



Title	CD10 as a novel marker of therapeutic resistance and cancer stem cells in head and neck squamous cell carcinoma
Author(s)	福角, 隆仁
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/50474
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、 〈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。

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	福角 隆仁
論文題名 Title	CD10 as a novel marker of therapeutic resistance and cancer stem cells in head and neck squamous cell carcinoma (CD10は頭頸部扁平上皮癌における治療抵抗性や癌幹細胞の新規マーカーとなる)
<p>論文内容の要旨</p> <p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>頭頸部癌は、新たな分子標的薬の開発など治療進歩があるにもかかわらず、その5年生存率はここ30年大きな改善は認めていない。その原因として、癌の再発と転移があげられる。つまり、頭頸部癌の生存率の向上を目指すためには、その再発と転移など治療抵抗性機序の解明に注力しなければならない。近年、癌病態において癌幹細胞理論が注目されている。癌幹細胞は癌の発生のみならず治療抵抗性、転移・再発に深く関与していると言われていた。現時点で頭頸部扁平上皮癌の癌幹細胞マーカーとしてCD44、CD133、ALDH1などの報告があるが、まだその精度は低いのが現状である。よって、我々は頭頸部扁平上皮癌の治療抵抗性や癌幹細胞の新規マーカーとなる分子を探索する事を目的とした。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>本研究を進めるにあたり、Becton Dickinson社のLyoPlate™という測定機器を使用した。LyoPlate™は対象細胞に対してフローサイトメトリーを用いCD1a～CD340、EGFR、SSEAなどの251種類の細胞表面抗原の発現を同時に比較検討できる新しい機器である。頭頸部癌細胞株3種を用い、通常培養と放射線照射群、cisplatin投与群での比較を行った。結果、4種類 (CD10, CD15s, CD146, CD282) の細胞表面抗原において放射線照射細胞、cisplatin投与細胞での発現上昇を認めた。次にcisplatin耐性株を用い、上記4種細胞表面抗原の発現を比較した。結果、CD10のみ親株に比してcisplatin耐性株で有意な発現の上昇を認めた。以降、CD10に対象を絞り検討を加えた。まず、フローサイトメトリーにてCD10 (+) 細胞とCD10 (-) 細胞に分離し、cisplatin耐性とfluorouracil耐性、放射線耐性を検討した。その結果CD10 (+) 細胞はCD10 (-) 細胞に比べ両薬剤に対する耐性、放射線耐性を持つ事が分かった。薬剤耐性の機序には、DNA修復や細胞質内の代謝、アポトーシス、薬剤排出能など色々な機構が関与するが、今回我々は細胞周期に着目した。Hoechst33342を用い、CD10 (+) 細胞とCD10 (-) 細胞で細胞周期のphaseを比較したところ、CD10 (+) 細胞では有意にG0/G1 phaseの割合が高かった。次に我々は、このCD10 (+) 細胞の治療抵抗性、細胞周期の特性の原因として癌幹細胞理論に着目した。癌幹細胞は治療抵抗性を持ち、細胞周期がslow cell cycle もしくは dormantと言われている為、上記結果と合致する為である。また、癌幹細胞は自己複製能や造腫瘍能も併せ持つ。よって、CD10 (+) 細胞の両特性をsphere formation assayとNOD/SCIDマウスへの異種間移植実験で検討した。sphere formation assayは細胞の自己複製能、NOD/SCIDマウスへの異種間移植は細胞の造腫瘍能を表す。CD10 (+) 細胞はCD10 (-) 細胞に比べスフェア形成率が高く、マウスへの腫瘍形成率も高い結果を得た。また、既報の頭頸部扁平上皮癌幹細胞マーカーであるCD44、CD133、ALDH1の発現とCD10の発現の相互関係を検討したところ、ALDH1においてALDH1 (+) 細胞はCD10の発現が有意に高い事が判明した。上記検討より頭頸部扁平上皮癌細胞株においてCD10 (+) 細胞は、cisplatin耐性・fluorouracil耐性・放射線耐性・自己複製能・造腫瘍能という癌幹細胞の各特質を持ち、既報の幹細胞マーカーであるALDH1と発現の相互関係を持つ事が分かった。このような癌幹細胞の特質を持つ機構を解明するため、OCT3/4との関連を検討した。OCT3/4は組織幹細胞や癌幹細胞のマーカー遺伝子であり、癌発生過程での重要なファクターでもある。まず、CD10 (+) とCD10 (-) 細胞でのOCT3/4の発現をqRT-PCRにて比較したところ、CD10 (+) 細胞で有意にその発現が高かった。また、siCD10とsi-controlを比較したところ、siCD10で有意にOCT3/4の発現が低下した。以上より、CD10の癌幹細胞性はOCT3/4による関与が示唆された。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>CD10は頭頸部扁平上皮癌において、治療抵抗性と癌幹細胞の新規マーカーとしての特質を持つ事を示した。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		福解 隆仁	
論文審査担当者	(職)	氏名	
	主査	大阪大学教授	猪原 秀典
	副査	大阪大学教授	野々村 祝夫
	副査	大阪大学教授	小川 和彦
<p>論文審査の結果の要</p> <p>癌幹細胞理論は癌の治療抵抗性や再発・転移、発生機序に関わる新しい癌病態の理論である。現時点では既報の頭頸部癌幹細胞マーカーではその精度はまだ不十分であった。よって、新規癌幹細胞マーカーの検索を目的とされた。抗体アレイでの無治療群・化学療法群・放射線照射群での比較と、CDDP耐性株と親株との比較によりCD10が治療抵抗性マーカーとして着目された。また、CD10(+)細胞とCD10(-)細胞を比較すると、CD10(+)細胞は、cisplatin耐性・fluorouracil耐性・放射線耐性・自己複製能・造腫瘍能という癌幹細胞の各特質を持った。以上よりCD10は頭頸部扁平上皮癌において、抗癌剤耐性や放射線耐性のマーカーであるのみならず癌幹細胞の新規マーカーである事を示された。この研究成果は、British Journal of Cancer誌に投稿され2014年5月1日に受理され、同年7月29日に出版された。以上の研究業績は学位に能うものと判断する。</p>			