

学位授与番号：甲 966 号

氏 名：秋吉 宏平

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 26 年 4 月 9 日

学位論文名：

悪性神経膠腫細胞株および胃癌細胞株におけるウロコルチン mRNA の発現

主論文名：

Expression of mRNAs of Urocortin in Gastric Cancer Cell Line, STKM-1.

(胃癌細胞株におけるウロコルチン mRNA の発現)

学位審査委員長：教授 山田尚

学位審査委員：教授 池上雅博 教授 大草敏史

論文要旨

論文提出者名	秋吉 宏平	指導教授名 馬目 佳信
<p data-bbox="236 443 480 483">主論文題名</p> <p data-bbox="347 504 1302 544">Expression of mRNAs of Urocortin in Gastric Cancer Cell Line, STKM-1</p> <p data-bbox="363 555 1083 595">(胃癌細胞株におけるウロコルチン mRNA の発現)</p> <p data-bbox="347 607 1058 647">Anticancer Research. 2013 December;33(12):5289-94.</p> <p data-bbox="217 719 1412 1973">【背景】ウロコルチン (UCN) は、コルチコトロピン放出因子 (CRF) ファミリー のストレス応答ホルモンであり、UCN と CRF 受容体 (CRFR) は、中枢神経組織を 含む多くの組織で発現している。神経膠腫や胃癌などの癌細胞における UCN とそ の受容体の発現の詳細については知られていない。【目的】UCN_{1,2,3} と CRF と CRF 受容体 1,2 が悪性膠腫細胞株および胃癌細胞株において発現しているかどうか調べ た。さらに細胞ストレス条件下で発現量が変化するかどうか調べた。【方法】ヒト 5種類とラット3種類の神経膠腫細胞株と胃癌細胞株 STKM-1 を分離・培養した。 これらの細胞の転写産物を cDNA を用いて解析した。加えて、細胞ストレスとして 神経膠腫細胞株には confluent、血清培地添加、電離放射線、抗癌剤テモゾロミドを、 胃癌細胞株には血清培地添加、抗癌剤 5-FU、フォルスコリンを添加して mRNA の 発現量の変化を調べた。【結果】ラットとヒトの神経膠腫細胞株に UCN mRNA が発 現しており、ヒト神経膠腫細胞株には CRFR1 や CRFR2 の受容体の発現も認められ た。胃癌細胞株 STKM-1 においては、UCN_{1,2} と CRFR2 の発現を認めた。神経膠 腫細胞株 KNS42 は細胞増殖刺激で UCN_{2,3} の mRNA の発現量が有意に増加し、胃 癌細胞株 STKM-1 ではフォルスコリン添加で CRFR2 の mRNA の発現量が有意に増 加した。【結論】神経膠腫細胞株と胃癌細胞株で UCN と CRFR の mRNA の発現が 確認された。細胞ストレス刺激により転写産物の量は一部変化した。転写の発現 パターンは影響を受けなかった。</p>		

論文審査の結果の要旨

秋吉宏平氏の学位申請論文は主論文 1 編、副論文 1 篇からなり、主論文の原題は「Expression of mRNAs of Urocortin in Gastric Cancer Cell Line, STKM-1.」と題するもので *Anticancer Research*, 2013 December;33(12):5289-94.に発表されたものです。学位論文標題は「悪性神経膠腫細胞株および胃癌細胞株におけるウロコルチン mRNA の発現。」である。指導教授は馬目佳信教授である。

ウロコルチン (UCN) は、コルチコトロピン放出因子 (CRF) ファミリーのストレス応答ホルモンであり、UCN と CRF 受容体 (CRFR)は、中枢神経組織を含む多くの組織で発現していることが知られている。悪性腫瘍における UCN と CRFR に関しては前立腺がんに関して報告があるが、不明な点が多い状況である。今回、秋吉氏は、UCN1, 2, 3 と CRF、さらに CRF 受容体 1, 2 が悪性神経膠腫細胞株および胃癌細胞株においてどのように発現しているかを検討している。さらに腫瘍細胞を各種のストレス条件下に暴露した場合の UCN と CRFR 発現量がどのような動態を呈するかを検討した。方法としては、ヒト 5 種類とラット 3 種類の神経膠腫細胞株と胃癌細胞株 STKM-1 を培養して用いた。これらの細胞の mRNA を抽出し cDNA を作成後、RT-PCR, Real time-PCR を用いて解析をくわえた。さらに、腫瘍細胞に対するストレスとして神経膠腫細胞株では confluency、血清刺激、電離放射線、抗癌剤テモゾロミド、を用い、胃癌細胞株には血清刺激、抗癌剤 5-FU、フォルスコリン添加で検討した。この結果、ラットとヒトの神経膠腫細胞株には UCNmRNA が発現しており、ヒト神経膠腫細胞株には CRFR1 や CRFR2 の受容体の発現も認められた。胃癌細胞株 STKM-1 においては、UCN1, 2 と CRFR2 の発現が認められた。ストレスに対する反応としては、神経膠腫細胞株 KNS42 は細胞増殖刺激で UCN2, 3 の mRNA の発現量が有意に増加し、胃癌細胞株 STKM-1 ではフォルスコリン添加で CRFR2 の mRNA の発現量が有意に増加した。

以上の結果から、神経膠腫細胞株と胃癌細胞株において UCN と CRFR の mRNA 発現が確認された。細胞ストレス刺激により転写産物の量は一部変化したが、転写の発現パターンは影響を受けないことが判明した。

論文審査委員会の審査結果報告

秋吉氏の研究概要の発表に引き続き、口頭試験を実施した。

口頭試験においては以下の質問を含めた多くの質疑がなされた。

(1) 中枢神経系腫瘍と胃癌に注目した理由は。(2) 使用した胃がんの細胞株は低分化型であるが、高分化型の胃がんではどうであろうか。(3) グリオーマではストレス刺激に余り反応しなかったが、ストレスの与え方に問題はなかったか。(4) PCR のサイクル数ほど

の程度で実験をしたのか。(5) 本研究の臨床的意義はどのようなものか。(6) 蛋白質レベルでの検討は如何であったか。(7) 腫瘍細胞に対してウロコルチンの刺激はどのような意義をもっていると想定しているか。(8) Q-PCR の結果に対してはどのように理解しているか。

これらの質問に対して、秋吉氏は最新の関連論文や研究室でのこれまでの成果を交えて自らの見解を回答し、活発な議論がなされた。その後、池上、大草両教授と審議した結果、秋吉氏の研究は、ウロコルチンの悪性腫瘍における腫瘍生物学的役割りを解明する手掛かりとなる研究であり、学位論文として価値があるものと認定した次第である。