (CD71 トランスフェリンレセプター非発現細胞のヒト胃腺扁平上皮癌の癌幹細胞としての特徴) | | | |
| Masahisa Ohkuma, Naotsugu Haraguchi, Hideshi Ishii, Koshi Mimori, Fumiaki Tanaka, Ho Min Kim, Miho Shimomura, Hajime Hirose, Katsuhiko Yanaga, Masaki Mori | | | |
| Ann Surg Oncol. 2012; 19(4):1357-64. 2012 | | | |
| <p>近年、癌の発生、進展、転移、治療後の再発に癌幹細胞といわれる自己複製能、多分化能を特徴とする癌幹細胞 (cancer stem cells ; CSCs) が深く関与すると考えられている。1997年に白血病 (AML)において癌幹細胞の存在が同定され、その後、乳癌、脳腫瘍、肝臓癌、大腸癌、膵臓癌、肺癌など多くの固形腫瘍で CSCs もしくは tumor initiating cells が同定されている。</p> <p>胃癌は東アジアや南米に多く、全世界で4番目に多く診断されている悪性腫瘍であり、癌関連死亡数では肺癌について2番目に多くなっている。過去に胃癌の CSCs のマーカーとして CD44 と side population (SP) cells が報告されているが、知りうる限りでは胃癌 CSCs の多分化能に言及した報告は今のところ行われていない。腺扁平上皮癌は胃癌の中でも1%未満と非常に頻度が低いが、1つの病変に、発生学的に全く異なると考えられる腺癌と扁平上皮癌が存在しており CSCs の多分化能のメカニズムを理解する上で非常によいモデルである。今回、胃腺扁平上皮癌より作られた細胞株 MKN-1 を用いて癌幹細胞マーカーの同定、そしてその生物学的な特徴の検討を行った。</p> <p>MKN-1 を 5-fluorouracil (5-FU) で処理した後、CD44、CD49f、CD133、および CD71 の発現の変化を測定したところ、CD71(-)分画のみが 18.6%から 82.0%に増加していた。また、各分画の細胞周期を測定したところ CD71(-)細胞は主に G0/G1 期に存在する (87.2 ± 2.53%) のに対して、CD71(+)細胞は主に G2/M 期に存在する (70.3 ± 5.61%) ことを示した。CD71(-)分画は CD71(+)分画と比較して非常に高いコロニー形成能を示し (3.64倍、p<0.05)、遊離した CD71(-)細胞を培養したところコントロールとした MKN-1 細胞と同じ割合の CD71(+)細胞が認められた。反対に、CD71(+)細胞が産生した CD71(-)細胞は約 10%であり、コントロールの CD71(-)細胞の 18.6%よりも低かった。限界希釈法と累系移植を行ったところ、CD71(-)細胞分画は CD71(+)分画と較べて腫瘍形成能が高かった。CD71(-)細胞を mouse に移植し、形成された腫瘍を免疫組織学的検査で検討したところ、CD71(-)細胞は腺癌と扁平上皮癌に分化する多分化能を示したのに対し、CD71(+)細胞は腺癌だけを形成した。また、3D invasion assay を行ったところ、CD71(-)細胞は高い浸潤能をもち、腺扁平上皮癌の臨床検体を用いた免疫組織学的検査では癌病巣の浸潤部の最深部に存在していた。</p> <p>本研究により CD71(-)が腺扁平上皮癌における CSCs のマーカーとして有用であることが示唆された。</p> | | | |

学位審査の結果の要旨

大熊誠尚氏の学位申請論文は主論文1編からなり、主論文の邦題は「CD71 トランスフェリンレセプター非発現細胞のヒト胃腺扁平上皮癌の癌幹細胞としての特徴」で2012年のAnnals of Surgical Oncology誌に掲載された。

以下、論文の要旨と審査委員会の審査結果を報告する。

癌幹細胞が治療抵抗性と転移に重要であるにも関わらず胃癌における癌幹細胞の役割が明らかにされていないことから、胃腺扁平上皮癌細胞株を用いて癌幹細胞マーカーの同定とその生物学的な特徴の検討を行った。

5-FU 抗癌剤処理による幹細胞の集積を試み、CD44、CD49f、CD133、およびCD71の発現変化を測定したところ、CD71 マイナス分画のみが顕著に増加していたため、この分画を新規幹細胞マーカーとして同定した。この分画はプラス分画と比べてコロニー形成能や腫瘍形成能が高く、また多分化能と浸潤能を有していた。さらに腺扁平上皮癌の臨床検体を用いた免疫組織学的検査では、癌病巣の浸潤部の最深部に存在していた。

平成28年6月22日、本間定教授、炭山和毅教授ご臨席のもと、公開学位審査会を開催し、大熊氏による研究概要の発表に続いて口頭試験を行った。

席上、

- 5-FU 耐性株ではなく、癌幹細胞であるという根拠は何か？
- 癌幹細胞は一般的に増殖が遅いはずであるが、CD71 マイナス分画の細胞は増殖が早いのはなぜか？
- 胃癌先進部にCD71 マイナス分画が観察されることが意味する臨床的意義は何か？
- CD71 の機能と癌幹細胞との関わりはあるのか？
- CD71 マイナス分画が急速に減少していくのは、癌幹細胞が非幹細胞へと分化していることを意味するのか？

など20に及ぶ多くの質問があり、大熊氏はこれまでの癌幹細胞関連の文献情報も交えながら的確に回答し、活発な議論がなされた。その後、本間、炭山両教授と慎重に審議した結果、本論文はCD71 マイナス分画が胃癌幹細胞のマーカーとして有用であることを示した初めての研究であり、また胃癌幹細胞の抗癌剤治療抵抗性や転移のメカニズム解明につながる可能性が呈示されており、学位申請論文として十分価値があるものと認めた次第である。