The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Glucocorticoids induce G1 cell cycle arrest in human neoplastic thymic epithelial cells
Author(s)	船越, 康信
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45497
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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

氏　　名　船越康信（ふなこし やすのぶ）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第　19354　号

学位授与年月日　平成17年3月25日

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当

医学系研究科未来医療開発専攻

学位論文名　Glucocorticoids induce G1 cell cycle arrest in human neoplastic thymic epithelial cells
（胸腺腫腫瘍上皮細胞におけるグルココルチコイドレセプターの発現と抗腫瘍効果の検討）

論文審査委員　（主査）
教　授　松田　暉

（副査）
教　授　青笹　克之　　教　授　川瀬　一郎

論文内容の要旨

〔目的〕

Glucocorticoid 治療により胸腺腫が退縮したという臨床報告が散見され、胸腺腫に対する補助療法の一つとして Glucocorticoid 治療の可能性が示唆される。これまでに正常胸腺リンパ球において Double positive T cell（CD4＋D8＋）が Glucocorticoid に感受性であり、Glucocorticoid 投与により容易に apoptosis に陥ることが多数報告されてきた。胸腺腫では、この CD4＋D8＋T cell がリンパ球成分の多数を占めるために、胸腺腫に Glucocorticoid を投与すると胸腺腫リンパ球に対しても容易に apoptosis が誘導されうる。一方、上皮成分に対しては正常胸腺上皮細胞における Glucocorticoid receptor（GR）の発現に関する報告はみられるものの、胸腺腫の腫瘍成分である腫瘍上皮細胞に対する Glucocorticoid の直接的な抑制効果に関する研究報告はいまだなく、Glucocorticoid 治療による腫瘍上皮細胞に対する抗腫瘍効果の機序に関しては不明な点が多い。

本研究では、胸腺腫腫瘍上皮細胞における GR の発現に注目して、Glucocorticoid 投与により腫瘍上皮細胞に対して直接的な抗腫瘍効果が発現されるかを評価し、また、その機序を明らかにすることを目的とした。

〔方法〕

対象は、術前治療のない拡大胸腺摘出術施行の胸腺腫 18 例。

1）胸腺腫摘出組織での GR の発現の検討

胸腺腫摘出組織のホルマリン固定、パラフィン包埋切片（n＝10）を用いて、免疫染色（ABC 法、蛍光２重染色）にて GR の発現を評価した。

2）in vitro での胸腺腫腫瘍上皮細胞における GR の発現の検討

初代培養の腫瘍上皮細胞にて（n＝8）、in vitro での腫瘍上皮細胞における GR の発現を flow cytometry と蛍光２重染色にて評価した。

3）in vitro での Glucocorticoid による胸腺腫腫瘍上皮細胞に対する抗腫瘍効果の検討

a）$3x10^5$ cells の腫瘍上皮細胞（n＝6）に complete medium、$1X10^{-4}$ M，$1X10^{-6}$ M の Dexamethazone を投与

して48時間培養後に、細胞周期に及ぼす影響をflow cytometryにて解析し増殖抑制効果を評価した。

b）抗apoptosis制御因子としてのBcl-2の発現をflow cytometryにて測定し、その増殖抑制効果に及ぼす影響を評価した。

〔成績〕

1）摘出組織標本では、WHO組織分類にかかわらず胸腺腫リンパ球および胸腺腫腫瘍上皮細胞においてGRの発現を認めた。

2）初代培養の胸腺腫腫瘍上皮細胞全例にてGRの発現を確認した。

3）Glucocorticoid投与により胸腺腫腫瘍上皮細胞の細胞周期においてsub-G1期（apoptotic peak）を6例中3例に認め、apoptosisの誘導が示唆された。

4）Sub-G1期とBcl-2の発現との関連性を検討したところ、両者間には$p=0.015$、$R=0.93$で有意の負の相関関係を認め、Bcl-2の発現低下がapoptosisの誘導に関与することが示唆された。

5）apoptosisが誘導されなかった3例では、Glucocorticoid投与によりG0/G1期の細胞の割合が77.7%（control）から84.7%（$1X10^{-4}$ M Dexamethazone）に増加した。

〔総括〕

1）胸腺腫腫瘍上皮細胞におけるGRの発現に注目して、Glucocorticoid投与により腫瘍上皮細胞に対して直接的な抗腫瘍効果が発現されるかを検討した。

2）胸腺腫リンパ球および胸腺腫腫瘍上皮細胞においてGRの発現を認めた。

3）Glucocorticoid投与により胸腺腫腫瘍上皮細胞は、G1 cell cycle arrestあるいはapoptosisに陥り、特にapoptosisの誘導にはBcl-2の発現低下が関与することが示唆された。

4）以上より、Glucocorticoid投与による胸腺腫腫瘍上皮細胞への抗腫瘍効果は、胸腺腫リンパ球のapoptosisに伴う2次的な抑制効果によるものだけでなく、腫瘍上皮細胞に対する直接的な増殖抑制効果も関与することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

グルココルチコイド（GC）投与により胸腺腫が退縮したという臨床報告が散見され、胸腺腫に対する補助療法の一つとしてGC治療の可能性が示唆されている。腫瘍の退縮は、GCに対して感受性の高い胸腺腫リンパ球のapoptosisと、それに伴う胸腺腫腫瘍上皮細胞への間接的な抑制効果によりもたらされると考えられてきた。しかしながら、腫瘍上皮細胞に対するGCの直接的な抑制効果の有無に関する研究報告はいまだない。

本研究では、胸腺腫腫瘍上皮細胞におけるグルココルチコイドレセプター（GR）の発現に注目して、GC投与により腫瘍上皮細胞に対して直接的な抑制効果が発現されるかを評価し、またその機序の解明を目的とした。

まず、胸腺腫摘出組織標本及び初代培養胸腺腫腫瘍上皮細胞を用いて免疫組織染色及びflow cytometryにてGRの発現を検討したところ、組織型に関わらずGRが腫瘍上皮細胞に発現されていた。次に初代培養細胞を用いたin vitroでのGC投与による腫瘍上皮細胞への抑制効果の検討では、GC投与によりG1 cell cycle arrestあるいはapoptosisが誘導された。また、apoptosis誘導群では非誘導群よりもBcl-2の発現が低値であり、Bcl-2の発現低下が胸腺腫腫瘍上皮細胞のapoptosisの誘導に関与している可能性が示唆された。

本研究の結果は、GCが胸腺腫腫瘍上皮細胞に対して直接的な抑制効果を有することをin vitroで証明し、臨床での胸腺腫に対するGC治療の裏付けをするものであり、学位の授与に値すると考えられる。