

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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	船越康信
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) 3×10^5 cells の腫瘍上皮細胞 (n=6) に complete medium、 1×10^{-4} M、 1×10^{-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% (1×10^{-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 に伴う二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思われる。