

氏 名	奥 野 計寿人
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 第 6 0 7 号
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
学 位 授 与 年 月 日	平 成 2 2 年 3 月 2 5 日
学 位 論 文 題 目	Expression of neural stem cell markers in malignant rhabdoid tumor cell lines (悪性ラブドイド腫瘍細胞株における神経幹細胞マーカーの発現)
審 査 委 員	主 査 教 授 岡 部 英 俊 副 査 教 授 木 村 宏 副 査 教 授 遠 山 育 夫

論文内容要旨

※整理番号	612	(ふりがな) 氏名	おくの かずと 奥野 計寿人
学位論文題目	Expression of neural stem cell markers in malignant rhabdoid tumor cell lines (悪性ラブドイド腫瘍細胞株における神経幹細胞マーカーの発現)		
<p>(目的)</p> <p>悪性ラブドイド腫瘍 malignant rhabdoid tumor(以下 MRT)は乳幼児に好発する極めて予後不良な悪性固形腫瘍で、当初はその組織学的特性から筋原性由来と考えられていたが、神経系などを含む multiphenotypic な特性を有するとの報告があり、その細胞生物学的特性には未だ不明な点が多い。近年、腫瘍発生における腫瘍性幹細胞 Cancer Stem Cell (CSC)の概念が注目されており、脳腫瘍を中心とした神経系腫瘍では、神経幹細胞 Neural Stem Cell (NSC)のマーカーの発現が報告されている。</p> <p>今回我々は、一部がneuroectodermal起源と考えられているMRTの細胞生物学的特性を明らかにするため、MRT細胞株におけるNSCマーカーの発現を検討した。</p> <p>(方法)</p> <p>1) MRT細胞株6株(TM87-16、STM91-01、TTC642、TTC549、YAM-RTK-1、TTC1240)について、ビタミンA誘導体である分化誘導剤N-(4-Hydroxyphenyl)fenretinide(4-HPR)を用いた分化誘導を行い、MTT assayによるcell viabilityの変化、電子顕微鏡による形態学的変化、apoptosisの有無に関して検討した。</p> <p>2) MRT細胞株6株を含む腫瘍細胞株10株において、培養後にRNAを抽出し、NSCマーカーとして報告されている、CD133、Nestin、Musashi-1について、RT-PCRで発現を検討した。</p> <p>3) MRT細胞株6株での、4-HPRによる分化誘導前後のCD133、Nestin、Musashi-1の発現量の変化を測定するために、semi-quantitative RT-PCRを行い、画像処理解析装置を用いて半定量を行なった。</p> <p>4) タンパク質レベルでのCD133、Nestin、Musashi-1の発現を確認するために、MRT細胞株6株におけるウエスタンブロット法を行なった。また4-HPRによる分化誘導前後のCD133、Nestin、Musashi-1の発現量の変化の解析も行なった。</p> <p>(結果)</p> <p>MRT細胞株TTC1240以外の5つの細胞株において、3μMの4-HPRによる、cell viabilityの低下を認めた。高濃度の4-HPRはapoptosis誘導の報告もあるが、apoptosis assayではMRT細胞</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。

株の apoptosis は確認できなかった。

RT-PCR による NSC マーカーの発現を解析したところ、MRT 細胞株では、CD133 は 6 株中 3 株、Nestin は 6 株中 3 株、Musashi-1 は 6 株中 5 株において発現が認められた。

分化誘導前後の semi-quantitative RT-PCR にて、TTC549 の Nestin、Musashi-1 の発現は、経時的に down regulation された。YAM-RTK-1 の Musashi-1 の発現も同様に down regulation された。STM91-01 に関しては、Musashi-1 は漸増後に低下を認め、CD133 は経時的に漸減、Nestin は有意な変化を認めなかった。

分化誘導前後のウエスタンブロット法での NSC マーカーの発現も semi-quantitative RT-PCR の結果と一致した所見であった。

(考察)

腫瘍幹細胞の概念は、幹細胞と腫瘍細胞が自己増殖能の面で類似していることから提唱され、様々な腫瘍において腫瘍幹細胞の報告がある。CD133、Nestin、Musashi-1 は神経幹細胞に発現しているのみならず、いくつかの腫瘍では腫瘍幹細胞にも認められる。MRT は当初、組織学的に横紋筋様の特徴を有した Wilms 腫瘍の一亜系として報告されたが、様々な表現型を有する腫瘍の可能性が示唆されている。今回の我々の研究では、いくつかの MRT 腫瘍株において、神経幹細胞マーカーが発現していることが確認された。この結果は、MRT が細胞生物学的に神経系の特性を有していることが示唆された。また、4-HPR による分化誘導前後で、いくつかの MRT 細胞株では、RNA レベル・タンパク質レベルでの神経幹細胞マーカーの down regulation と cell viability の低下を認めた。このことは、MRT における NSC は CSC としての役割を担っている可能性が考えられた。

(結論)

MRT 腫瘍株における NSC マーカーの発現は、神経幹細胞の存在を示唆し、NSC マーカーの down regulation は、MRT 腫瘍株における NSC の内には、CSC の特性を共有するものがあることが考えられた。多くの MRT における NSC マーカーの発現は、MRT は広義の神経外胚葉性由来の腫瘍であることを示唆すると考えられた。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	612	氏名	真野 計寿人
論文審査委員			
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>腫瘍幹細胞 (CSC) の概念は、幹細胞と腫瘍細胞の自己複製能の類似性から提唱され、様々な腫瘍において CSC の報告がある。しかしながら、Malignant rhabdoid tumor (MRT) における CSC の存在については不明である。本研究では、MRT の腫瘍 6 株を用い、神経幹細胞ならびに CSC マーカーである CD133、Nestin、Musashi-1 の発現について検討した。その結果、複数の MRT 腫瘍株において、これらのマーカーが発現しているのが認められた。また、fenretinide による分化誘導によって、いくつかの MRT 細胞株では、RNA・タンパク質レベルでの幹細胞マーカーの減少と cell viability の低下を認めた。以上の結果は、MRT の中には CSC の特性を有する細胞が存在すると考えられた。</p> <p>本研究は MRT における幹細胞マーカーの発現を明らかにし、MRT が神経外胚葉由来の腫瘍であることを示すとともに、MRT における CSC の存在を示唆したもので、博士(医学)授与に値するものと認める。</p>			
(平成 22 年 2 月 2 日)			