

学位授与番号：甲 1071 号

氏 名：岡部 陽菜子

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 30 年 3 月 28 日

学位論文名：

Downregulation of CD24 suppresses bone metastasis of lung cancer.

（CD24 の発現低下は肺癌における骨転移を抑制する）

学位論文審査委員長：教授 本間定

学位論文審査委員：教授 朝倉正 教授 矢野真吾

論文要旨

氏名	岡部 陽菜子	指導教授名	丸毛 啓史
主論文			
Downregulation of CD24 suppresses bone metastasis of lung cancer. (CD24 の発現低下は肺癌における骨転移を抑制する)			
Hinako Okabe, Katsuhiko Aoki, Satomi Yogosawa, Mitsuru Saito, Keishi Marumo, Kiyotsugu Yoshida			
Cancer Science, 2018 Jan; 109(1): 112-120.			
doi: 10.1111/cas.13435. Epub 2017 Nov 29.			
要旨			
【背景・目的】			
骨転移の抑制は、患者の生活の質の改善に繋がる。骨転移に対し現在使用されている薬剤は、骨転移の進行を遅らせることができるが、患者の生存率を改善するには至らず、生存率改善のためには骨転移治療に対する新規薬剤の開発が必要とされている。したがって、骨転移に関与する因子は治療標的となりうるため、その特定は有意義である。細胞表面抗原である CD24 は、近年様々な癌の転移に関係していることが示されてきた。しかしながら、CD24 が肺癌の骨転移に関与しているかについては報告されていない。			
【方法】			
本研究では、イメージング技術を用いて肺癌細胞の転移を観察するため、ヒト肺癌細胞から樹立された骨親和性サブクローン細胞 (HARA-B4 細胞) に、近赤外線蛍光蛋白質 (iRFP720) を導入した。これらの細胞の足場非依存性の増殖を軟寒天コロニー形成アッセイにより評価した。また細胞接着アッセイを用い、CD24 の有無による HARA-B4 細胞の骨指向性の変化を評価した。骨転移における CD24 の役割を明らかにするため、マウスに CD24 ノックダウン HARA-B4 細胞を心腔内投与し、生体内画像処理システムを用いて iRFP720 発現を検出することにより転移を追跡した。			
【結果】			
CD24 ノックダウン HARA-B4 細胞は、 <i>in vitro</i> において足場非依存性増殖能および骨指向性の減少を示した。骨転移は、CD24 ノックダウン HARA-B4 細胞を投与されたマウスで減少し、CD24 を再発現させた細胞を投与されたマウスではその減少は解除された。			
【結論】			
本研究は、iRFP720 が骨転移の生体内イメージング分析のために効果的であり、また CD24 の低発現は肺癌細胞の骨転移に抑制的に作用することを示唆した。以上の結果から、CD24 は肺癌の骨転移予防において有望な新規治療標的の候補となり得ることが示された。			

学位論文審査結果の要旨

岡部陽菜子氏の学位論文は主論文一編よりなり主論文は **Downregulation of CD24 suppresses bone metastasis of lung cancer** (CD24 の発現低下は肺がんにおける骨転移を抑制する)、**Cancer Science** 誌(IF3.974)に 2017 年に発表され、整形外科学、丸毛啓史教の御指導による研究である。肺がん細胞は **in vitro** 実験系において、CD24 の発現が低下することで足場非依存性増殖や骨芽細胞への接着能が低下し、また、ヌードマウス移植系を用いた **in vivo** 実験系において、CD24 の発現を **knock down** させた肺がん細胞は骨への転移が有意に減少することが示された。肺がん細胞における CD24 の発現低下は骨転移を抑制することが基礎研究の成果として明らかにされた。

学位論文審査は審査員委員長 本間 定 (悪性腫瘍治療研究部教授)、委員 朝倉 正 (アイソトープ実験研究施設教授)、矢野真吾 (腫瘍・血液内科教授)のもとに行われた。席上、審査担当者より以下の質問がなされた。

1. 骨転移能の高い亜株である HARA-B4 細胞が分離されたのは、親株の中の CD24 発現細胞集団が選択されたのか？
2. 骨転移能が高くなるとは EMT を誘導するという事か？
3. 肺がん細胞は骨芽細胞に接着すると骨芽細胞の分化を誘導するのか？
4. 骨転移後、骨融解を起こしていく機序は何か？また、特異的な分子の関与はあるのか？
5. 肺がん以外の乳癌、膀胱癌などでも CD24 高発現では骨転移の頻度が高いのか？
6. CD24 knockout mouse はどのような phenotype を示すのか？
7. HARA 細胞以外の肺がん細胞を用いて検討を行ったか？
8. 骨転移マウスの生存期間は肺がん細胞の CD24 の発現の有無で差があったか？
9. 親細胞株 HARA に CD24 を導入したら、HARA-B4 と同様の骨転移能を獲得するのか？
- 10.ヌードマウス移植実験系では骨以外の転移巣はあるのか？
- 11.CD24 の mRNA と蛋白発現は平行しているのか？
- 12.肺がん細胞の骨芽細胞への付着を調べる実験で、骨芽細胞以外の細胞のコントロールをとったか？
- 13.マウスの骨転移組織での CD24 の発現の状態はどうか？
- 14.その他

上記の質問に対して申請者の岡部氏は自身の研究成果、過去の論文報告の知見などをもとに適切に回答した。本研究により、肺がんの骨転移ではがん細胞の

CD24 発現が重要な役割を果たし、CD24 を治療標的とした肺がんの骨転移を予防する新たな治療戦略の理論的裏付けが与えられたと考えられます。朝倉、矢野両教授と審査の結果、本論文は医学博士の学位授与に適するものと判断しました。なお、Thesis の記載に修正を要する不備は見られませんでした。