



Title	Increased CD13 Expression Reduces Reactive Oxygen Species, Promoting Survival of Liver Cancer Stem Cells via an Epithelial-Mesenchymal Transition-like Phenomenon
Author(s)	金, 浩敏
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/50473
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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

[論文題名: Thesis Title]

Increased CD13 Expression Reduces Reactive Oxygen Species, Promoting Survival of Liver Cancer Stem Cells via an Epithelial-Mesenchymal Transition-like Phenomenon

(肝細胞癌におけるCD13発現の亢進は活性酸素種の発現を抑制し、EMT様現象を介して癌幹細胞の生存を助ける)

学位申請者: 金 浩 敏
Name

[目的 (Purpose)]

癌幹細胞は癌細胞階層構造の根底に位置する細胞であり、正常幹細胞と同様に自己複製能、多分化能を有する特徴的な細胞である。また、癌幹細胞は高い腫瘍形成能を有する細胞であると同時に、抗癌剤や放射線治療に対して耐性を有することから癌幹細胞の治療標的化が癌の根治につながると期待されている。われわれは肝臓癌においてCD13陽性細胞が癌幹細胞の性質を有する細胞であり、CD13がグルタチオンパスウェイを介して過酸化物質の排泄をつかさどることにより治療抵抗性を示すこと、さらに、CD13の抑制により治療感受性が回復し、癌幹細胞の自己複製が阻害されることを報告した。一方、本報告以前に、上皮間葉転換 (EMT: epithelial-mesenchymal transition) が癌の浸潤および転移に重要な役割を果たしており、癌幹細胞がEMT細胞分画に多く存在することが乳癌で報告された。そこで、本研究においては、肝細胞癌においてEMTと癌の幹細胞性の関係を明確にし、さらにその過程においてCD13がどのような役割を果たしているのかを解明すべく検討を行った。

[方法 (Methods)]

肝細胞癌の細胞株にtransforming growth factor- β (TGF- β) を暴露させてEMTを誘導し、EMTを誘導した細胞の幹細胞性をin vitroおよびin vivoで評価した。さらにEMT過程におけるCD13発現の関係と、活性酸素種、細胞生物学的活性がどのように変化するかを検討した。

[結果 (Results)]

TGF- β 暴露により線維芽細胞様の細胞形態変化が誘導され、上皮系マーカー (E-Cadherin) が減少し間葉系マーカー (N-Cadherin, Fibronectin) の上昇を認めた。このEMT様変化によりCD13陽性細胞の増加が認められた。CD13の発現およびEMTが誘導された細胞集団の生物学的な特徴を検討するために、セルソーターを用いてCD13(+)N-Cadherin(+)とCD13(+)N-Cadherin(-)とCD13(-)N-Cadherin(+)の3種類の細胞集団の比較検討を行った。免疫不全マウスでの腫瘍形成能 (limiting dilution法) を検討したところ、CD13陽性細胞はCD13陰性細胞に比べ高い造腫瘍能を示した。しかしながら、CD13(+)N-Cadherin(+)とCD13(+)N-Cadherin(-)の比較においては有意差を認めなかった。次にCD13発現によりEMTが誘導された細胞集団にどのような生物学的活性が付与しているのかを検討した。CD13はグルタチオンパスウェイを介して細胞内の活性酸素種 (ROS: Reactive oxygen species) の排泄を行うことでアポトーシスを抑制した。CD13(+)N-Cadherin(-)とCD13(+)N-Cadherin(+)の細胞集団でのROSレベルはCD13(+)N-Cadherin(+)の細胞集団の方が高く、排泄をつかさどる遺伝子 (GSS, GCLM) の発現の低下を認めた。抗酸化作用のあるN-アセチル-L-システイン (NAC) をTGF- β と同時に投与すると細胞形態変化、間葉系マーカー (N-Cadherin, Fibronectin) の発現を認めず、CD13陽性細胞の割合も減少した。以上よりTGF- β が作用してEMT様変化を起こすにはROSレベルの上昇が必要だが、過剰のROSの上昇はアポトーシス誘導に働く為、CD13がROSレベルの上昇を抑制し、EMTを起こした細胞をアポトーシスから防御していると考えられた。TGF- β 誘導によるEMTを起こした細胞では、B lymphoma Mo-MLV insertion region 1 homolog (BMI1) やTranslocation-associated notch protein TAN-1 (NOTCH1) が有意に発現しており、幹細胞マーカーとの関連が示された。抗癌剤治療後の臨床検体にてCD13およびN-Cadherinの免疫染色を施行したところ、肝細胞癌の残存腫瘍の被膜付近においてCD13とN-Cadherinの発現が認められ、治療抵抗性と腫瘍形成能に関与していることが示唆された。

[総括 (Conclusion)]

肝細胞癌においてはCD13陽性細胞が癌幹細胞の性質を示す。腫瘍の進展および転移と深く関係するEMT現象が誘導される際には、細胞内ROS活性が上昇するが、その細胞内ROS活性をCD13が制御することにより、EMTを起こした細胞集団をアポトーシスから防御することが示された。ROS活性は様々な細胞内シグナルを活性化するが、一部の幹細胞シグナルを活性化し、癌幹細胞様の性質を付与することが示された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 金 浩敏		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査 大阪大学教授	森 正 樹
	副 査 大阪大学教授	松浦 友 昭
	副 査 大阪大学教授	竹 原 敏 明
論文審査の結果の要旨		
肝細胞癌において上皮間葉転換 (EMT : epithelial-mesenchymal transition) と癌の幹細胞性の関係を解明すべく、肝細胞癌の細胞株にtransforming growth factor-β (TGF-β) を暴露させてEMTを誘導後に生物学的な特徴を検討した。TGF-β 暴露によるEMTにより肝細胞癌の癌幹細胞の表面マーカーであるCD13陽性細胞の増加が認められ、免疫不全マウスではCD13陽性細胞はCD13陰性細胞に比べ高い腫瘍形成能を示した。CD13(+)N-Cadherin(-)とCD13(+)N-Cadherin(+)の細胞集団での活性酸素のレベルはCD13(+)N-Cadherin(+)の細胞集団の方がやや高値であった。抗酸化作用のあるN-アセチル-L-システイン(NAC)をTGF-β と同時に投与するとEMTが抑制され、CD13陽性細胞の割合も減少し、またCD13阻害剤の投与によってもEMTは抑制された。以上よりTGF-β が作用してEMTを起こすには活性酸素の上昇およびCD13の発現が必要であると考えられた。TGF-β 誘導によるEMTを起こした細胞では幹細胞マーカーとの関連が示され、抗癌剤治療後の臨床検体では免疫染色にて肝細胞癌の残存腫瘍の被膜付近においてCD13とN-Cadherinの発現が認められ、治療抵抗性や腫瘍形成能に関与していることが示唆された。 以上より、肝細胞癌における癌幹細胞とEMTの関係性および活性酸素の関連が明らかとなり、今後の癌治療の発展に寄与し、学位に値するものと認める。		