



Title	Role of the Circadian Clock Gene DEC1 in Chemosensitivity and Apoptosis in Colorectal Cancer
Author(s)	南, 壮一郎
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105285
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	南 壮一郎
論文題名 Title	Role of the Circadian Clock Gene <i>DEC1</i> in Chemosensitivity and Apoptosis in Colorectal Cancer (大腸癌における概日時計遺伝子DEC1の化学療法感受性およびアポトーシスにおける役割)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕 概日リズムの乱れは様々な疾患と関連しており、時計遺伝子DEC1は、がんの進行や再発に関与していると考えられる。しかしながら、大腸がん（CRC）におけるその役割は明らかではない。本研究では、CRCにおけるDEC1発現の重要性と予後との関係を評価することを目的とした。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 まず、定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（qRT-PCR）と免疫組織化学を用いて、臨床検体におけるDEC1 mRNAの発現と蛋白量について臨床病理学的因子を含めて検討した。その結果、CRCと隣接する正常組織の臨床検体（n = 135）におけるqRT-PCR解析 では、DEC1 の発現が正常組織と比較して 腫瘍組織で高く、高DEC1発現は遠隔転移と有意に関連していた。CRC患者におけるDEC1発現 と無病生存期間（disease-free survival; DFS）との関係は、低DEC1発現群と高DEC1発現群の間で有意な差は認めなかったが、全生存期間（overall survival; OS）に関しては、高DEC1発現群は 有意に予後不良であった。多変量解析では、リンパ節転移がCRC患者におけるDFSおよびOSの独立した予後因子であることが示された。免疫組織化学では腫瘍組織において正常組織よりも強いDEC1の核染色が認められたことから、DEC1の核染色強度に基づいてスコア化し、CRC患者を高染色群（スコア1+または2+）と低染色群（スコア0）の2つのグループに分類した。高染色群は術前CEAレベルおよび遠隔転移と有意に関連しており、高染色群は有意に不良なOSを示した。多変量解析では、高染色群はOSの独立した予後因子であった。また、DEC1 mRNAと蛋白量の関係を調べたところ、DEC1の蛋白量 はmRNA発現と関連していた。The Cancer Genome Atlas データベースを用いて検討した結果も同様に、高DEC1発現は不良なOS と関連していた。 DEC1発現と概日リズムに着目し、shRNAのコントロールおよび2種類のDEC1 shRNA（shDEC1 #1および#2）を導入したCRC細胞株（RKO細胞）および臨床検体から樹立したオルガノイド（iCC129）におけるDEC1 mRNAの発現レベルを比較した結果、shDEC1を導入した細胞では12時間毎の周期的なDEC1 mRNA発現のリズムが乱れること とその発現の高低差（振幅）の減弱 が示された。また、DEC1ノックダウン後もDEC2 mRNAの発現は変化しなかった。様々なDECサブタイプが概日リズムに関与していることを考慮すると、DEC1が概日リズムにおける役割とは異なるメカニズムを通じてCRCにおいて不良な予後と関連している可能性が考えられた。DEC1の調節によってDEC2の発現が変化しなかったことから、DEC1単独でCRCの進行と不良な予後に寄与する可能性がある と仮説を立て、以下の実験を行った。細胞増殖および遊走能評価を用いて大腸がん細胞株とオルガノイドを比較した結果、in vitroおよびin vivo実験において、DEC1の発現をノックダウンした細胞では細胞増殖または遊走能に有意な影響を与えなかった。そこで、化学療法感受性およびアポトーシスアッセイを用いて同様の検討を行った。DEC1の発現レベルを調節することで、5-フルオロウラシルに対する感受性に変化を認めたことから、DEC1の発現を低下させることで抗がん剤に対する抵抗性を減弱させることが示された。また、DEC1発現の抑制はアポトーシスの増加（RKO細胞において37.13%から74.88%）につながることを示された。 DEC1発現の変化が他の遺伝子の発現に影響を与え、それによって薬剤感受性とアポトーシスに影響を与えるかどうかを検討するため、RNAシーケンス、The Cancer Genome Atlas データベースを用いてデータ分析、及びMetascape分析を行った結果、アポトーシスに関連する7つの遺伝子のDEC1への関与が明らかとなった。	
〔総 括(Conclusion)〕 DEC1発現は大腸がん細胞における概日リズムと関連していたが、他のいくつかの遺伝子と共にアポトーシスにも関係していることが示唆された。DEC1は概日リズムの調節以外の 機能を持ち、大腸がんの 治療抵抗性に影響を与えていると考えられた。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 南 壮一郎				
論文審査担当者	(職)	氏 名		
	主 査	大阪大学教授	江口 英利	署 名
	副 査	大阪大学教授	島津 研三	署 名
	副 査	大阪大学教授	森井 英一	署 名

論文審査の結果の要旨

本研究は、大腸癌（CRC）における時計遺伝子DEC1発現の生物学的意義と予後との関連を、臨床検体解析・細胞実験・データベース解析を組み合わせて検討した。臨床検体では、DEC1 mRNAおよび蛋白発現は正常組織より腫瘍で高値を示し、高DEC1発現は遠隔転移と有意に関連した。無病生存期間では差はみられなかったが、全生存期間は高DEC1群で明確に不良であり、免疫組織化学に基づく高染色群もCEA高値や転移と相関し、独立した予後不良因子として同定された。さらに、DEC1ノックダウンにより概日リズムの周期性が乱れた一方、増殖や遊走能には大きな影響を与えなかった。しかし、5-FU感受性は上昇し、アポトーシスが顕著に増加したことから、DEC1が治療抵抗性に寄与する可能性が示された。RNAシーケンスおよびTCGAデータ解析では、DEC1が複数のアポトーシス関連遺伝子の発現に関与することが示され、DEC1が概日リズムに加え、アポトーシス制御を通じて大腸癌の予後や治療感受性に影響していることが示唆され学位の授与に値すると考えられる。